

Patrick BERREBI
UMR 5554 - "Institut des Sciences de l'Evolution"
Université Montpellier II, case 065,
Place E. Bataillon
34095 MONTPELLIER CEDEX 05
France



tel: ++ 33 (0)4 67 14 37 32
fax: ++ 33 (0)4 67 14 36 22
E-mail: berrebi@univ-montp2.fr

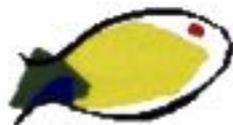


LIFE NATURE "MACROSTIGMA" RAPPORT N°8 octobre 2006 Synthèse de la seconde année d'analyses



truite de type corse-ouest de la Calderamolla (haut Prunelli) © Jean-Marc Lascaux

Analyses statistiques et interprétation: Patrick Berrebi
Analyses moléculaires : Sophie Dubois



1. Introduction

Durant les deux années de fonctionnement du projet LIFE macrostigma, 47 stations ont été analysées au moyen de 4 ou 6 locus microsattellites, aboutissant à 830 truites. Les méthodes moléculaires et statistiques employées n'ont pas varié et un résumé rapide en est donné ci-dessous :

Le présent rapport reprend les résultats antérieurs (lots 1 à 32) auxquels se rajoutent les nouveaux résultats de 2006 (lots 33 à 48) et donne une estimation du taux de mélange génétique des échantillons pris en compte (tableau 2). Ces taux de mélange (ou d'introgression génétique) sont issus du classement des allèles par les AFC en tant que marqueurs des diverses formes de truites en présence (truites corses autochtones, truites naturelles méditerranéennes, truites atlantiques domestiques de pisciculture). Le décompte des allèles marqueurs des diverses formes aboutit au pourcentage attribué à chaque forme dans chaque échantillon. Ces échantillons sont considérés comme représentatifs des habitants de la rivière prise en compte. Le nombre d'information élémentaire obtenues pour décrire une population, pour un échantillon type de 20 truites est égal à 20 truites x 4 ou 6 marqueurs x 2 allèles par génotype, soit 160 ou 240 points d'analyse par échantillon. Ceci permet une grande précision dans les analyses.

2. Méthodes et échantillonnage

2.1. Méthodes moléculaires et statistiques

Depuis le développement des analyses directes sur l'ADN, il n'est plus nécessaire de sacrifier les animaux analysés comme c'était le cas jusqu'en 2000 environ avec la méthode des allozymes. Cependant, ayant besoin de références purement corse, méditerranéennes ou atlantiques, pour calibrer les tests, des échantillons d'avant 2000, analysés avec des allozymes, sont utilisés.

Les marqueurs génétiques choisis sont les microsattellites, zones répétées et très polymorphes de l'ADN nucléaire (celui des chromosomes). Ces marqueur moléculaires peuvent être considérés comme des analogues chimiques de la couleur des cheveux ou des yeux chez les humains. Leurs diverses formes, appelées allèles, proviennent de l'addition, lors de la fécondation, d'un allèle du père et d'un allèle de la mère, donnant un génotype à deux allèles. Ce sont ces allèles, sur les locus microsattellites, qui sont analysés, comptés, comparés.

D'un point de vue statistique, la méthode principalement utilisée est l'Analyse Factorielle des Correspondances (AFC). Cette analyse multidimensionnelle est très pratique pour placer chaque truite (sous forme de point) dans un hyperspace en fonction de toutes ses caractéristiques génétiques (ses allèles) simultanément. Cet hyperspace est ramené à un plan à deux dimensions pour être utilisable dans un rapport, mais plusieurs plans peuvent être choisis.

