

Composition génétique des truites du Sant'Antone et du Costa Bona & suivi des translocations des truites de l'Ercu

Rapport CORS09



Type corse du Taravu © FD20

Analyses statistiques et rédaction: **Patrick BERREBI**

Genome-Recherche & Diagnostic, 697 avenue de Lunel, 34400 Saint-Just

Messagerie: 04 67 52 47 82, Mél: patrick.berrebi@laposte.net

Site web: <https://websself-genome-rd-64.websself.net>

Analyses moléculaires: **David SCHIKORSKI**

Laboratoire Labofarm, 4 Rue Théodore Botrel, 22603 Loudéac Cedex

Tél: 02 96 28 63 43, Mél: d.schikorski@genindexe.com

1. Introduction

Distinguer truites sauvages et truites domestiques à l'œil nu est un exercice parfois aisé, mais parfois hasardeux tant la truite naturelle a une robe diversifiée, souvent différente entre deux affluents d'un même sous bassin. Les méthodes moléculaires sont alors précieuses.

Outre la détection des truites domestiques et de leurs hybrides dans la nature, le suivi des translocations effectuées dans le but de régénérer une population raréfiée est également un objectif que la génétique des populations peut atteindre. Tester l'efficacité de nos actions, vérifier qu'elles sont positives pour nos populations de truites, est un corolaire indispensable à la gestion.

2. Les échantillons analysés

Les prélèvements de nageoires de truites analysées ici ont été effectués entre 2017 et 2019 par la Fédération des Associations Agréées de Pêche et de Protection du Milieu Aquatique (AAPPMA) de Corse (FD20). Ces échantillons ont été livrés au bureau d'étude Genome - Recherche & Diagnostic (GRD, directeur Patrick Berrebi) les 29 octobre et 13 décembre 2019. Le laboratoire Labofarm à Loudéac (Côtes-d'Armor) a été chargé de les génotyper, sous la direction de David Schikorski. Stéphane Muracciole est le correspondant de la FD20 auprès de GRD.

Ces échantillons participent à deux questions: (i) quelle est la nature génétique de ces populations et spécialement quel est le pourcentage de présence domestique atlantique (Costa Bona et Sant'Antone) et (ii) quel a été l'impact de la translocation de truites de l'Ercu dans d'autres rivières (Ponticellu et Prunitaccia).

Les caractéristiques des échantillons analysés ainsi que des échantillons de référence utilisés pour les comparaisons génétiques sont données au Tableau 1. La localisation des échantillons est donnée à la Figure 1.

3. Les méthodes moléculaires

Les 5 nouveaux échantillons totalisant 105 truites ont été analysés au niveau de 6 locus microsatellites (déjà utilisés dans les analyses précédentes). Ils sont nommés Oneμ9, Mst85, Ss0SL-311, Omy21DIAS, Mst543 et SSoSl-438. Leurs variants (allèles) constituent les génotypes des truites.

Les génotypes sont enregistrés sous la forme d'une matrice croisant locus et truites. Un génotype à deux allèles (un allèle du père et un allèle de la mère du poisson) se trouve à chaque intersection locus/truite. Cette matrice de génotypes est le point de départ de toutes les analyses statistiques détaillées aux chapitres suivants.

Pour cela, les échantillons de nageoire sont traités à la protéinase K (destruction des tissus et libération de l'ADN) et au Chelex (élimination des enzymes et inhibiteurs qui détruiraient l'ADN ou empêcheraient la PCR).

Les PCR (amplifications artificielles à l'identique d'une courte partie de l'ADN: le microsatellite cible) se font en thermocycleur. Une fois produits, les fragments d'ADN amplifiés sont mis à migrer dans de l'acrylamide dénaturant (les doubles brins d'ADN sont séparés les uns des autres) contenus dans les capillaires du séquenceur.

