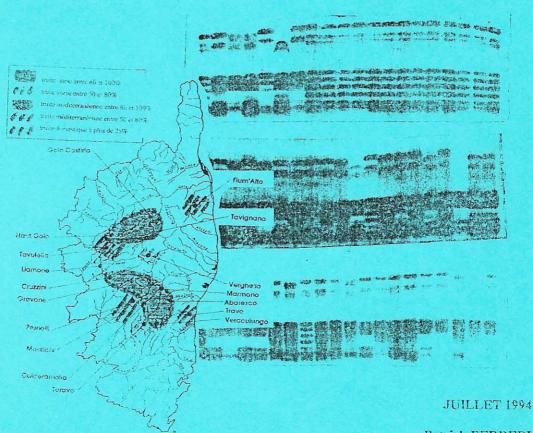
ETUDE GENETIQUE DES TRUITES DE CORSE

RAPPORT FINAL 1994

commande 1993 du Parc Naturel Régional de Corse



Patrick BERREBI Laboratoire GENOME ET POPULATIONS Université Monipellier 2 CC063 place E. Bataillon 34095 MONTPELLIER CEDEX 05

TIRÉS-A-PART 6889

P. BERREB

RAPP

ETUDE GENETIQUE DES TRUITES DE CORSE

RAPPORT FINAL 1994

commande 1993 du Parc Naturel Régional de Corse

JUILLET 1994

Patrick BERREBI Laboratoire GENOME ET POPULATIONS Université Montpellier 2 CC063 place E. Bataillon 34095 MONTPELLIER CEDEX 05

ETUDE GENETIQUE DES TRUITES DE CORSE

RAPPORT FINAL 1994

Introduction

L'année 1993 a fait l'objet de deux campagnes de pêches en Corse permettant l'échantillonnage de 6 stations en mars et de 11 stations en juin. La liste de ces stations ainsi que le nombre de truites capturées sont indiqués dans le tableau I, ci-dessous; leur localisation est données à la figure 3.

Les analyses (électrophorèses des protéines enzymatiques sur gel d'amidon horizontal) ont été effectuées par Ghislaine Cattaneo-Berrebi, les analyses statistiques et l'interprétation par Patrick Berrebi.

Ces campagnes de pêches ainsi que celle effectuée en mai 1994 (non encore analysées) sont la base de la connaissance précise des phénomènes de mélanges entre souches autochtones et truites de pisciculture. Par "truites de pisciculture", nous entendons cette souche courante, polymorphe du fait des multiples apports locaux, et constituée à l'origine de truites scandinaves et/ou allemandes. Quelque soit la pisciculture continentale d'origine des oeufs importés en Corse, ils ont sensiblement la même composition génétique, caractérisée surtout par le marqueur enzymatique *LDH-5*100* d'origine atlantique.

Le cas de la Corse est particulièrement intéressant car cette île comprend de nombreux cours d'eau indépendants susceptibles de renfermer des situations de mélanges ("introgressions") variés très utiles comme "modèles" en recherche fondamentale.

D'autre part, la souche naturelle de la Corse est logiquement de type **méditerranéen**, caractérisé par le marqueur *LDH-5*105*, alors que les souches importées du continent sont de type **atlantique**. Dans ce cas de figure précis (c'était aussi le cas traité lors de sa thèse par D. BEAUDOU, Montpellier 1993), la puissance et la précision de l'analyse sont maximales.

