

Description génétique de cinq populations de truites corses basée sur six locus microsatellites

décembre 2011



Le Cuscione (© Nicolas Poulet 2008)

Analyses statistiques, interprétation, rédaction: **Patrick Berrebi**
Analyses moléculaires: **Zhaojun Shao**

* Institut des Sciences de l'Evolution, UMR5554 UM2/CNRS/IRD, Université Montpellier 2, CC065,
place E. Bataillon, 34095 Montpellier cedex, tel: 04 67 14 37 32,
patrick.berrebi@univ-montp2.fr
zhjshao@gmail.com



1. Introduction

Les gestionnaires des rivières corses s'attachent à protéger les formes locales de vie et en particulier les truites. Les analyses génétiques permettent, depuis presque 20 ans (première capture scientifique en mars 1993 pour le compte du Parc Naturel Régional de Corse; Berrebi 1993) de motiver les décisions de gestion et de protection et d'en suivre les conséquences.

Les gestionnaires ont financé ces études à tour de rôle: Le Parc Naturel Régional de Corse, la Fédération Départementale de Pêche, l'ONEMA, la DREAL, l'ONF et enfin l'OEC.

La campagne d'échantillonnage et d'analyses de 2011 est la seconde commandée par l'Office de l'Environnement de Corse, avec l'attribution à l'ISEM d'un marché public de services - prestation intellectuelle - ayant pour objet la réalisation d'analyses génétiques de truites sur 10 sites afin de rechercher de nouvelles populations de truites ancestrales corses (marché 14-2011/205 sur 3 ans).

Ce marché passé avec l'OEC est complémentaire de la convention OEC-Fédération qui précise que l'OEC finance le laboratoire et la Fédération assure les pêches.

Ces travaux se font dans la continuité de ceux du Life Macrostigma qui avait permis l'analyse génétique de 61 échantillons constitués entre 2004 et 2007, et du marché OEC précédent où 18 échantillons constitués entre 2009 et 2010 avaient pu être rajoutés.

2. Echantillonnage

C'est le 5 octobre 2011 que les 5 échantillons, de 20 truites chacun, portant les numéros OEC-19 à OEC-23, sont parvenus à l'ISEM.

Les détails des échantillons de 2011 et de ceux de référence, nécessaires à l'analyse (référence corses ancestraux, méditerranéens et atlantiques domestiques), sont donnés au tableau 1.

Pour faire le choix des références, une analyse à 4 marqueurs a été faite sur 48 échantillons (non montré ici). Chiova y est identique à Ese et typique du Prunelli (comme dans Berrebi et al., 2007), il a été indifféremment choisi comme représentant du Prunelli.

Rivière	Bassin	N	N° ISEM	N° terrain	Date
Ninu	Tavignanu	20	T19862 à T19881	OEC19-01 à 20	15/06/2011
Agnellu (Sari d'Orcino)	Liscia	20	T19882 à T19901	OEC20-01 à 20	28/08/2011
Manica aval	Asco-Golo	20	T19902 à T19921	OEC21-01 à 20	20/09/2011
Padulelli	Taravu	20	T19922 à T19941	OEC22-01 à 20	21/09/2011
U Furcone	Luri	20	T19942 à T19961	OEC23-01 à 20	27/09/2011
Chiova	Taravu	20	T02273 à T02291	A28 à A46	Mai 1994
Veraculongu	Taravu	18	T03118 à T03135	H49 à H56	Mai 1996
Veraculongu (Life 06)	Taravu	20	T08114 à T08133	L101 à L120	2004
Pozzi (Life 14)	Fium'orbu	20	T08274 à T08293	L261 à L280	2004
Marmano (Life 41)	Fium'orbu	20	T09212 à T09231	L761 à L780	2006
Haut Golo	Golo	24	T03083 à T03106	H14 à H37	05/1996
Ortolo	Ortolo	17	T03802 à T03819	C403 à C420	02/10/1996

Tableau 1 : Descriptif des nouveaux échantillons analysés (en jaune) ainsi que des échantillons de référence ancestraux corses (en bleu), méditerranéen corse (en vert) et domestique atlantique (en brun).