N° carte	Rapport	Station	Année	Nbre	Bassin	N° GRD échantillon	N° GRD individus
1	CORS09	Costa Bona	2017	21	Travu	L857	T33335-T33355
2	CORS09	Ponticellu	2018	22	Golu	L859	T33363-T33384
3	CORS09	Prunitacciu	2018	21	Golu	L860	T33385-T33405
4	CORS08	Ercu aval	2017	20	Golu	L787	T31729-T31748
5	CORS09	affluent Sant'Antone (en réserve-citerne)	2019	21	Taravu	L880	T33807-T33827
6	CORS09	Sant'Antone (hors réserve)	2019	20	Taravu	L881	T33828-T33847
7	CORS06	Golu (aval Albertacce)	1996	35	Golu	F128	T03083-T03117
8	CORS04	Ortolu	1996	20	Ortolu	F160	T03800-T03819
9	GSALM2	pisciculture Isère	2008	30	-	L266	T16926-T16955

Tableau 1 : Détail des échantillons analysés. En jaune les nouveaux échantillons analysés ici. En blanc les références de rivières majoritairement sauvages; en gris un échantillon de rivière entièrement composé de truites domestiques atlantiques et un échantillon de pisciculture du continent.

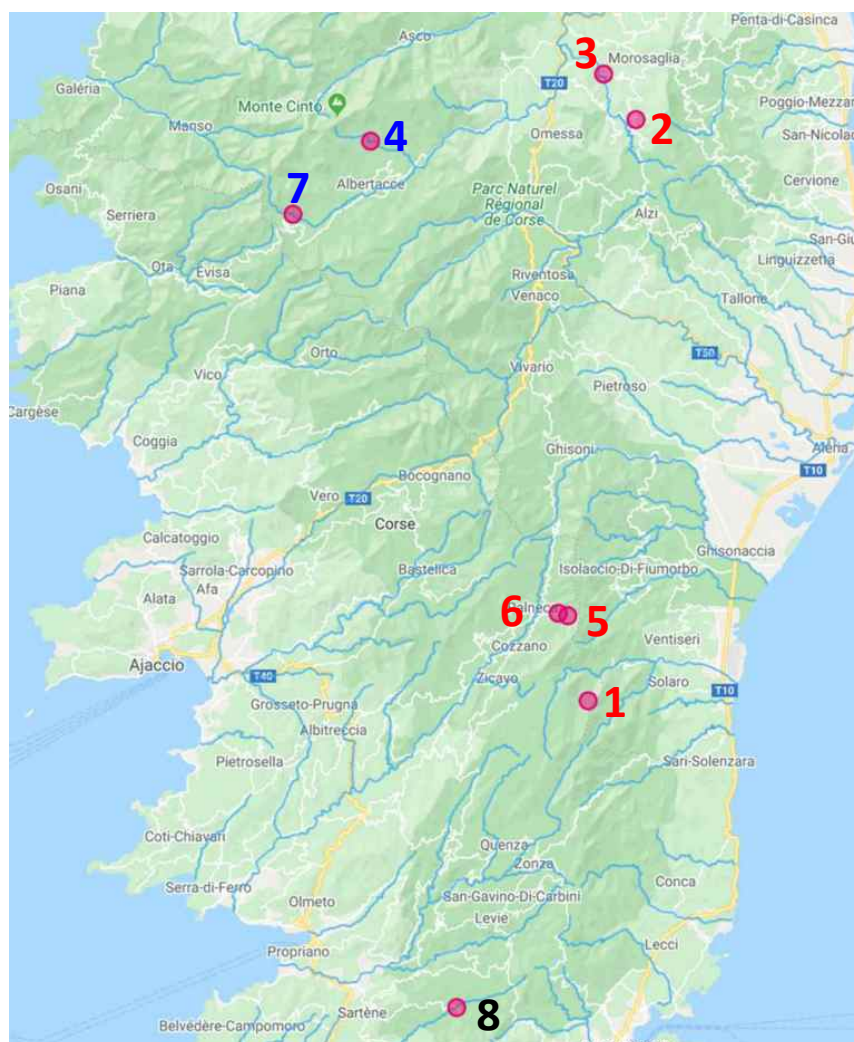


Figure 1 : Positionnement géographique des 8 échantillons de rivière pris en compte. Les chiffres se rapportent à la première colonne du Tableau 1. En rouge, les échantillons nouveaux de ce rapport.

