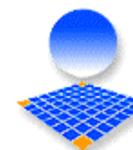


UMR 5119 - ECOSYSTEMES LAGUNAIRES
"Ecologie fonctionnelle et évolution des poissons"
Université Montpellier II, case 093,
Place E. Bataillon
34095 MONTPELLIER CEDEX 05
FRANCE

tel: ++ 33 (0)4 67 14 37 32
fax: ++ 33 (0)4 67 14 37 19
E-mail: berrebi@crit.univ-montp2.fr



R A P P O R T F I N A L

***"Analyse génétique (allozymes) de truites
en sites Natura 2000" (FR9400573 et FR9400611)***

Traitement des données et interprétation : Patrick Berrebi
Analyses techniques : Ghislaine Cattaneo-Berrebi
Montpellier, **septembre 2002**



étude financée par la DIREN de Corse : lettre de commande n°1289 BR/BR/ 2001

analyses génétiques (allozymes) de truites en sites Natura 2000 (FR9400573) et FR9400611
(UMR 5119/ Université de Montpellier/ Patrick Berrebi pour la DIREN de Corse ; 2002)

Introduction

A la suite d'un accord entre Bernard Recorbet (DIREN de Corse) et Patrick Berrebi (Université Montpellier II) datant du 6 novembre 2001, il a été convenu que le Laboratoire Ecosystèmes Lagunaires effectuerait une analyse génétique de 4 échantillons de truites "macrostigma" de sites NATURA 2000 corses.

La capture et la préparation des échantillons ont été assurées par la brigade Corse du Conseil Supérieur de la pêche ; la livraison par le CSP 8ème Délégation de Grabels (Montpellier).

Le laboratoire Ecosystèmes Lagunaires de l'Université Montpellier II a reçu en avril 2002 des échantillons de truites de Corse, congelés dans l'azote liquide, sous la forme de quatre organes disséqués : oeil, foie, muscle et sang. Ces échantillons appelés étaient étiquetés selon les dénominations indiquées ci-dessous :

Tableau I : Composition de l'échantillonnage				
LOT	numéros	localités	nombre	taille
lot 1	k1 à k16	Casaluna (a)	16	140 à 200 mm
lot 2	k17 à k34	Prunelli-1(b)	18	125 à 190 mm
lot 3	k35 à k52	Mezzaniva (c)	18	135 à 190 mm
lot 4	k53 à k72	Prunelli-2 (d)	20	120 à 220 mm
(Recorbet 13/03/02)				
total = 72				

localisation précise

- (a) ruisseau le Sarbaïo en amont immédiat de la D15 à Cambia (2B) (site Natura 2000 FR9400573)
- (b) haut Prunelli environ 500 m en amont du confluent avec le Mezzaniva à Bastelica (site Natura 2000 FR9400611)
- (c) ruisseau près des bergeries de mezzaniva à Bastelica (site Natura 2000 FR9400611)
- (d) ruisseau de Rughia en amont immédiat du petit pont de bois (sentier menant à Vitalaca), affluent rive droite du Prunelli à environ 1 km de la fontaine de Verga , en amont ; commune de Bastelica ; hors site Natura 2000

Analyses biochimiques

Au laboratoire, les tissus ont été décongelés, broyés en présence de tampon, centrifugés et le surnageant prélevé, constituant l'extrait enzymatique.

L'électrophorèse consiste à faire migrer dans un champ électrique, les protéines enzymatiques insérées dans un gel d'amidon hydrolysé horizontal. La vitesse de migration des protéines enzymatiques est fonction de leur charge électrique. Une mutation au niveau de l'ADN qui les code (donc héréditaire) peut provoquer une modification de ces charges, ce qui devient visible sur le gel.

Après migration, les gels sont colorés par des solutions permettant de détecter l'activité enzymatique recherchée. Les taches colorées permettent de distinguer les différents types d'enzymes (les allèles), de reconnaître leur état homozygote (2 copies) ou hétérozygote (1 copie), et ainsi de les comptabiliser au niveau de l'individu et au niveau de la population.

29 locus enzymatiques ont été analysés.

Analyses statistiques

Les lectures de gels sont converties en tableaux de génotypes (voir annexe) qui sont traités statistiquement par le logiciel GENETIX (Belkhir *et al.*, 1996).