numéros d'électrophorèse	numéros de terrain	effecti f total	dates de pêche	stations
T686 à T712	S1 à S27	27	Mar-93	Tavignano
T713 à T730	S28 à S45	18		Verghello
T731 à T760	S46 à S75	30		Golo Castirla
T761 à T787	S76 à S102	27		Ht Golo
T788 à T822	S103 à S137	35		Tavulella
T823 à T853	S138 à S168	31		Fium'Alto
T1024 à T1054	1 à 31	31	Jun-93	Gravone
T1055 à T1085	32 à 62	31		Cruzzini
T1086 à T1115	63 à 92	30		Liamone
T1116 à T1146	93 à 123	31		Prunelli
T1147 à T1180	124 à 161	38		Calderamolla
T1181 à T1206	162 à 187	26		Monticchi
T1207 à T1236	188 à 217	30		Taravo
T1237 à T1264	218 à 245	28		Veraculungu
T1265 à T1293	246 à 274	29		Marmano
T1294 à T1325	275 à 306	32		Abatesco
T1326 à T1353	307 à 334	28		Travo

TABLEAU I: liste des échantillons constitués en mars et juin 1993.

Technique

Les poissons ont été capturés en Corse avec le concours de la Fédération Corse des AAPP (garde-chef : Joseph Mattei) et de la DIREN de Corse (correspondant : Bernard Roché). La dissection a lieu sur place sur le poisson anesthésié. Un gramme environ de muscle, de foie, ainsi que du sang et les yeux sont prélevés et immédiatement congelés à -180°C dans de l'azote liquide. Le sang est destiné à l'analyse des transferrines, en cours de mise au point.

Au laboratoire de Montpellier, les organes sont broyés et centrifugés en présence de tampon adéquat. Ces "extraits enzymatiques" sont ensuite insérés dans le gel d'amidon. La mise sous tension permet la migration des molécules en fonction de leur charge. Les variations de charge, dues à des mutations de l'ADN codant, sont détectées et constituent les allèles. Des révélations spécifique des fonctions enzymatiques permettent la détermination, poisson par poisson, de la composition allélique aux 29 locus analysés.

La principale technique statistique utilisée ici est l'Analyse Factorielle des Correspondances (Benzécri, 1973).

Résultats

1) La campagne de mars 1993

Nous présentons ici la totalité des résultats de cette campagne. Les résultats élémentaires des analyses sont donnés en annexe 1 en fin de texte. Le tableau II donne le détail des fréquences alléliques au niveau des 29 locus analysés. Les analyses ont confirmé ce que nous attendions:

- * la *LDH-5** est une enzyme diagnostique entre les formes sauvages et la forme atlantique; elle présente toujours l'allèle 100 dans les souches de pisciculture, et l'allèle 105 dans les populations corses naturelles;
- * la forte proportion de l'allèle *LDH-3*40*, pour l'instant jamais trouvé hors de Corse, dans la station Fium'Alto sera discutée dans le paragraphe 2;
- * outre ces marqueurs diagnostiques, d'autres marqueurs particuliers peuvent être signalés:
- FBP-1* est un marqueur qui s'est déjà montré utile lors de l'étude des truites des Pyrénées parce qu'il est étroitement corrélé à la LDH-5* sans qu'une explication correcte n'ait été proposée (études en cours). Qu'en est-il ici? l'analyse factorielle des correspondances en donne une interprétation (voir plus bas);
- *SOD-1*(50)* est fréquent en Corse, alors qu'il est présent sur le continent mais à des fréquences faibles;
- forte proportion de *MDH-3*75*, surtout dans la Tavulella, et à une moindre mesure dans le Fium'Alto. Cet allèle a déjà été trouvé dans les Pyrénées Orientales;
- absence totale de l'allèle *CK-3*125* qu'on rencontre assez fréquemment dans les populations sauvages méditerranéennes.

Ces quelques marqueurs, *LDH-5**, *FBP-1**, *LDH-3**, *SOD-1**, *MDH-3** et *CK-3**, nous montrent que les peuplements corses sont restés, du moins dans les six premières rivières analysées, fortement sauvages, voire totalement (Golo), tandis qu'un cas (Tavulella), est moitié sauvage, moitié domestique.

D'autre part, il semble bien qu'une différenciation génétique, indépendantes de l'action humaine, sépare certains cours d'eau.