3. Méthodes moléculaires

Pour ces analyses moléculaires, il a été décidé pour plus de précision, de passer à 6 marqueurs (locus microsatellites Oneµ9, Mst85, SsoSL-311, Omy21DIAS, MST543 et Sfo1), les derniers travaux effectués pour l'OEC portaient sur 4 marqueurs.

Ces analyses consistent :

- à extraire l'ADN des morceaux de nageoires prélevées sur les truites sur le terrain (prélèvement anodin) par la méthode du Chelex - protéinase K;
- à amplifier les fragments d'ADN correspondant à chacun des 6 locus (par PCR);
- à faire migrer ces fragment sur gel d'acrylamide pour les séparer en fonction de leur taille;
- à lire les gels en déterminant la taille des fragments d'ADN de chaque locus avec l'analyseur d'image Hitachi FMBIO 2 Imager, donnant ainsi les génotypes à chaque locus et pour chaque truite: la matrice de données mise en annexe 2.

4. Méthodes statistiques

Afin de déterminer la composition génétique de chaque échantillon, trois méthodes ont été employées:

- l'analyse multidimensionnelle (ici l'Analyse Factorielle des Correspondances ou AFC effectuée par le logiciel GENETIX) permet de visualiser les ressemblances/dissembances de chaque truite; les échantillons de référence corses, méditerranéen et atlantiques domestiques permettent de comprendre cette structuration;
- l'analyse d'assignation effectuée par le logiciel STRUCTURE (statistiques bayésiennes) permet de quantifier l'appartenance des 5 échantillons analysés aux différentes lignées présentes
- l'analyse d'assignation effectuée par le logiciel PARTITIONML, basée sur des principes différents (maximum de vraisemblance) de ceux de la précédente, permet de lever certaines ambiguïtés.

5. Résultats

5.1. Analyses multidimensionnelles

Les deux figures présentées ici donnent un premier aperçu des ressemblances entre les 5 stations analysées et les truites de référence.

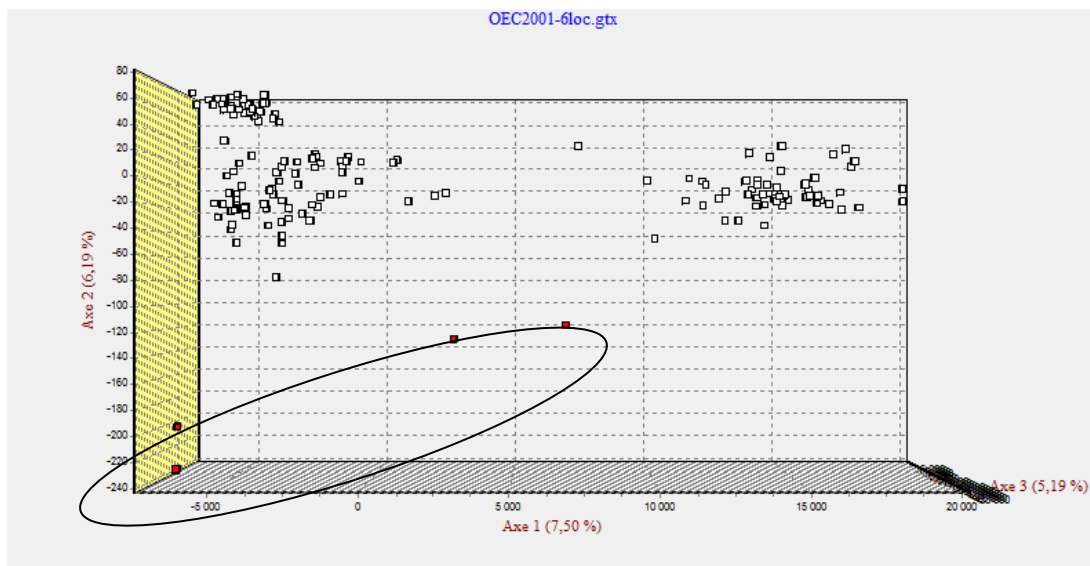


Figure 1 : L'axe 1 horizontal montre bien l'opposition entre les truites naturelles à gauche et les truites domestiques à droite. Cependant l'échantillon OEC23 (U Furcone), bien que du côté des truites autochtones, est très différent de tous les autres. Pour distinguer à l'intérieur des nuages du haut, il faut refaire l'analyse sans U Furcone (Figure 2).