4. Les méthodes statistiques

Il existe une multitude de méthodes statistiques permettant de traiter la matrice de génotypes. Les méthodes choisies ici sont d'une part efficaces et très utilisées en génétique des populations, et d'autre part visuelles pour que le lecteur non spécialiste puisse suivre le raisonnement et les résultats.

- *L'analyse multidimensionnelle* permet de positionner sur un graphique chaque truite en fonction de ses caractéristiques génétiques (génotype). La méthode choisie est l'Analyse Factorielle des Correspondances (AFC) traitée avec le logiciel GENETIX (Belkhir et al. 2004). Les regroupements de points (= truites) sur le graphique, appelés "nuages", correspondent aux différentes lignées présentes dans l'échantillonnage global. C'est une exploration des données moléculaires permettant de détecter rapidement les lignées présentes et leur éventuelle hybridation.

- *L'analyse d'assignation* permet de découper l'échantillonnage global en sous-groupes représentant les lignées. Cette méthode plus délicate d'emploi a l'avantage de chiffrer (%) la composition de chaque échantillon et chaque truite (= taux d'hybridation) en différentes lignées. L'analyse d'assignation est faite avec le logiciel STRUCTURE (Pritchard et al. 2000). Le nombre objectif de sous-unités est suggéré par la méthode d'Evanno et al. (2005) par le logiciel d'aide à la décision STRUCTURE HARVESTER (Earl & von Holdt 2012) disponible sur le Web.

- *Les paramètres populationnels* rendent compte de la diversité génétique (un des contrôles de la santé des populations) et de la panmixie (détection des immigrations et perturbations).

5. Résultats

5.1. Exploration des données par AFC

L'Analyse Factorielle des Correspondances (AFC, Benzécri 1973) possède des qualités indéniables. Elle se nourrit d'une matrice disjonctive (oui/non), ce qui s'adapte parfaitement aux données génétiques alléliques, chaque allèle constituant naturellement une variable.

La Figure 2 montre un résultat graphique brut, incluant toutes les truites du Tableau 1, soit 552 truites. Dans cette projection, un échantillon, celui de Roquebillière en bleu clair, en bas à droite, s'oppose à tous les autres. C'est d'une part une information: Roquebillière a peu ou pas de présence dans l'échantillonnage analysé; et d'autre part cet échantillon constitue une perturbation nous empêchant de voir la structure des autres échantillons.

5.1.1. La question de l'Ercu: La population de truites de l'Ercu a été analysée (avec les mêmes marqueurs que dans la présente étude) à l'occasion du rapport CORS08. Les résultats avaient conclu, pour l'Ercu aval (aval du Travizzolu), à une population 100% corse sauvage. L'amont de l'Ercu (amont du Monte Cinto) avait été analysé dans le rapport OEC2009: la population était 100% corse sauvage en 2009.

Cette population de 2017 est en vert dans la Figure 2. Cette référence pure est très proche de l'échantillon de Ponticellu et éloigné de celui du Prunitacciu.

5.1.2. Question de l'impact des souches domestiques atlantiques: Selon la Figure 3, les deux échantillons du Sant'Antone sont clairement distincts des truites domestiques. Ils sont à 100% de lignée sauvage. Le statut sauvage de l'échantillon de Costa Bona est moins certain et mérite une confirmation par assignation (voir chapitre suivant)