Il est donc nécessaire d'utiliser une analyse globale capable d'estimer la structure génétique des échantillons analysés en prennent en compte la totalité des données: une analyse multidimensionnelle. La plus adaptée aux données génétiques (variables discrètes) est l'Analyse Factorielle des Correspondances.

Locus	Tavignano	Verghello	Golo Castirla	Haut Golo	Tavulella	Fium Alto
AAT1						
(N)	27	18	30	27	35	31
100	1.000	1.000	1.000	1.000	.957	1.000
130	.000	.000	.000	.000	.043	.000
AAT2						
(N)	27	18	30	27	35	31
100	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
AAT4						
(N)	26	18	30	27	<i>32</i>	29
65	.019	.056	.000	.000	.000	.000
100 ADH	.981	.944	1.000	1.000	1.000	1.000
(N)	27	18	30	27	2.2	2.0
100	1.000	1.000	1.000	<i>27</i> 1.000	<i>32</i>	30
CK1	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
(N)	27	18	30	24	27	21
100	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
CK2					1.000	1.000
(N)	27	18	30	24	27	21
100	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
CK3						
(N)	27	18	29	27	34	25
100	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
FBP1	2.2	4.5				
(<i>N</i>)	<i>23</i>	15 133	28	10	21	17
150	.000 1.000	.133	.000	.000	.143	.794
FH1	1.000	.867	1.000	1.000	.857	.206
(N)	27	18	30	27	20	2.1
100	1.000	.944	.983	<i>27</i> 1.000	<i>30</i>	31
110	.000	.000	.903	.000	.850 .000	.935
135	.000	.056	.000	.000	.150	.065 .000

Tableau de fréquences alléliques (première partie)

GDA							
(N)	27	16	29	24	31	28	
45			.000	.000	.081	.000	
100		1.000		1.000	.919		
IDH1							
(N)	27	18	30	27	35	31	
100	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000		
IDH2							
(N)	27	18	30	27	35	31	
100	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	
IDH3							
(N)	27	18	30	27	33	31	
100	1.000	1.000	.950		1.000	1.000	
200	.000	.000	.050	.000	.000	.000	
IDH4	2.7	1.0	20	2.5	2.2		
<i>(N)</i> 100	<i>27</i> 1.000	18	30	27	33	31	
LDH1	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	
(N)	27	18	29	27	21	26	
100	1.000	1.000	1.000		<i>34</i> 1.000	<i>26</i>	
LDH3	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	
(N)	27	18	29	27	34	26	
40	.185	.250	.121			.654	
100	.815	.750	.879	.944	1.000	.346	
LDH4							
(N)	27	18	29	27	34	26	
100	1.000	1.000		1.000	1.000		
LDH5							
(N)	27	18	29	27	34	26	
100	.037	.083	.034	.000	.412	.173	
105	.963	.917	.966	1.000	.588	.827	
MDH1							
(N)	27	18	30	27	33	29	
100	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	

Tableau de fréquences alléliques (seconde partie)

MDH2							
(N)	27	18		27	33	29	
NUL			.000		.000	.379	
100			1.000		.970	.500	
200	.000	.000	.000	.000	.030	.121	
MDH3							
(N)	27	18	30	27	35		
75			.000		.329		
100	1.000	1.000	1.000	1.000	.671	.952	
MDH4	2.5	4.0					
(N)	27		30		35		
100	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	
G3PD (N)	27	18	30	27	25	21	
75			.000	27	<i>35</i>	31	
100	1.000	1.000	1.000		.029 .971	.016 .984	
6PGD	1.000	1.000	1.000	1.000	.971	.904	
(N)	27	18	30	27	35	31	
100					1.000		
PGI1	. • • • •	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	
(N)	25	12	27	27	35	31	
100		1.000		1.000			
PGI2							
(N)	25	12	27	27	<i>35</i>	31	
100	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	
PGI3							
(N)	25		27	27	35	27	
100	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	
PGM							
(N)	27		30	26	23	24	
100	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	
SOD1							
(N)	27		30	27	32	31	
50	.148	.111	.000	.000	.000	.000	
100	.852	.889	1.000	1.000	1.000	1.000	