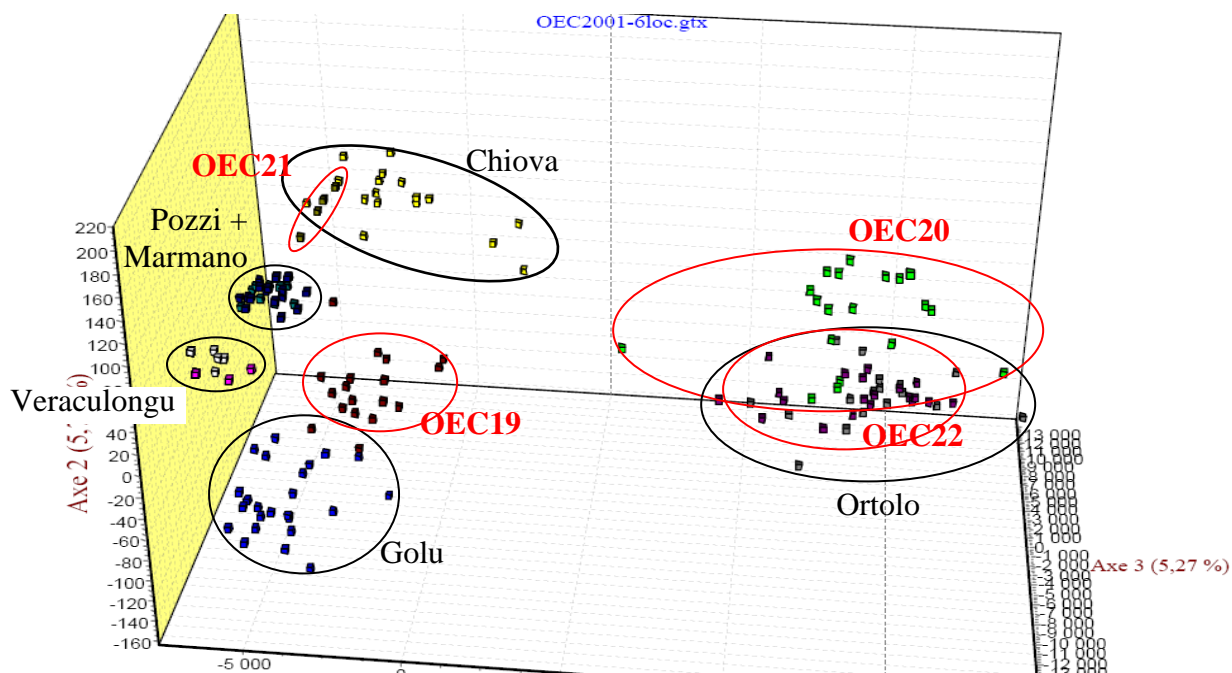


Figure 1 : L'axe 1 horizontal confirme l'opposition entre les truites naturelles à gauche et les truites domestiques à droite. Les stations **Agnellu** (OEC20) et **Padulleli** (22) semblent entièrement domestiques. **Ninu** (19) se place tout prêt des méditerranéennes (**Golu**) et **Manica** parmi les truites du **Prunelli** (**Chjova**). On reconnaît le type **Fium'Orbo** (**Pozzi+Marmano**) et le type **Taravo** (**Veraculongu**).