2.2. Les stations échantillonnées

| LOT | N° LIFE | N° labo | rivière | bassin | N action |
|--------|-------------|------------|--------------------------|-------------------|----------|
| Lot 1 | L01-L19 | T8014-8032 | Uccialinu | Taravo | 20 A3 |
| Lot 2 | L21-L40 | T8034-8053 | St Antone | Taravo | 19 A3 |
| Lot 3 | L41-L60 | T8054-8073 | Ese | Prunelli | 20 A3 |
| Lot 4 | L61-L80 | T8074-8093 | Ariola | Fiumorbo | 20 A2 |
| Lot 5 | L81-L100 | T8094-8113 | Rina | Fiumorbo | 20 A2 |
| Lot 6 | L101-L120 | T8114-8133 | Veraculongu | Taravo | 20 A3 |
| Lot 7 | L121-L140 | T8134-8153 | Manica | Asco/Golo | 20 A2 |
| Lot 9 | L161-L180 | T8174-8193 | Manganellu-Teghie Nere | Vecchio/Tavignanu | 20 A2 |
| Lot 10 | L181-L200 | T8194-8213 | Paratella | Prunelli | 20 A2 |
| Lot 11 | L201-L220 | T8214-8233 | Marmano, aval cascade | Fiumorbo | 19 A3 |
| Lot 12 | L221-L240 | T8234-8253 | Bravone | Bravone | 20 A2 |
| Lot 13 | L241-L260 | T8254-8273 | Frasseto | Taravo | 15 A2 |
| Lot 14 | L261-L280 | T8274-8293 | Pozzi di Marmanu | Fiumorbo | 20 A3 |
| Lot 15 | L281-L300 | T8294-8313 | Fango amont | Fango | 20 A2 |
| Lot 16 | L301-L320 | T8314-8333 | Rocce | Fango | 20 A2 |
| Lot 17 | L321-L340 | T8334-8353 | Bocca Bianca | Fango | 16 A2 |
| Lot 18 | L341-L360 | T7995-8013 | Luana | Travo | 19 A3 |
| Lot 19 | L361-L380 | T8355-8367 | Carnevalle | Prunelli | 13 A2 |
| Lot 20 | L381-L400 | T8368-8379 | Puzzatelli | Vecchio/Tavignanu | 12 A2 |
| Lot 21 | L401-L420 | T8380-8398 | Lagnato | Liamone | 19 A2 |
| Lot 22 | L421-L440 | T8399-8417 | Ht Botaro | Liamone | 19 A2 |
| Lot 23 | L441-L460 | T8418-8429 | Scileccia | Prunelli | 12 A2 |
| Lot 24 | L461-L480 | T8430-8449 | Casaluna | Golo | 20 A2 |
| Lot 25 | L481-L500 | T8450-8469 | Haut Marmanu | Fiumorbo | 20 A2 |
| Lot 26 | L501-L520 | T8470-8489 | Latinetta (plateau Fium) | Fiumorbo | 19 A2 |
| Lot 27 | L521-L540 | T8490-8509 | Piscia in Alba | Taravo | 20 A2 |
| Lot 28 | L161B-L163B | T8559-8563 | Teghie Nere | Vecchio/Tavignanu | 6 A2 bis |
| Lot 29 | L541-L560 | T8510-8519 | Guadu Alla Machia 1 | Fiumorbo | 10 A2 |
| Lot 30 | L561-L580 | T8520-8529 | Guadu Alla Machia 2 | Fiumorbo | 10 A2 |
| Lot 31 | L581-L600 | T8530-8545 | E Ventose | Asco/Golo | 16 A2 |
| Lot 32 | L601-L620 | T8546-8557 | I Fossi Palneca | Taravo | 12 A2 |
| Lot 33 | L621-L640 | T7642-7661 | Asinao | Rizzanese | 19 D4 |
| Lot 34 | L641-L660 | T7423-7461 | Veraculongu aval | Taravo | 20 A3 |
| Lot 35 | L661-L680 | T7703-7721 | Chiuvone | Rizzanese | 19 A2 |
| Lot 36 | L681-L700 | T7722-7740 | Ciuttare | Liamone | 19 A2 |
| Lot 37 | L701-L720 | T7741-7758 | Haut Lonca | Porto | 18 A2 |
| Lot 38 | - | T5921-5928 | Coreccia/Haut Cruzzini | Liamone | 8 A2 |
| Lot 39 | L721-L740 | T9172-9191 | Ese aval buses | Prunelli | 20 A3 |
| Lot 40 | L741-L760 | T9192-9211 | Ese Zipitoli | Prunelli | 20 A3 |
| Lot 41 | L761-L780 | T9212-9231 | Marmano amont pont | Fiumorbo | 20 A3 |
| Lot 42 | L781-L800 | T9232-9248 | Susinelle-Ruello | Fiumorbo | 16 A2 |
| Lot 43 | L801-L820 | T9249-9270 | Carabona | Taravo | 22 A2 |
| Lot 44 | L821-L840 | T9271-9290 | Aff. RG St Antone | Taravo | 20 A2 |
| Lot 45 | L841-L860 | T9291-9310 | Aff.RD StAntone | Taravo | 20 A2 |
| Lot 46 | L861-L880 | T9311-9330 | Bassetta | Taravo | 20 A2 |
| Lot 47 | L881-L900 | T9331-9342 | St Antoine aval cascade | Taravo | 12 A3 |
| Lot 48 | L901-L920 | T9343-9361 | Zoïcu | Liamone | 19 A2 |