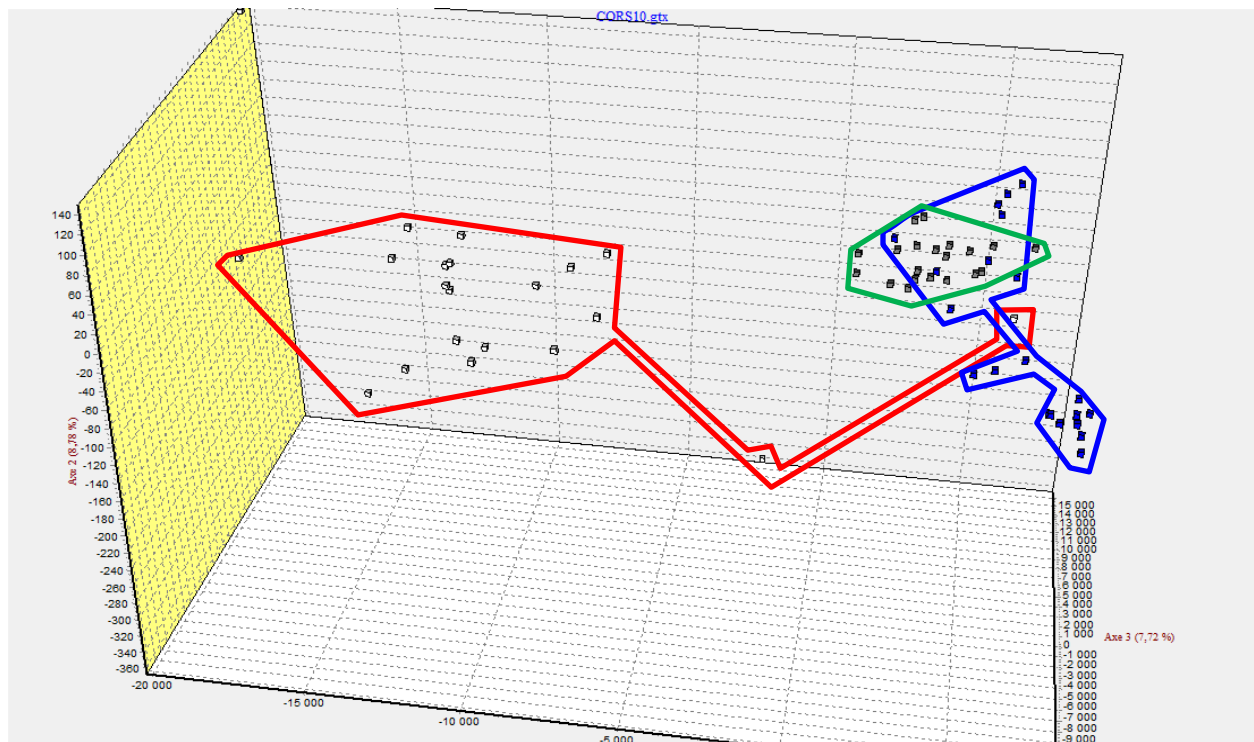


Figure 2: En vert l'Ercu aval; en bleu Ponticellu; en rouge Prunitacciu: à gauche les truites naturelles de cette rivière, au milieu un hybride et à droite une seule truite de l'Ercu.