Globalement, quatre étapes successives permettent une description interprétable des données :

- le calcul des fréquences alléliques : ce calcul permet de mesurer l'importance relative, dans chaque échantillon, des différents allèles à chaque locus (tableau III);

- l'hétérozygotie de chaque échantillon a été calculée. Ce paramètre (Hobs ou Hnb) donne une idée de la diversité génétique présente à chaque station (bas tableau III).

- l'analyse multidimensionnelle : par l'Analyse Factorielle des Correspondances (AFC), il est possible de garder la totalité de l'information individuelle, alors que toute autre méthode, passant par le calcul de paramètres divers, comprime l'information en une moyenne par échantillon ou par locus. Ainsi, la série de projections proposées plus bas situe les truites (ayant subi une analyse complète) dans un hyper-espace en fonction de toutes leurs caractéristiques génétiques simultanément. Les corrélations multilocus sont ainsi mises en évidence.

Dans le cas précis des échantillons corses, un "fond de carte" a été établi à partir d'analyses anciennes de truites corses (référence méditerranéenne = échantillon du Haut Golo; références corses = échantillons du Prunelli et du Veraculungo purement ancestrales corses; référence atlantique = pisciculture de Fontanelle - Vaucluse). Sur le schéma d'AFC présenté en figure 1, les références sont

représentées par de petits losanges et les échantillons analysés ici par de gros ronds colorés.

Il est à noter que la référence "méditerranéennes" ne sont pas homogènes mais font la jonction entre les pôles corse et méditerranéen (voir flèches). ceci est dû au fait que ce qu'on appelle "méditerranéennes" en Corse sont en fait le résultats de l'hybridation très ancienne des formes ancestrales corses et des envahisseurs méditerranéens ayant abouti à des populations mixtes où les gènes méditerranéens ont très majoritairement dominé mais où les gènes corses sont encore plus ou moins présents. Ce phénomène est entièrement naturel et s'est stabilisé bien avant que l'homme n'habite l'île.

RESULTATS ET INTERPRETATION

Les LDH

Les marqueurs essentiels pour la détermination du type de truite sont les deux LDH 3 et 5. Ces deux marqueurs ont déjà permis de donner des résultats partiels en juin 2002 :

Tableau II :
Composition génétique des lots (d'après *LDH3 et *LDH5** seulement)**

	corse	méditerranéen	atlantique	nombre analysé
Casaluna	0%	15%	85%	13
Prunelli 1	59%	0%	41%	16
Mezzaniva	37%	0%	63%	18
Prunelli 2	0%	3%	97%	20

Les résultats sur les seuls marqueurs LDH nous montrent que l'impact des repeuplements est remarquablement intense (41 à 97%). Ces repeuplements se sont fait aux dépens de peuplements corses (Prunelli-1 et Mezzaniva) puisqu'il ne reste pas trace de gènes corses; ou aux dépens de peuplement méditerranéen (Casaluna). Il n'est pas possible de se prononcer pour l'échantillon Prunelli-2, la souche de pisciculture ayant totalement remplacé la forme naturelle.

Analyses complètes

Les analyses complètes portent sur 29 locus. La richesse de ces données (par rapport aux seules LDH) permet d'établir avec précision le type génétique des truites échantillonnées.

Ces analyses dont les données brutes sont indiquées en annexe ont abouti à l'établissement d'un tableau de fréquences qui rend compte précisément des

Tableau III : Fréquences alléliques aux locus enzymatiques polymorphes

Comment lire le tableau de fréquences? Les sigles suivis d'une astérisque (*AAT-1**, *AAT-4**, *CK-1** etc.) sont les noms des locus enzymatiques analysés. Les chiffres sur la ligne (N) donnent le nombre de poissons analysés pour chaque enzyme. Les chiffres en dessous (100 et 130; 65 etc.) sont les noms des différentes formes (ou allèles) que peuvent prendre les enzymes pour chaque poisson. Enfin, les chiffres portés dans le tableau (1, 0, 0,929, 0,071... etc.) donnent les fréquences des allèles à chaque station d'échantillonnage (par exemple, 50% est indiqué 0.50 et 3% est indiqué 0.03).