Tableau 1: Liste des stations analysées entre 2004 et 2006. A2=4 locus; A3 & D4=6 locus

3. Les résultats

Les résultats exposés ici ne concernent pas seulement les analyses de l'année 2006 mais la totalité des résultats génétiques obtenus dans le projet LIFE, soit 47 stations et 830 truites.

Il n'existe aucune référence disant que tel ou tel allèle microsatellitaire est corse, atlantique, méditerranéen ou de pisciculture. Il s'agit là de recherche proprement dite, dépendant entièrement des échantillons de référence employés.

La méthode d'estimation passe par trois étapes:

- par AFC, on définit les grandes entités jouant un rôle dans la structure génétique des échantillons analysés et on les définit en fonction de références que possède le laboratoire. Ce travail d'expertise est le plus délicat et le plus risqué, dépendant de l'expérience et des capacités d'un laboratoire ou d'un chercheur.
- une fois les AFC caractérisées et polarisées, une étape non détaillée ici consiste à attribuer à chaque allèle (= unité d'information) un statut. Ainsi certains allèles ont été considérés comme marqueurs des truites de pisciculture, d'autres des truites corses, d'autres des truites méditerranéennes.... et d'autres, partagés entre plusieurs formes, ont été considérés comme mauvais marqueurs et non utilisés
- suit un simple décompte des allèles de chaque type dans chaque échantillon, ramené à des pourcentages.

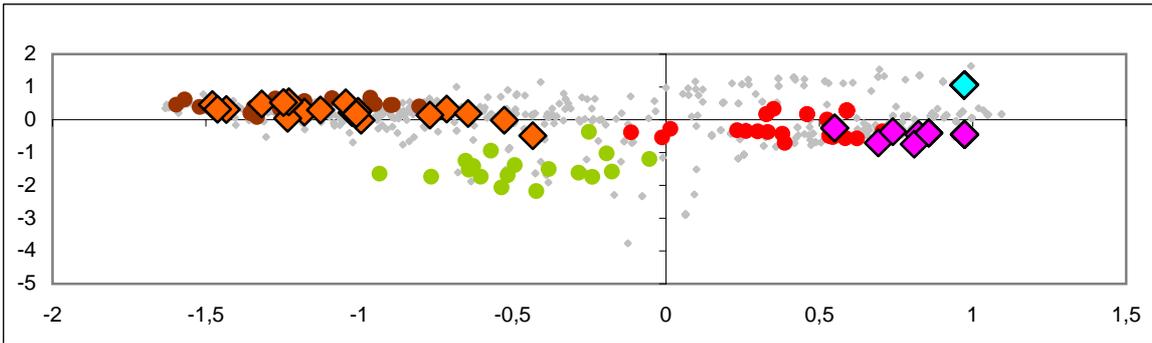
Une autre difficulté a été la prise en compte des génotypes à 4 locus et des génotypes à 6 locus. Les estimations faites sur ces deux bases peuvent varier de quelque pourcents. L'estimation à 6 locus a été systématiquement préférée. Il s'agit des analyses faites pour les actions A3 et D4.