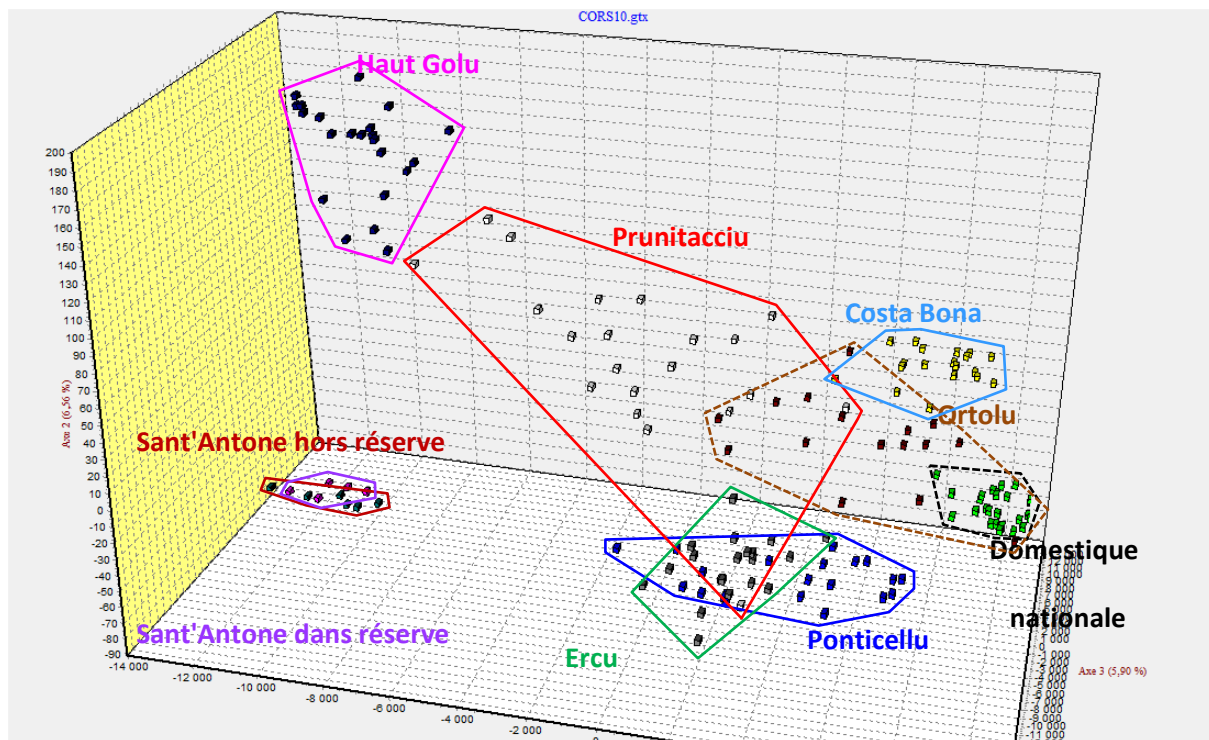


Figure 3: Sur cette analyse, tous les échantillons du Tableau 1 sont représentés. Comme références, les polygones en pointillés représentent la souche domestique atlantique (surtout en noir: en brun c'est Ortolu).

5.2. Chiffrage par assignation

L'analyse d'assignation consiste à découper l'ensemble des échantillons (de rivière ou de pisciculture) en K sous-groupes selon une logique d'équilibre populationnel. K a été testé entre 1 et 8. L'aide à la décision nous dit que K=2 puis K=5 sont les plus informatifs. C'est pour cela que la Figure 4 et le Tableau 2 représentent la partition en 5.

Il apparaît que l'échantillon de Ponticellu est identique à celui de l'Ercu.

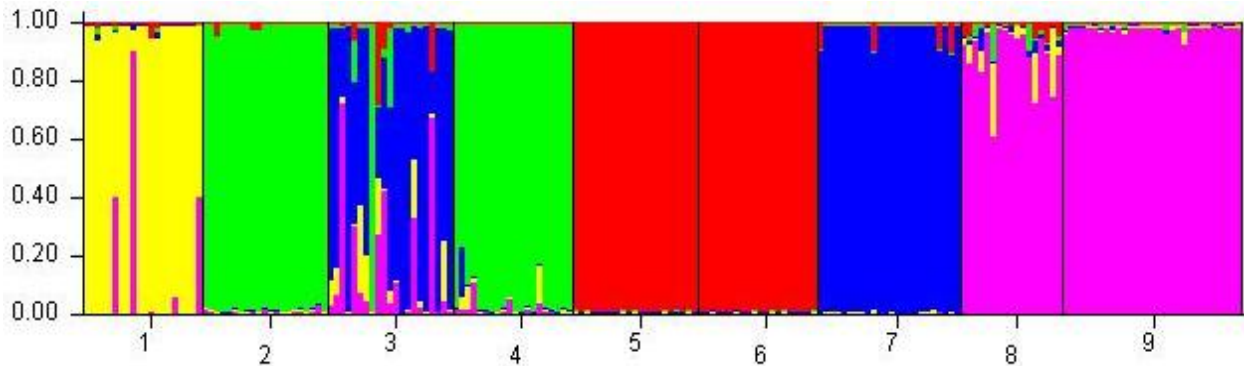


Figure 4: Histogramme d'assignation pour K=5.