Tableau II: fréquences alléliques (fin).

italiques : nombre de truites analysées par station et par marqueur

Analyse Factorielle des Correspondances:

L'analyse a été effectuée sur la totalité des 168 truites de la campagne de mars 1993, et sur la totalité des locus polymorphes (les locus monomorphes ne donnent pas d'information) correspondant à 16 allèles. L'intégralité de l'analyse est reproduite en annexe 2 à la fin du texte. La figure 1 représente la projection du premier plan factoriel. Chaque truite est figurée par un chiffre (numéro d'électrophorèse) précédé par une lettre désignant son origine (voir légende figure). Les enveloppes de couleur entourent les individus de chaque station. Trois regroupements apparaissent : le "bleu/vert", le "rouge" et le "brun/noir". Les résultats obtenus dans l'analyse de la campagne de juin 1993 (voir cidessous) nous autorisent à proposer l'interprétation suivante:

les enveloppes vertes et bleue (haut Golo, Golo Castirla et Tavignano) sont quasiment identiques aux truites "méditerranéennes" sauvages du continent proche; il s'agit très probablement de la souche méditerranéenne naturelle classique;

les enveloppes brune et noire relient la zone "bleu/verte" du plan à l'angle supérieur droit, caractérisé par des marqueurs de pisciculture (voir figure 2). Leur extension à droite correspond donc à un apport de pisciculture. Les stations Verghello et Tavulella sont donc nettement introgressées par des truites de pisciculture, ce qui n'est pas le cas des stations "bleue" et "vertes".

l'enveloppe rouge était inattendue : elle correspond à une autre entité naturelle corse, que l'analyse de la campagne de juin 1993 (voir ci-dessous) nous autorise à caractériser de "corse ancestrale", c'est à dire endémique de l'île.

La figure 2 nous donne les variables responsables de la structuration, indiquées sous un nom codé. Ainsi, les variables (= allèles) sont:

pour la forme méditerranéenne : SOD-1*100, FBP-2*150, MDH-2*200 et surtout LDH-3*100 et LDH-5*105;

pour la forme corse : *MDH-2*100*, *FBP-1*100*, *MDH*3-100* et surtout *LDH-3*40*:

pour la souche de pisciculture : FH-1*135, MDH-3*75 et surtout LDH-5*100.

2) La campagne de juin 1993.

Sa composition est donnée dans le tableau I. Les analyses de ces échantillons se sont limitées aux enzymes de l'oeil (*LDH-1**, *LDH-3**, *LDH-4**, *LDH-5** et *CK-3**) qui donnent une image caricaturale mais très informative de la structuration génétique. L'analyse des 24 autres locus est prévue pour la prochaine année d'étude et permettra de donner une image plus élaborée de la structure génétique de ces peuplement, avec, entre autres, l'analyse par AFC. Pour l'instant, les résultats aux locus *LDH-3** et *LDH-5** permettent de distinguer entre :

