

**Analyse génétique des truites de Corse sur 15 sites
Etape 2013 : Casilla, Ochju, I Pincioni, Aqua d'Acelli & Agnone**

Projet OEC2013



L'Agnone © http://jerome.rattat.free.fr/page_Vizzavona.htm

Analyses statistiques, interprétation, rédaction: **Patrick Berrebi***
Analyses moléculaires: **David Schikorski****

* 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
** Genindexe, 6 rue des Sports, 17000 La Rochelle, tel: 05 46 30 69 66, d.schikorski@genindexe.com



1. Introduction

L'OEC en collaboration avec la Fédération de Pêche de Corse continue sa prospection des stations à truites de l'île afin de distinguer les stations hébergeant des truites sauvages de celles ayant été modifiées par les repeuplements et translocations.

La nouvelle campagne 2013-2015 s'intéresse à toutes les populations de truites de Corse et plus seulement celles de haute montagne où les populations sauvages sont plus fréquentes. Aussi, le nombre de populations reconnues comme hybridées va logiquement augmenter car beaucoup d'alevinages ont eu lieu dans les basses vallées. Une des stations prises en compte en 2013 (OEC33 = Agnone) a déjà été analysée en 1996 à l'aide des allozymes et s'était avérée 100% de lignée méditerranéenne. Nous verrons ce qu'il en est 17 ans plus tard!

2. Echantillonnage

Les 5 stations analysées dans le présent rapport sont détaillées dans le Tableau 1. Les 103 échantillons de nageoires sont parvenues au laboratoire de Montpellier le 11 juillet 2013. Stéphane Muracciole est le correspondant pour ce projet OEC2013.

En plus des truites de 2013, des échantillons de référence ont été ajoutés: des localités déjà analysées et représentant des lignées connues (types corse, méditerranéen et domestique établi en rivière corse) ainsi que des échantillons de truites domestiques commerciales provenant d'une pisciculture du continent (Seine-Maritime) (Tableau 1).

N° d'ordre	N° ISEM du lot	N° ISEM des truites	nbre	date de capture	sigle du rapport	Sigle du lot	station	bassin	type génétique dominant
1	L061	T25131-T25151	21	25/06/2013	OEC2013	OEC29	Casilla	Golu	recherché
2	L138	T25152-T25171	20	25/06/2013	OEC2013	OEC30	Ochju	Golu	recherché
3	L211	T25172-T25191	20	03/07/2013	OEC2013	OEC31	I Pincioni	Abatescu	recherché
4	L230	T25192-T25211	20	17/07/2013	OEC2013	OEC32	Aqua d'Acelli	Travu	recherché
5	L237	T25212-T25233	22	06/09/2013	OEC2013	OEC33	Agnone	Tavignanu	recherché
6	L393	T19902-T19921	20	20/09/2011	OEC2011	OEC21	Manica	Golu	AD corse ancestral
7	F320	T08274-T08293	20	juil-04	LIFE01	LIFE14	Pozzi	Fium'Orbu	AD corse ancestral
8	L037	T09212-T09231	20	2006	LIFE08	LIFE41	Marmanu	Fium'Orbu	AD corse ancestral
9	F037	T00761-T00787	0	mars-93	CORS01	-	Haut-Golu	Golu	ME méditerranéen
10	L391	T19862-T19881	20	15/06/2011	OEC2011	OEC19	Lac de Ninu	Tavignanu	ME méditerranéen
11	L513	T23311-T23329	19	19/07/2012	OEC2012	OEC27	Tassineta	Golu	ME méditerranéen
12	L394	T19922-T19941	20	21/09/2011	OEC2011	OEC22	Padulelli	Taravu	AT repeuplement
13	F160	T03800-T03819	20	02/10/1996	CORS04	-	Ortolo	Ortolo	AT repeuplement
14	L510	T23250-T23269	20	11/06/2012	OEC2012	OEC24	Ultimi	Chebbia	AT repeuplement
15	L267	T16956-T16985	30	2008	GSALM2	GS-36	Piscic. 76	-	domestique AT

Tableau 1 : Caractéristiques des truites analysées dans ce rapport (lignes jaunes) et des truites de référence servant aux comparaisons dont les truites domestiques atlantiques (en gris).