N° carte	Station	Costa Bona	Ercu	Golu	Sant'Antone	Domestique
1	Costa Bona	89	1	1	1	9
2	Ponticellu	1	97	0	1	1
3	Prunitacciu	7	8	67	3	16
4	Ercu aval	2	95	1	0	2
5	affluent Sant'Antone (en réserve-citerne)	0	0	0	99	0
6	Sant'Antone (hors réserve)	0	0	0	99	0
7	Golu (aval Albertacce)	1	0	97	2	0
8	Ortolu	6	2	2	2	89
9	pisciculture Isère	1	1	0	0	98

Tableau 2: Transposition de l'histogramme de la Figure 4 sous forme de pourcentages (les valeurs correspondent à la moyenne des 6 "runs" d'assignation). Les couleurs orange et jaune des cellules montrent les lignées dominantes dans chaque échantillon.

5.3. Paramètres populationnels

La diversité génétique de chaque population analysée est comparée à celle de la souche domestique atlantique nationale qui est considérée comme fortement polymorphe, sans doute à cause des géniteurs d'origines multiples l'ayant constituée (Bohling et al. 2016). Dans le Tableau 2, les populations ayant ce niveau de polymorphisme sont en orange. L'Ortolu le dépasse. Le Prunitacciu est fortement polymorphe. Cet échantillon n'est pas influencé par l'Ercu (sauf une truite qu'on peut voir en vert à la figure 4, échantillon 3). Son haut polymorphisme est sans doute dû à la présence de 16% de truites domestiques. On note également que la population du Ponticellu, entièrement composée de truite de l'Ecu, n'a rien perdu en polymorphisme par rapport

à ce dernier. La dernière observation utile est le très bas polymorphisme des deux échantillons du Sant'Antone.

Les écarts à la panmixie (= reproduction au hasard entre tous les adultes d'une population), mis en évidence dans la dernière colonne du Tableau 3, touche les deux populations manipulées (le Ponticellu repeuplé par les truites de l'Ercu et le Prunitacciu impacté par des repeuplements en truites atlantiques. Plus surprenant, le Sant'Antone, à proximité de la réserve, est en déséquilibre alors qu'il est purement de type corse et faiblement polymorphe.

N° carte	Station	Hnb	Ho	A	Fis	signif.
1	Costa Bona	0,50	0,50	4,0	0,01	ns
2	Ponticellu	0,57	0,44	3,8	0,23	***
3	Prunitacciu	0,71	0,61	6,8	0,14	**
4	Ercu aval	0,54	0,50	4,8	0,07	ns
5	affluent Sant'Antone (en réserve-citerne)	0,16	0,13	1,7	0,23	**
6	Sant'Antone (hors réserve)	0,13	0,13	1,7	-0,01	ns
7	Golu (aval Albertacce)	0,40	0,41	3,6	-0,03	ns
8	Ortolu	0,82	0,84	8,6	-0,02	ns
9	pisciculture Isère	0,66	0,64	6,0	0,04	ns

Tableau 3: Résultats de l'estimation des trois paramètres de diversité génétique (entêtes jaunes) et d'un paramètre de panmixie (entêtes roses). Les nuances de jaune-orange-rouge des cellules désignent les populations les plus polymorphes. Les déséquilibres panmictiques significatifs (déficits en hétérozygotes) sont désignés par le bleu.

6. Interprétation et Discussion

Deux questions sur la gestion des truites corses sont posées. La première concerne la recherche de présence domestique (atlantique) dans trois populations de truites, la seconde le suivi de translocations de truites de l'Ercu dans deux rivières du bassin du Golu.

6.1. Sauvage ou domestique? C'est la question posée pour plusieurs stations:

Selon la Figure 4 et le Tableau 2, Costa Bona a été diagnostiqué à 89% sauvage, mais à 9% domestique. Ces 9% sont dus à une truite née en pisciculture et à deux truites hybrides de première génération (50/50).