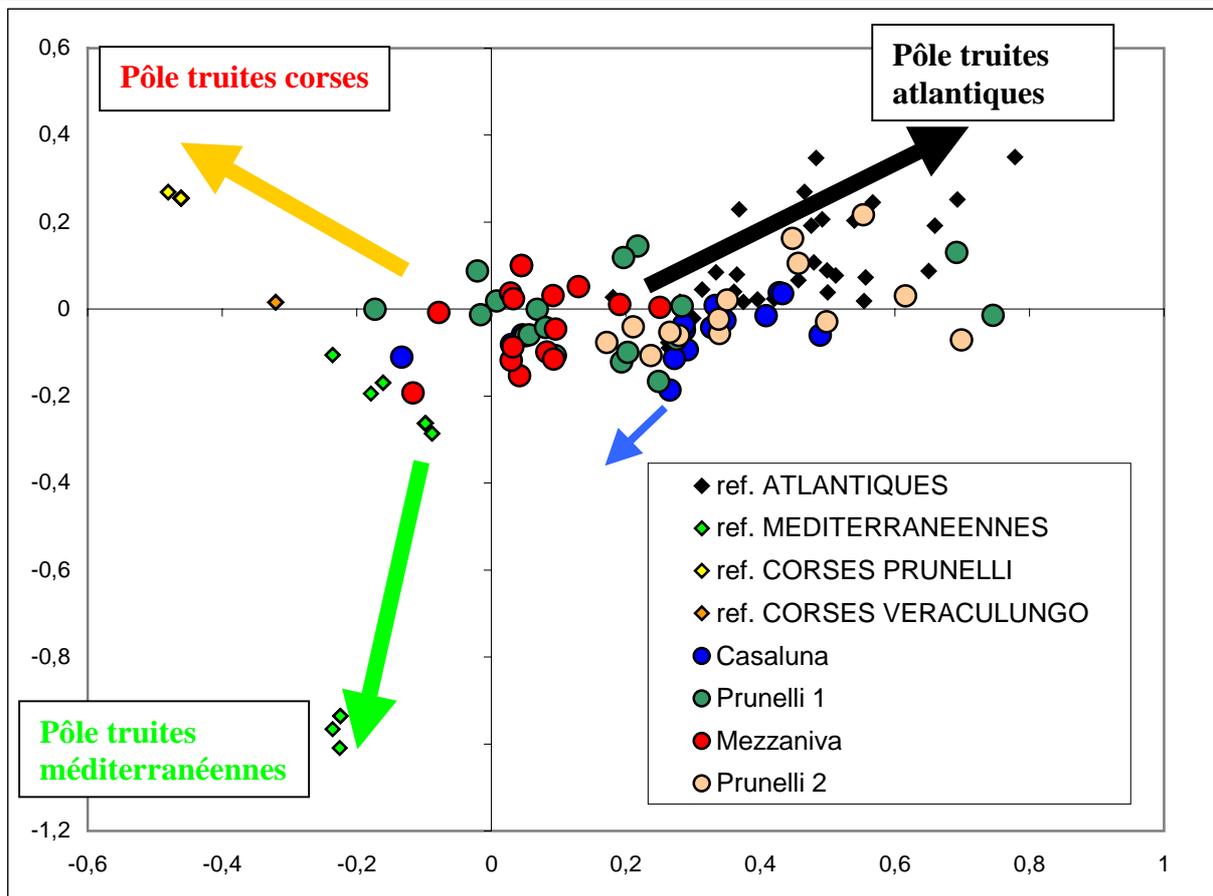
	Casaluna	Prunelli 1	Mezzaniva	Prunelli 2
<i>AAT-1*</i>				
(N)	15	16	16	14
100	1	1	1	0,929
130	0	0	0	0,071
<i>AAT-4*</i>				
(N)	13	17	16	14
65	0,3846	0,2647	0,25	0,3214
100	0,6154	0,7353	0,75	0,6786
<i>CK-1*</i>				
(N)	15	16	16	14
100	0,5528	0,6464	1	0,2929
125	0,4472	0,3536	0	0,7071
<i>FBP-1*</i>				
(N)	8	12	11	4
100	1	0,7083	0,5455	0,625
150	0	0,2917	0,4545	0,375
<i>FH-1*</i>				
(N)	13	17	16	14
100	0,8846	0,7353	0,8438	0,4286
110	0,0385	0,1471	0,0938	0,1071
130	0,0385	0,0882	0	0
135	0,0385	0	0,0625	0,4643
140	0	0,0294	0	0
<i>IDH-3*</i>				
(N)	13	17	16	14
100	0,9615	1	1	1
200	0,0385	0	0	0
<i>LDH-3*</i>				
(N)	13	18	16	14
40	0	0,3889	0,4375	0
100	1	0,6111	0,5625	1
<i>LDH-5*</i>				
(N)	12	18	12	9
90	1	0,8056	0,5417	0,9444
100	0	0,1944	0,4583	0,0556
<i>MDH-2*</i>				
(N)	13	17	16	14
1	0	0	0	0
100	0,9231	0,9118	0,9688	0,8929
200	0,0769	0,0882	0,0313	0,1071
<i>MDH-3*</i>				
(N)	15	16	16	14
75	0,3333	0	0,3125	0,4286
100	0,6667	1	0,6875	0,5714
<i>MPI*</i>				
(N)	12	17	16	14
100	0,625	0,6471	0,7188	0,6071
105	0,375	0,3529	0,2813	0,3929
<i>G3PDH-2*</i>				
(N)	15	16	16	14
50	0,0333	0	0	0,1429
100	0,9667	1	1	0,8571
Hobs	0,0772	0,091	0,1081	0,1307
Hn.b.	0,0788	0,1016	0,1083	0,1318