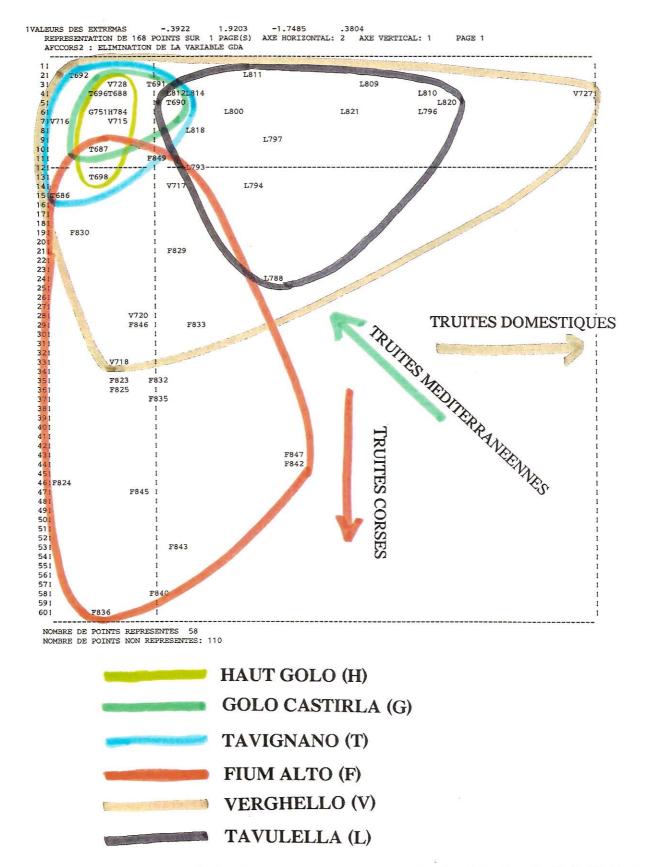


Figure 1: Analyse factorielle des correspondances: projection des 168 individus sur le premier plan (axes 1 et 2) montrant nettement les trois tendances génétiques des truites : domestiques, méditerranéennes et corses. Le listing complet de l'AFC avec inertie des axes et coordonnées des points est donné en annexe à la fin du rapport.

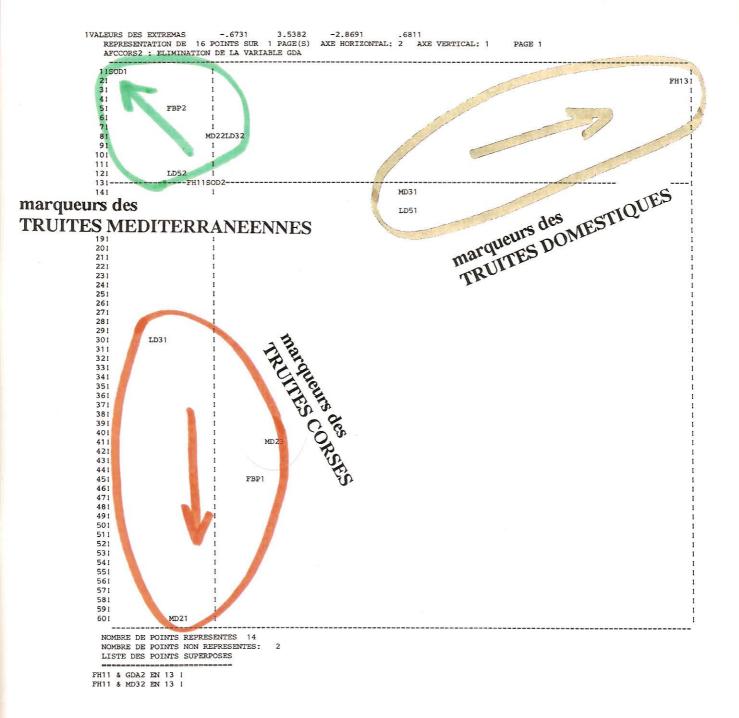


Figure 2: Analyse factorielle des correspondances: projection des variables génétiques (allèles) sur le même plan que la figure précédente. Cela permet de mettre en évidence les allèles corrélés (dans les enveloppes) et, par analogie, de les qualifier en tant que marqueurs d'une des trois entités présentes : les truites domestiques, méditerranéennes et corses.