Les deux nouvelles stations de Sant'Antone sont 100% sauvages (Tableau 2), comme l'ont montré les prélèvements précédents dans ce sous bassin. Toutefois, leur très faible polymorphisme est à remarquer (Tableau 3). C'est souvent le cas de très petites populations d'altitude.

6.2. La translocation des truites de l'Ercu: Selon les Figures 2 et 4, les résultats concernant le Ponticellu et le Prunitacciu sont contrastés.

Le Ponticellu est strictement identique à l'Ercu (malgré l'impression laissée par la Figure 2) avec 100% de truites de la même lignée (appelée ici lignée "Ercu"): les valeurs 95 et 97% sont assimilées à 100%, c'est la conséquence du "bruit de fond" de la méthode d'assignement qui peut atteindre jusqu'à 5%. Il semble que la population d'origine de cette rivière était extrêmement faible, ce qui fait que la translocation occupe toute la place.

A l'inverse, le Prunitacciu est exempt de présence Ercu à l'exception d'une seule truite qui est, elle, 100% Ercu (c'est la truite dont le prélèvement porte l'étiquette "Genome-R&D-0534"). Le Prunitacciu est donc peuplé par des truites de type Golu (lit principal) à près de 67% et domestique atlantique à près de 16%. Les 8% de lignée Ercu qu'on y trouve est dû à cette unique truite. Ce contraste avec l'autre rivière est dû à l'existence d'une population réceptrice abondante dans laquelle les truites provenant de l'Ercu se sont diluées.

En conclusion, le cas du Ponticellu au moins nous montre que ce genre de translocation aboutit à une bonne survie des truites dans leur nouveau milieu.

Fait à Saint-Just le 23 janvier 2020

7. Références bibliographiques citées (*La plupart des rapports cités peuvent être trouvés sur le site <https://data.oreme.org/trout/home> dans l'onglet "Liste des rapports" (cliquez sur "France" puis sur les départements concernés). Pour les options cartographiques du site, utilisez Firefox.*)

- Belkhir K, Borsa P, Goudet J, Bonhomme F. 2004. GENETIX 4.05: logiciel sous Windows pour la génétique des populations. Laboratoire Génome et Population, CNRS-UPR, Université de Montpellier II, Montpellier, France.
- Benzécri JP. 1973. L'analyse des données. Dunod, Paris.
- Berrebi P. 1996. Analyses allozymiques des truites corses dans le cadre du protocole n°1165 du CSP (8° délégation) : Etude de deux cours d'eau corses dévastés par les crues : la Solenzara et l'Ortolo. Suivi de la recolonisation par les populations de truite. Rapport décembre 1996, Université Montpellier II. (**CORS04**)
- Berrebi P. 1998. Structuration génétique des truites de Corse - Rapport 1998. Rapport de contrat, Université Montpellier II, 11 p. + annexes. (**CORS06**)
- Berrebi P., Cherbonnel C. 2009. Cartographie génétique des populations sauvages de truites françaises - Programme GENESALM - tome 1 - version du 15 décembre 2009. 22p. (**GSALM2**)
- Berrebi P., Cherbonnel C., Muracciole S., Recorbet B. 2009. Rapport intermédiaire OEC1 (3 décembre 2009) - Etude génétique de 18 échantillons 20 truites de Corse sur 4 marqueurs microsatellites. Université Montpellier 2. (**OEC2009**)
- Berrebi P, and Schikorski D. 2017. Contrôle de la composition génétique des truites de l'Ercu - Rapport **CORS08**: Rapport d'analyse pour la FD20. Université de Montpellier. Laboratoire ISEM. 8p.
- Bohling J, Haffray P, Berrebi P. 2016. Genetic diversity and population structure of domestic brown trout (*Salmo trutta*) in France. *Aquaculture* 462: 1-9.
- Earl DA, von Holdt BM. 2012. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources* 4: 359-361.
- Evanno G, Regnaut S, Goudet J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology* 14: 2611-2620.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959.