5.2. Analyses d'assignation

Utilisant des méthodes statistiques radicalement différentes de celles de l'AFC, l'**assignation bayésienne** (**STRUCTURE**) doit nous permettre de chiffrer les pourcentages de mélanges entre grandes lignées. Ici 100000 burn'in et 300000 itérations ont été faite par test.

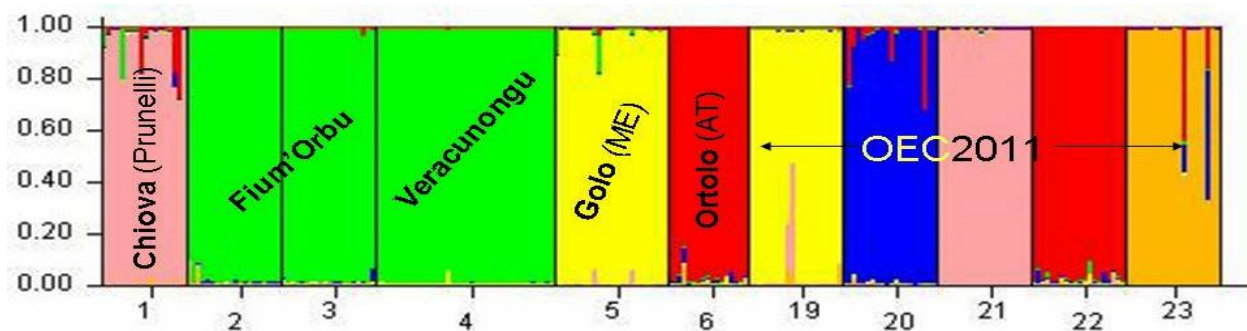


Figure 3 : Les analyses d'assignations effectuées avec le logiciel **STRUCTURE** se sont avérées instables. Le résultat présenté ici est majoritaire (50%) mais n'est qu'une des quelques combinaisons proposées par le logiciel qui coïncide avec les résultats d'AFC. On voit une forte homogénéité intra-échantillon (peu de mélange). **Ninu** (OEC19) est similaire aux truites méditerranéennes du **Golo**; **Padulleli** (22) est proche des truites domestiques, **Manica** (21) est proche du **Prunelli**, enfin **Agnellu** (20) et **U Furcone** (23) ne ressemblent à aucune des références. Cette analyse ne distingue pas **Fium'Orbo** et **Veraculongu**.

La seconde méthode d'assignation traitée par **PARTITIONML** est basée sur des statistiques différentes (**maximum de vraisemblance**). Contrairement à la méthode précédente, les résultats donnent l'assignation majoritaire de chaque individu aux k sous-groupes demandés (tout ou rien).

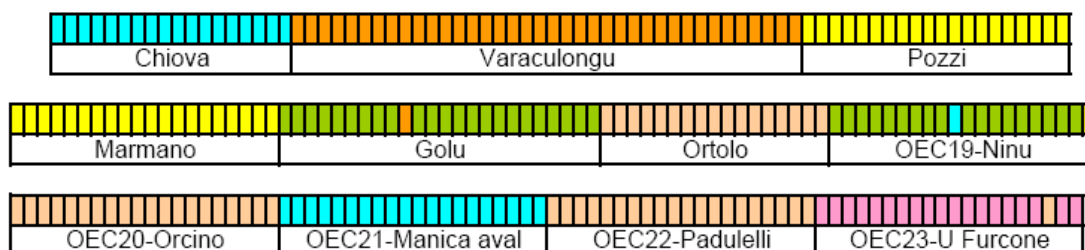


Figure 4 : Selon la méthode du maximum de vraisemblance (assignation par **PARTITIONML**), Ninu est presque entièrement méditerranéen (comme Golu, **en vert**); Agnelli (=Orcino) et Padulleli apparaissent comme purement domestiques (tout comme Ortolo, **en brun**); Manica aval est purement Prunelli (comme Chiova **en bleu**); U Furcone confirme sa constitution génétique particulière (**en rose**); on remarque les types Veraculongu **en orange** et Fium'Orbo **en jaune** qui interviennent très peu dans les échantillons OEC de 2011.