3. Méthode moléculaire

Les morceaux de nageoire de truites prélevés au bord de la rivière et mis immédiatement dans l'alcool peuvent être conservés ainsi plus de 10 années. L'ADN d'un minuscule morceau (1 mm x 2 mm) est extrait dans une mixture de protéinase K (détruit les protéines et libère l'ADN) et de Chelex (chélateur des enzymes destructrices naturelles de l'ADN et de certains inhibiteurs) pendant au moins deux heures. Après centrifugation, le surnageant dilué sert d'**extrait d'ADN**.

Les extraits d'ADN sont rajoutés à un mélange réactionnel (le mix) capable d'**amplifier** le petit morceau d'ADN cible: le marqueur microsatellite (synthèse artificielle de l'ADN cible: ou PCR). Le milieu réactionnel se charge alors d'une très grande quantité de fragments d'ADN artificiel cible.

Les variants de longueur des microsatellites (les allèles) caractérisent chaque truite (deux allèles, chacun légué par un des parents de la truite). Pour les mesurer, ils sont mis à migrer sous un champ électrique dans un gel d'acrylamide (la **migration**) puis scannés. Un analyseur d'image permet de mesurer automatiquement la longueur des fragments d'ADN, ces mesures sont contrôlées par un technicien expérimenté car elles comportent de nombreux pièges.

La matrice de génotypes est constituée à partir de ces mesures. Elle constitue la base de toutes les analyses statistiques.

4. Méthode statistiques

Les données moléculaires (génotypes) obtenues, codées, permettent d'établir une matrice. Additionnée de la matrice des échantillons de référence (pour les comparaisons) d'échantillons déjà analysés (voir Tableau 1), la matrice finale permet d'effectuer les traitements statistiques suivants, constitués de deux étapes principales.

L'**analyse multidimensionnelle** (ici un Analyse Factorielle des Correspondances ou AFC effectuée grâce au logiciel GENETIX) produit un diagramme qualitatif où chaque truite est positionnée en fonction de son génotype à tous les marqueurs microsatellites. Plus deux points sont rapprochés, plus les truites qu'ils représentent se ressemblent génétiquement. Plus ils sont éloignés et plus les truites sont différentes. Cela permet de détecter des "nuages" de points correspondant à des lignées génétiques et de comprendre de quel type sont les truites analysées.

L'**analyse d'assignation** (ici une méthode bayésienne appliquée avec le logiciel STRUCTURE) permet d'assigner chaque truite à un sous-groupe. Ces sous groupes ne tiennent pas compte de l'origine des truites mais seulement de leur génotype. Pour définir le nombre de sous-groupes (K), on emploie la méthode d'Evanno et al. (2005) grâce au logiciel STRUCTURE HARVESTER. Pour cela, on teste l'assignation pour K allant de 2 à 10 en répétant 10 ou 20 fois le même test. Il faut aussi que la partition ait un sens biologique. Les truites peuvent être assignées à plusieurs sous groupes si elles sont hybridées. Cette méthode, plus quantitative, peut chiffrer avec précision la composition génétique d'un échantillon (par exemple les pourcentages de truites sauvages et domestiques dans un échantillon) ou d'une truite hybride.

5. Résultats

5.1 - Analyse multidimensionnelle

L'analyse multidimensionnelle présentée en Figure 1 doit être considérée comme un débroussaillage des données. Elle donne la meilleure représentation des ressemblances et dissemblances entre échantillons de référence et échantillon de la campagne OEC2013.