* (1) truites de pisciculture (*LDH-5*100*) et (2) truites méditerranéennes sauvages (*LDH-5*105*)

* parmi les truites méditerranéenne, caractérisées par l'allèle *LDH-5*105*, (2a) les truites homologues de celles du continent (cours d'eau méditerranéens d'Espagne, de France, d'Italie de l'Ouest (à l'exclusion de l'Adriatique) et de Grèce) porteuses de l'allèle *LDH-3*100* que nous nommerons "méditerranéennes" et (2b) les truites ancestrales corses (endémiques) caractérisées par le marqueur *LDH-3*40*.

Ce qui nous permet de proposer l'hypothèse d'une forme ancestrale corse est d'une part la corrélation entre variable dans la figure 2 (MDH-2*100, FBP-1*100, MDH*3-100 et LDH-3*40) montrant une cohérence structurelle, et d'autre part la découverte de deux stations (Calderamolla et Veraculungo) ne comportant que des allèles LDH-3*40 (100%), suggérant des populations ancestrales pures, préservées par la topographie des cours d'eau.

Le tableau III donne la fréquence de chacun des marqueurs diagnostiques de l'oeil, en récapitulant les résultats de la campagne de mars 1993. Le tableau IV donne une estimation globale de la participation, à chacune des 17 stations échantillonnées en 1993, des trois entités présentes en Corse : les truites domestiques, méditerranéennes et corses.

STATION	Bassin	altitude	nombre	fréc	fréquences locus LDH-3	DH-3	fréquences	fréquences locus LDH-5
		(E)	de truites	LDH-3*40i	LDH-3*40	LDH-3*100	LDH-5*100	LDH-5*105
Tavignano	Tavignano	400	27	0	0.185	0.815	0.037	0,963
Verghello		800	18	0	0.25	0.75	0.083	716.0
Golo Castirla	Golo	450	29	0	0.121	0.879	0.034	936.0
Haut Golo	=	1000	27	0	0.056	0,944	0	
Tavulella	Porto	770	34	0	0		0.412	0.588
Fium'Alto	Fium'Alto	200	26	0	0.654	0.346	0.173	0.827
Gravone	Gravone	330	30	0	0.717	0.283	0.1	6,
Cruzzini	Liamone	220	30	0	0.85	0.15	0	
Liamone	=	350	30	0	0.433	0.567	0.017	0.983
Prunelli	Prunelli	620	29	0	0.31	69.0	0.259	0.741
Calderamolla	=	1200	34	0		0	0	
Montichi	=	350	24	0.289	0.194	0.517	0.375	0.625
Taravo	Taravo	370	30	0	0.304	9690	0.183	0.817
Veraculungo	=	1100	28	0	•	0	0	
Marmano	Fium'Orbo	006	24	0	0.963	0.037	0	
Abatesco	Abatesco	180	31	0	0.726	0.274	0.05	0.95
Travo	Travo	100	28	0	0.64	0.36	0.018	0.982

Tableau III: fréquences des différents marqueurs (voir texte). Les zones grisées représentent des fréquences supérieures à 90%. Ainsi, les stations sont grisées aux colonnes 3 et 5; les stations peuplées à plus de 90% de truites "sauvages corses" sont celles qui sont grisées aux colonnes 2 et 5. Ces quelques peuplées à plus de 90% par la truite "sauvage méditerranéenne" sont celles qui stations aux truites spécialement pures sont les plus hautes (900 à 1200m).

STATION	% DOMESTIQUES	% MEDITERRANEENNES	% CORSES ANCESTRALES
Tavignano	4	77	20
Verghello	8		25
Golo Castirla	3	85	12
Hant Golo	0	76	9
Tavulella	41	59	0
Finm'Alto	17	18	99
Gravone	10	18	72
Cruzzini	0	15	85
Liamone	2	55	43
Prunelli	26	43	31
Calderamolla	0	0	100
Montichi	37	15	48
Taravo	18	52	30
Veraculungo	0	0	100
Marmano	0	4	96
Abatesco	2	22	
Travo	18	18	64

du pourcentage de "mélange" des trois entités à chaque station. En gris, les stations dont le peuplement naturel ("méditerranéen" ou "corse") dépasse les 90%. Tableau IV: estimation à partir des seuls marqueurs LDH-3* et LDH-5*

Conclusion

La figure 3 est une extrapolation des interprétations et servira de conclusion sur ces résultats.