6. Interprétation - discussion

L'analyse des 5 nouveaux échantillons numérotés OEC19 à 23 (voir Tableau 1) a posé quelques problèmes statistiques: certains tests ont donné des résultats divergents.

Avant de discuter de ces problèmes, le Tableau 2 ci-dessous résume les résultats chiffrés des 3 tests effectués: l'AFC, l'assignation bayésienne (STRUCTURE) et l'assignation par maximum de vraisemblance (PARTITIONML).

Méthode	Types	STRUCTURE					PartitionML				
		P1	P2	M	C	UF	P	M	C1	C2	UF
OEC19	Ninu	0	0	94	5	1	0	90	5	5	0
OEC20	Agnelli	5	94	1	0	0	100	0	0	0	0
OEC21	Manica	0	0	0	99	0	0	0	100	0	0
OEC22	Padulleli	97	1	1	2	0	100	0	0	0	0
OEC23	U Furcone	3	3	0	0	92	5	0	0	0	95

Tableau 2 : Comparaison des estimations de composition selon les 2 méthodes d'assignation employées. Structure distingue les truites domestiques d'Agnelli et de Padulleli tandis que PartitionML distingue les truites ancestrales corses du Prunelli (C1) de celles du Fium'Orbo (C2).

Ce tableau présente des estimations obtenues par deux méthodes. Celle obtenue par Structure est instable d'un test à l'autre et c'est la combinaison majoritaire qui est donnée là. Celle obtenue par PartitionML est moins sensible aux difficultés de classement mais ne nuance pas les hybrides: une truite donnée aura le statut de la majorité de ses gènes. Ces deux méthodes présentant chacune des avantages et des inconvénients aboutissent cependant à un consensus:

- le lac de Ninu est à 90/95% méditerranéen et 5/10% corse;
- Agnelli et Padulleli sont entièrement domestiques;
- Manica est entièrement corse de type Prunelli;

- U Furcone est à 95% sauvage, mais il est difficile de dire si c'est un nouveau type corse ancestral ou si c'est un type méditerranéen, la connaissance de cette dernière lignée étant extrêmement limitée en Corse. Une analyse de l'ADN mitochondrial résoudrait cette question (type corse ancestral = haplotype AD; type méditerranéen = haplotype ME).

7. Conclusion

Les cinq échantillons de l'année 2011 (série appelée OEC2011) présentent donc deux populations presque entièrement remplacées par des truites domestiques (Agnellu et Padulleli), deux populations corses ancestrales (Manica aval et U Furcone) et une population presque entièrement méditerranéenne (lac de Nino).

A l'occasion de cette série d'analyses, nous avons vu que le choix des échantillons de référence était primordial. Pour cette étude qui commence (marché OEC 14-2011/205), du fait du passage à 6 marqueurs, seules quelques échantillons anciens (1994-1996) et les stations du LIFE ayant fait l'objet de l'action A3 ont été analysées sur 6 locus et ont pu donc servir de référence.

Ceci explique que l'échantillon d'U Furcone soit différent des autres: tous les types corses ne sont pas disponibles en 6 locus.

Concernant les truites méditerranéennes naturelles de Corse, un seul échantillon avait été analysé sur ces 6 marqueurs (le Haut Golo échantillonné en 1996). Une plus large collection d'échantillons de truites corses de la lignée méditerranéenne est donc nécessaire pour améliorer les diagnostics, d'autant plus que la truite méditerranéenne corse est une lignée très particulière (hybride à des taux divers avec la lignée corse) et mérite autant notre intérêt et notre protection que la lignée corse.