Les locus pour lesquels seul l'allèle 100 est indiqué (fréquence 1) sont monomorphes. Le locus *CK-1** est traité à part : il n'est pas possible d'en distinguer les génotypes 100/100 et 100/125. Il est donc nécessaire d'extrapoler la seule fréquence sure (celle du génotype 125/125) en considérant le locus en équilibre panmictique (en vert quand recalculé).

allèles (= variants) génétiques rencontrés. Dans le tableau III, seuls les locus polymorphes (informatifs) sont indiqués.

L'analyse multidimensionnelle (ici une AFC) permet de traduire ce tableau complexe de résultats en une figure compréhensible : chaque point correspond à une truite, plus deux points sont rapprochés, plus les truites se ressemblent génétiquement, plus deux points sont éloignés, plus les truites se distinguent.

Figure 1 : AFC décrivant les trois types de truites présentes en corse



Dans ce graphique, les petits losanges sont des truites hors étude qui servent de référence. Seuls les ronds (dont les couleurs sont expliquées) ont fait l'objet de cette analyse.

Il est clair que toutes les truites analysées se placent essentiellement entre le pôle atlantique et le pôle corse, avec un avantage au premier. L'impact des

repeuplements, seule explication de la présence d'allèles atlantiques en Corse, est important et correspond bien aux pourcentages obtenus avec les seules LDH (tableau II).

Sur cette figure 1, les trois entités génétiques présentes en Corse sont placées en "fond de carte" grâce à des données anciennes. Sur ce fond de carte, les truites analysées sont clairement situées entre les pôles atlantique et corse. L'échantillon Mezzaniva est équilibré entre les deux tendances, les échantillons Casaluna et Prunelli 2 sont proches du pôle atlantique (forte influence des repeuplements) avec une présence méditerranéenne (flèche bleue) pour le premier, l'échantillon Prunelli 1 est fortement mélangé, comportant aussi bien des individus entièrement atlantiques, d'autres entièrement corses et un majorité d'hybride.

Les valeurs d'hétérozygotie, donnant une idée chiffrée du polymorphisme de chaque échantillon (dernières lignes en bleu du tableau III) aident à comprendre l'origine de ces repeuplements. Il est connu que les souches de pisciculture sont plus polymorphes que les populations naturelles (H moyen : 0,13). Ceci explique la valeur de 0,13 obtenue pour Prunelli 2, population entièrement artificielle, de repeuplement vraisemblablement récent. Le fait que Casaluna soit à 85% atlantique mais que son hétérozygotie soit limitée à 0,08 s'explique par la présence de 15% de gènes méditerranéens qui forment sur le continent des populations généralement très peu polymorphes (H moyen : 0,05) et figurés par la petite flèche bleu dans la figure 1. La présence de ces gènes méditerranéens s'explique difficilement dans cette zone, probablement par l'action de l'homme. Enfin, les deux autres échantillons sont issus de déversements de truites atlantiques dans des peuplements qui étaient purement corse.

Bien qu'hypothétiques, les données génétiques nous ont permis d'avancer dans la compréhension de l'histoire ancienne et récentes de ces peuplements.

Fait à Montpellier le 23 septembre 2002