Une discussion plus pratique sur la manière d'utiliser, sur le terrain, les résultats génétiques est prématurée. Elle sera proposée lors du rapport final de fin de seconde année.

Sur cette figure, les stations présentant une majorité de marqueurs d'une des entités définies plus haut sont colorées. Il faut toutefois savoir que cette extrapolation est abusive en ce sens que toute la zone colorée en rouge, par exemple, n'est pas entièrement peuplée de truites "corses", des stations de type différents pouvant s'intercaler. Cette figure a l'avantage d'imager les résultats en montrant en particulier que:

les stations les plus hautes du massif du Renoso sont peuplées de truites "corses" dominantes et même pures (Calderamolla et Veraculungo);

les stations les plus hautes du Monte Cinto avec essentiellement le haut cours du Golo sont peuplées par des truites majoritairement "méditerranéennes";

les stations les plus introgressées par les truites domestiques se situent sur la côte occidentale de l'île (Tavulella et Montichi) mais atteignent au maximum 41%.

On peut donc conclure que les deux types de truites naturelles corses ("méditerranéennes" et "corses") existent encore avec un haut degré de pureté en plusieurs stations et qu'un programme de protection de cette biodiversité est justifié.

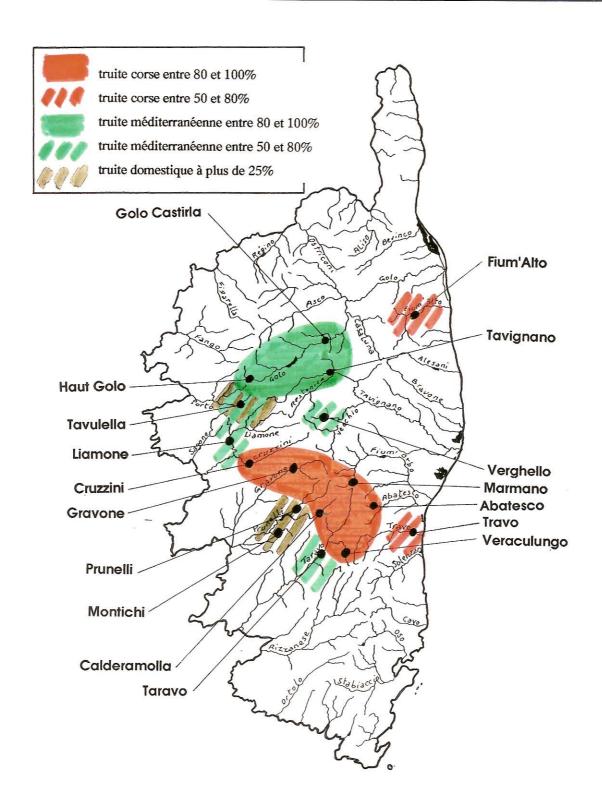


Figure 3: Récapitulation et extrapolation des résultats. En rouge, les zones de prépondérence de la truite "sauvage corse" (massif du Renoso avec surtout les stations de Calderamolla et de Veraculungo); en vert, les zones à prédominance de la truite "sauvage méditerranéenne" (Monte Cinto avec essentiellement le haut cours du Golo); en brun, les zones où l'implantation des souches de pisciculture est la plus avancée, sans toutefois dépasser 41%.

Rapport rédigé à Montpellier, le 8 juillet 1994 par Patrick BERREBI, responsable scientifique du projet, Chargé de Recherches au CNRS.

ANNEXE 1

Tableau des résultats génétiques élémentaires.

ANNEXE 2

Analyse multidimensionnelle.