Le laboratoire de Montpellier (ISEM) a également débuté une analyse génétique des truites corses basée sur les séquences de l'ADN mitochondrial (Reynaud et al. 2011, voir annexe 1). Ce marqueur est très performant pour retracer les événements anciens: il sera plus efficace que les microsatellites pour distinguer les trois grandes lignées présentes en Corse (AD = adriatiques comme les truites corses ancestrales; ME = méditerranéennes comme les truites du Golo ou les truites de l'aval; AT = atlantiques comme les truites domestiques... et même MA = truites marbrées). Par contre les microsatellites sont beaucoup plus efficaces à petite échelle, dans le détail des populations, et permettent de démontrer les hybridations. Enfin, le marqueur mitochondrial permettra de placer les truites corses dans l'organisation européenne de ce complexe d'espèces et d'améliorer la compréhension de l'installation naturelle des peuplements corses.

Fait à Montpellier le 8 décembre 2011

5. Littérature citée

- Berrebi P. 1993. Rapport d'activité 1993 - Etude génétique de la truite corse. 4p., Université Montpellier 2.
- Berrebi P. 2004. Rapport intermédiaire n°2. LIFE macrostigma.
- Berrebi P., Dubois S., Recorbet B., Muracciole S., Mattei J. 2007. Les progrès en génétique obtenus lors du LIFE. In : *Guide de gestion de la truite macrostigma*, 52-60.
- Reynaud N., Tougard C. & Berrebi P. (2011) Structuration géographique de la truite commune (*Salmo trutta* L.) en France basée sur le séquençage de la région de contrôle mitochondriale, 45p. Rapport d'étude pour l'OSU OREME, Université Montpellier 2.

Annexe 1 : Haplotypes mitochondriaux obtenus sur les truites corses (Reynaud et al. 2011).

population	Ref.	N	haplotypes			
			AD	AT	MA	ME
Golu	1996	5				MEcs24 (5)
Ariola	LIFE 04	5	Ad3 (3)	ATcs1 (2)		
Manica	LIFE 07	5	Ad3 (5)			
Paratella	LIFE 10	5			MAcs1 (5)	
Marmanu	LIFE 11	5	Ad3 (4)	ATcs4 (1)		
Rocce	LIFE 16	5	Ad3 (2)	ATcs1 (3)		
Bocca Bianca	LIFE 17	5		ATcs2 (5)		
Carnevalle	LIFE 19	4			MAcs1 (4)	
Haut Botaro	LIFE 22	5	ADcs23 (5)			
Veraculungu	LIFE 34	5	ADcs15 (1)	ATcs2 (4)		
Chjuvone	LIFE 35	5	ADcs15 (1)			MEcs22 (4)
Ciuttare	LIFE 36	5	ADcs24 (5)			
Lonca	LIFE 37	5				MEcs1 (5)
Zoicu	LIFE 48	5				MEcs1 (5)
Renaju	LIFE 49	5		ATcs4 (2)		MEcs23 (3)
Ese Bronco	LIFE 51	5		ATcs4 (5)		
Lette	LIFE 54	5	ADcs25 (5)			
Fordinchesi	LIFE 56	5	ADcs15 (5)			
Capiaghja	LIFE 57	5		ATcs1 (1), ATcs3 (1), AT (3)		