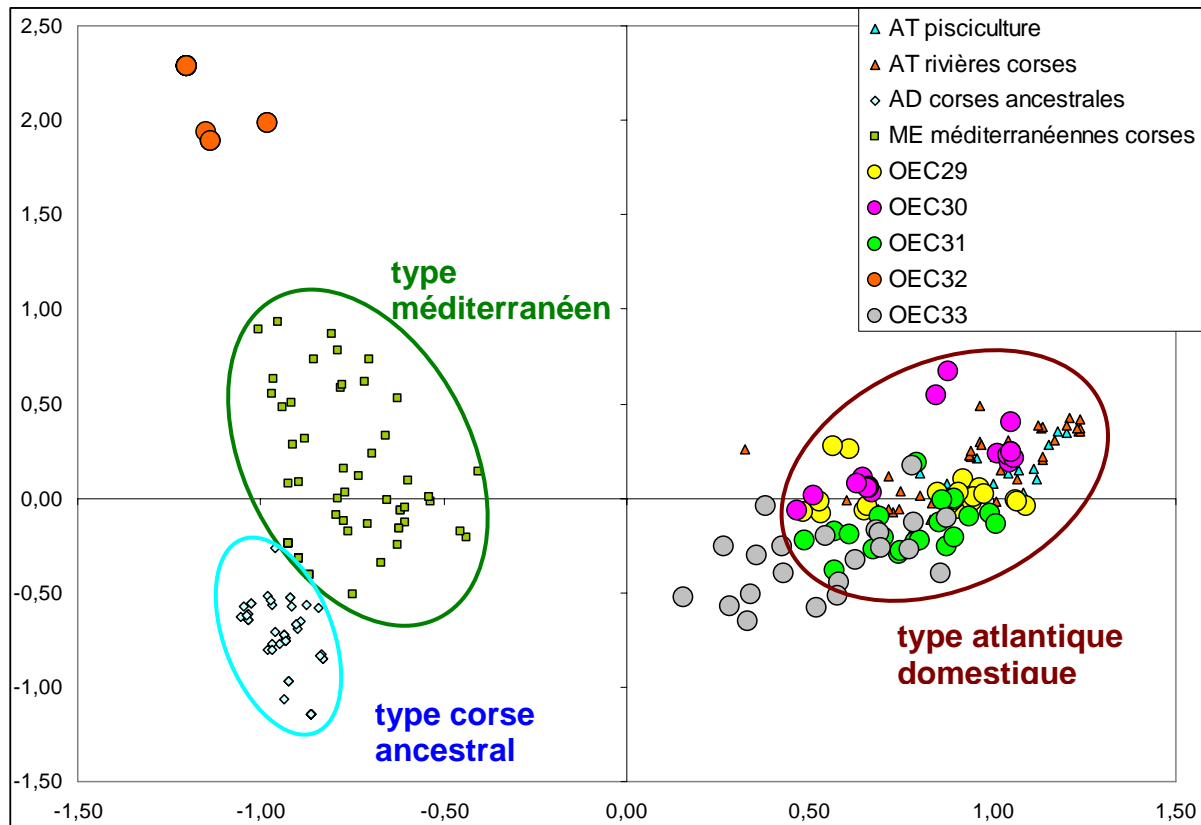


Figure 1 : Grâce aux échantillons de référence, le "fond de carte" indique que les truites d'origine atlantique (domestique) sont à droite et les truites naturelles à gauche. La lignée AD (pour adriatiques) corse se trouve à gauche en bas et la lignée ME (pour méditerranéennes) à gauche en haut.

Le résultat brut de l'AFC (Figure 1) est que 4 des 5 lots analysés sont presque entièrement atlantiques (seul OEC33 s'étire vers la lignée corse) et seul OEC32 est purement sauvage. Sa position en haut du graphique est à discuter en fonction des résultats d'assignation: il se trouve très éloigné des deux lignées sauvages, on peut en déduire qu'aucune référence le représente correctement.

Ces résultats généraux peuvent être précisés par l'analyse d'assignation qui suit.

5.2 - Analyse d'assignation

Deux difficultés sont classiques de ces analyses d'assignation: l'instabilité et le nombre objectif de subdivisions (K).

L'instabilité est réglée par la répétition des tests (ici 15 répétitions de chaque test), le meilleur test étant le majoritaire.

La meilleure partition est celle qui nous apporte des informations utiles, c'est à dire qui distingue au moins les truites domestiques, méditerranéennes et corses. Des partitions allant jusqu'à 10 ont été testées et étaient cohérentes, mais on aboutit à dire que presque tous les échantillons sont différents entre eux, ce qui est vrai mais n'apporte pas d'information utile.

La figure 2 montre la meilleure partition avec K=4 (types corse, méditerranéen et domestique P1 et P2), obtenue 3 fois sur 15 et apporte l'information demandée.