Tous ces éléments expliquent qu'à chaque rapport, les pourcentages fournis varient, tournant autour d'une valeur qui doit être la vérité mais qu'il est difficile d'atteindre. Les gestionnaires demandant des études génétiques aimeraient avoir un résultat chiffré définitif correspondant à la réalité. Mais l'ajout continu de nouveaux échantillons se répercutera sur les estimations des premiers échantillons.

Le tableau 2 récapitule ces résultats. Sauf exception, l'ordre de grandeur des estimations ne change pas. Plus intéressant: les échantillons qui ont été estimés comme de type purement corse (= macrostigma) le sont restés tout au long des ré-analyses successives, montrant la sécurité de cette estimation, qui reste l'information "utile" essentielle de cette étude.

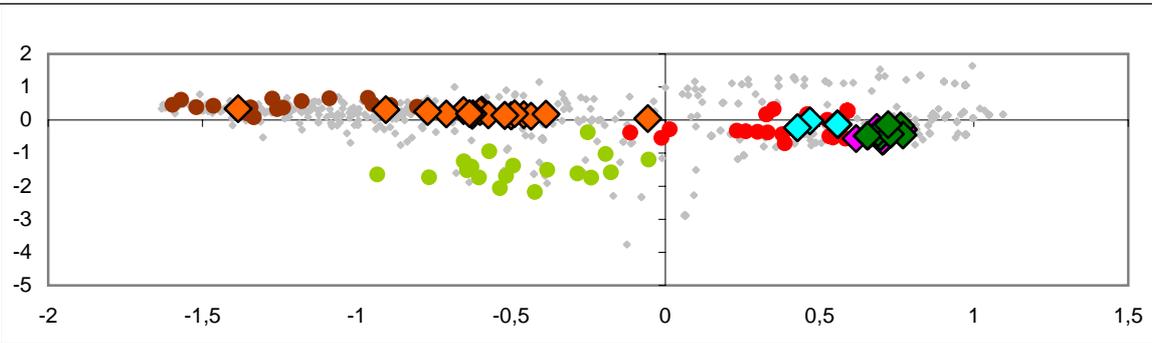
Les deux pages qui suivent présentent les analyses multidimensionnelles des 47 lots analysés. Ces AFC sont la base de l'estimation ultérieure des taux de mélange. Graphiquement, ces analyses sont présentées de manière à favoriser l'information principale, l'opposition entre truites corses (points rouges à droite) et truites domestiques atlantiques (points bruns à gauche): pour cela, l'axe 1 est allongé. La forme méditerranéenne, rarement observée dans nos échantillons, se place le long de l'axe 2 vertical, vers le bas (points verts). Les 47 échantillons sont successivement placés, 5 par 5 pour des raisons de lisibilité, sur un "fond de carte" en forme de triangle aplati avec des échantillons de référence corse, atlantique et méditerranéen aux trois angles.

Une information importante qu'apportent les deux pages suivantes (figure 1) concerne les lots 13 (90% de formes corses), 17 (89%) et 47 (93%). On voit clairement que les truites