Annexe 2 : Matrice des géotypes aux 6 marqueurs microsatellites analysés

N° labo	N° terrain	station	Oonep9	Mst85	SsoSL-311	Omy21 DIAS	MST 543	Sfo1
T19862	OEC19-01	Ninu	193199	159159	130130	096122	146150	130130
T19863	OEC19-02	Ninu	193199	159159	130130	122122	146146	130130
T19864	OEC19-03	Ninu	193199	159159	130130	096096	146146	130130
T19865	OEC19-04	Ninu	193193	159159	130130	096122	146146	130130
T19866	OEC19-05	Ninu	193199	159159	130130	096096	150150	130130
T19867	OEC19-06	Ninu	193193	159159	130130	096122	146150	130130
T19868	OEC19-07	Ninu	193199	159159	130130	122122	126150	130130
T19869	OEC19-08	Ninu	193199	159159	130130	122122	146146	130130
T19870	OEC19-09	Ninu	197197	159159	130130	096122	146146	130130
T19871	OEC19-10	Ninu	197197	159159	130130	096122	146150	000000
T19872	OEC19-11	Ninu	193199	159159	130130	096096	150150	172172
T19873	OEC19-12	Ninu	193199	159159	130130	096122	126146	130172
T19874	OEC19-13	Ninu	193199	159159	130130	122122	146150	174174
T19875	OEC19-14	Ninu	193199	159159	130130	096122	146146	172172
T19876	OEC19-15	Ninu	193193	159159	130130	096096	146150	130130
T19877	OEC19-16	Ninu	193193	159175	130130	114122	146150	172174
T19878	OEC19-17	Ninu	199199	159159	130130	096122	146150	172172
T19879	OEC19-18	Ninu	193199	159159	130130	096122	126150	130130
T19880	OEC19-19	Ninu	193199	159159	130130	096122	146150	130130
T19881	OEC19-20	Ninu	193199	159175	130130	096096	146146	124170
T19882	OEC20-01	Agnellu	203203	147157	130148	112112	128130	118134
T19883	OEC20-02	Agnellu	201203	157159	128150	108124	142154	122130
T19884	OEC20-03	Agnellu	201203	147167	124148	114124	148148	134138
T19885	OEC20-04	Agnellu	197201	147157	130148	112124	128128	118138
T19886	OEC20-05	Agnellu	197203	167167	130150	124124	148148	128130
T19887	OEC20-06	Agnellu	201203	157159	148150	112112	148148	130130
T19888	OEC20-07	Agnellu	197203	157159	130142	112112	164164	138138
T19889	OEC20-08	Agnellu	201203	147157	130130	112124	130164	118134
T19890	OEC20-09	Agnellu	203203	147157	130130	112112	128130	118134
T19891	OEC20-10	Agnellu	203203	157157	128150	102112	130164	130134
T19892	OEC20-11	Agnellu	201201	147167	128150	090112	148154	128138
T19893	OEC20-12	Agnellu	203203	159167	130130	108124	154154	130134
T19894	OEC20-13	Agnellu	203203	147157	130148	112112	128130	118134
T19895	OEC20-14	Agnellu	203203	147157	130130	112112	128130	118138
T19896	OEC20-15	Agnellu	197203	147157	130150	112112	130130	118134
T19897	OEC20-16	Agnellu	203203	157157	150150	112112	124130	130134
T19898	OEC20-17	Agnellu	197203	167167	130150	112124	124128	130138
T19899	OEC20-18	Agnellu	201203	157167	130144	108114	142154	128130
T19900	OEC20-19	Agnellu	197203	157157	150150	112112	124162	130134
T19901	OEC20-20	Agnellu	203203	159167	130148	112124	162164	118138
T19902	OEC21-01	bas Manica	197197	159159	130130	128128	150150	144144
T19903	OEC21-02	bas Manica	197197	159159	130130	128128	150150	144144
T19904	OEC21-03	bas Manica	193197	159159	130130	128128	150150	144144
T19905	OEC21-04	bas Manica	197197	159159	130130	128128	150150	144144
T19906	OEC21-05	bas Manica	197197	159159	130130	128128	150150	144144
T19907	OEC21-06	bas Manica	193197	159159	130130	128128	150150	144144
T19908	OEC21-07	bas Manica	197197	159159	130130	128128	150150	144144
T19909	OEC21-08	bas Manica	193197	159159	000000	128128	150150	144144
T19910	OEC21-09	bas Manica	197197	159159	130130	128128	150150	144144
T19911	OEC21-10	bas Manica	193193	159159	130130	128128	150150	144144