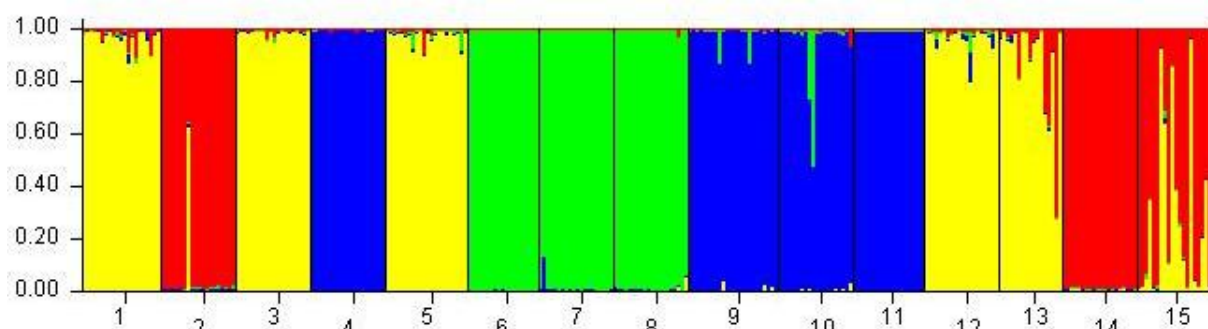


Figure 2 : Assignment sous K=4 des truites appartenant aux 15 échantillons détaillés au Tableau 1. Les associations sont très logiques: en vert la lignée corse ancestrale (dite AD); en bleu les truites méditerranéennes (ME) en jaune les domestiques de type 1 et en rouge les domestiques de type 2 (AT).

Le Tableau 2 restitue les estimations de la composition de chaque échantillon. Parmi les 5 stations 2013, seule OEC32 est purement sauvage, probablement méditerranéenne d'après la Figure 2,

N° d'ordre	N° ISEM du lot	nombre	date de capture	station	type génétique dominant	C	M	P1	P2
1	L061	21	25/06/2013	OEC29 Casilla à Salicetu	recherché	1	1	96	3
2	L138	20	25/06/2013	OEC30 Ochju à Salicetu	recherché	1	1	4	95
3	L211	20	03/07/2013	OEC31 I Pincioni	recherché	1	0	98	1
4	L230	20	17/07/2013	OEC32 Aqua d'Acelli	recherché	1	99	0	0
5	L237	22	06/09/2013	OEC33 Agnone	recherché	1	1	97	1
6	L393	20	20/09/2011	Manica	AD corse ancestral	99	0	0	0
7	F320	20	juil-04	Pozzi	AD corse ancestral	98	1	0	0
8	L037	20	2006	Marmanu	AD corse ancestral	98	1	1	1
9	F037	0	mars-93	Haut-Golu	ME méditerranéen	2	98	1	0
10	L391	20	15/06/2011	Lac de Ninu	ME méditerranéen	5	94	1	1
11	L513	19	19/07/2012	Tassineta	ME méditerranéen	1	99	0	0
12	L394	20	21/09/2011	Padulelli	AT repeuplement	1	2	96	1
13	F160	20	02/10/1996	Ortolo	AT repeuplement	0	1	87	12
14	L510	20	11/06/2012	Ultimi	AT repeuplement	0	0	1	99
15	L267	30	2008	Piscic. Seine Maritime	domestique AT	1	0	27	72

Tableau 2 : Assignment des échantillons de 2013 et des références génétiques: C= type corse ancestral; M = type méditerranéen de Corse; P1 et P2 = types domestiques atlantiques.

6. Interprétation et discussion

Cette analyse de routine nous montre une nouvelle station à truites sauvages (voir photo) apparemment de type méditerranéen pur et c'est une bonne nouvelle. La majorité des analyses dans l'U Travu montraient une dominance, voire une exclusivité domestique (station Bassi Ritondu, Valle Tremolli et Luana). Seule la station Gineparu était purement sauvage avec 62% de formes corses et 37% de formes méditerranéennes.

Il faut souligner que la différenciation corse/méditerranéen n'est pas facile avec les microsatellites. La première raison en est la proximité génétique de ces deux types (voir ellipses bleue et verte de la Figure 1). L'autre raison est l'histoire commune de ces deux lignées, la forme corse ancestrale ayant été envahie il y a 15000 ans par la forme méditerranéenne, produisant des hybrides tout autour de l'île, à l'exception des amonts de cours d'eau limités par une chute d'eau infranchissable. Il est à présent difficile d'attribuer à chaque allèle (variant) microsatellite une origine corse ou méditerranéenne.



Photo : Truite d'Aqua d'Acelli, seule station de truites purement sauvages de la campagne OEC2013

Bien que l'analyse d'assignation (Figure 2) place Aqua d'Acelli dans la lignée méditerranéenne, l'analyse multidimensionnelle (Figure 1) n'est pas si catégorique: OEC32 est en dehors de l'ellipse méditerranéenne. De ce fait, il sera utile d'effectuer une analyse mitochondriale (gracieuse) afin de confirmer cette interprétation.

Fait à Montpellier le 22 décembre 2013