N° labo	N° terrain	station	Onep9	Mst85	SsOSL- 311	Omy21 DIAS	MST 543	Sfo1
T19912	OEC21-11	bas Manica	197197	159159	130130	128128	150150	144144
T19913	OEC21-12	bas Manica	193197	159159	130130	128128	150150	144144
T19914	OEC21-13	bas Manica	197197	159159	130130	128128	150150	144144
T19915	OEC21-14	bas Manica	197197	159159	130130	128128	150150	144144
T19916	OEC21-15	bas Manica	197197	159159	130130	128128	150150	144144
T19917	OEC21-16	bas Manica	197197	159159	130130	128128	150150	144144
T19918	OEC21-17	bas Manica	197197	159159	130130	128128	150150	144144
T19919	OEC21-18	bas Manica	197197	159159	130130	128128	150150	144144
T19920	OEC21-19	bas Manica	197197	159159	130130	128128	150150	144144
T19921	OEC21-20	bas Manica	197197	159159	130130	128128	150150	144144
T19922	OEC22-01	Padulelli	201207	147159	144150	102106	148158	116122
T19923	OEC22-02	Padulelli	201201	157157	130150	102106	126158	130130
T19924	OEC22-03	Padulelli	201201	159167	138138	106106	148150	118130
T19925	OEC22-04	Padulelli	193199	157159	130146	106106	148158	122128
T19926	OEC22-05	Padulelli	199201	147157	128144	106106	148150	122152
T19927	OEC22-06	Padulelli	201201	159159	144144	102106	126158	118122
T19928	OEC22-07	Padulelli	199201	147159	124144	102124	126126	128128
T19929	OEC22-08	Padulelli	199199	159177	130144	106108	148148	122138
T19930	OEC22-09	Padulelli	199201	159167	142146	106106	148158	128138
T19931	OEC22-10	Padulelli	201201	147159	142142	102106	126148	122128
T19932	OEC22-11	Padulelli	193201	157159	128144	106106	148148	128128
T19933	OEC22-12	Padulelli	193201	147159	142142	106114	148158	122122
T19934	OEC22-13	Padulelli	193193	159159	144144	106124	126148	122122
T19935	OEC22-14	Padulelli	201207	147159	130150	106106	148148	122122
T19936	OEC22-15	Padulelli	201201	159175	142142	106106	148148	122122
T19937	OEC22-16	Padulelli	201201	157157	150150	106108	126126	130130
T19938	OEC22-17	Padulelli	201201	147159	150150	106108	148158	130130
T19939	OEC22-18	Padulelli	201201	159159	144150	106106	150150	128138
T19940	OEC22-19	Padulelli	193199	157159	134146	106106	122158	130130
T19941	OEC22-20	Padulelli	201201	157159	144144	106106	126148	122128
T19942	OEC23-01	U Furcone	197197	159159	124124	132132	186186	170170
T19943	OEC23-02	U Furcone	197197	159159	124124	132132	186186	170170
T19944	OEC23-03	U Furcone	197197	159159	124124	132132	186186	170170
T19945	OEC23-04	U Furcone	197197	159159	124124	132132	186186	170170
T19946	OEC23-05	U Furcone	197197	159159	124124	132132	186186	170170
T19947	OEC23-06	U Furcone	197197	159159	124124	132132	186186	170170
T19948	OEC23-07	U Furcone	197197	159159	124124	132132	186186	170170
T19949	OEC23-08	U Furcone	197197	159159	124124	132132	186186	170170
T19950	OEC23-09	U Furcone	197197	159159	124124	132132	186186	170170
T19951	OEC23-10	U Furcone	197197	159159	124124	132132	186186	170170
T19952	OEC23-11	U Furcone	197197	159159	124124	132132	186186	170170
T19953	OEC23-12	U Furcone	197197	159159	124124	126132	186186	170170
T19954	OEC23-13	U Furcone	201201	147159	124166	102132	150186	134170
T19955	OEC23-14	U Furcone	197197	159159	124124	132132	186186	170170
T19956	OEC23-15	U Furcone	197197	159159	124124	132132	186188	170170
T19957	OEC23-16	U Furcone	197197	159159	124124	132132	186186	170170
T19958	OEC23-17	U Furcone	197197	159159	124124	126132	186186	170170
T19959	OEC23-18	U Furcone	197201	147169	124124	102102	142142	134170
T19960	OEC23-19	U Furcone	197197	159159	124124	126132	186186	170170
T19961	OEC23-20	U Furcone	197197	159159	124124	132132	186186	170170