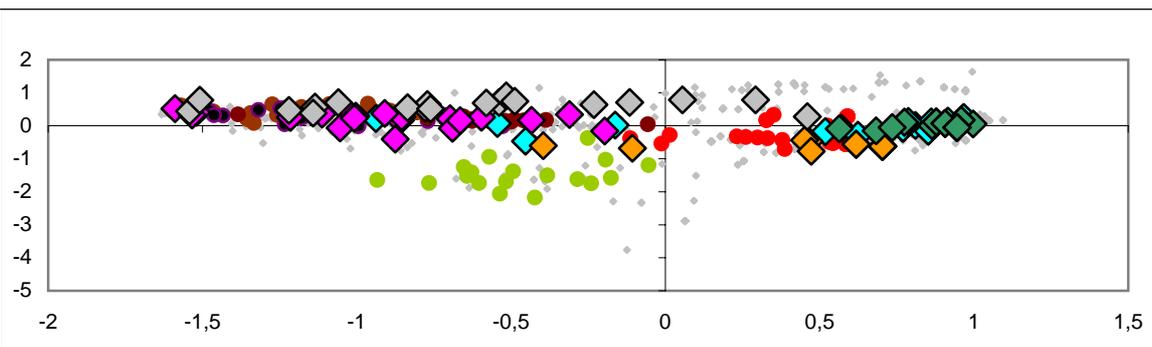
corse
pisciculture
méditerranéen

lots 1 et 2
lot 3
lot 4



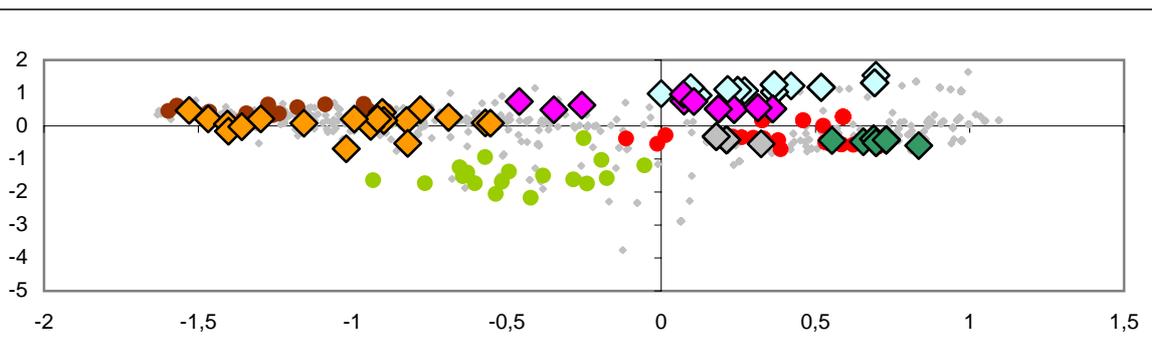
corse
pisciculture
méditerranéen

lot 6
lot 7
lot 9
lot 10



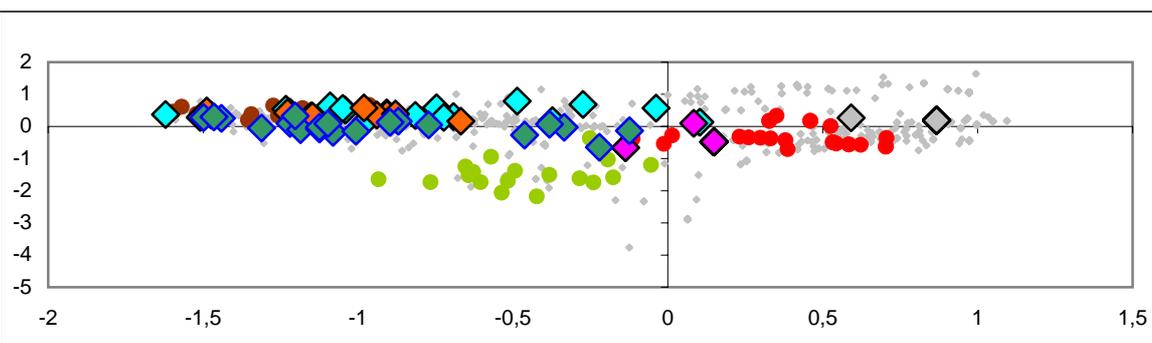
corse
pisciculture
méditerranéen

lot 11
lot 12
lot 13
lot 14
lot 15



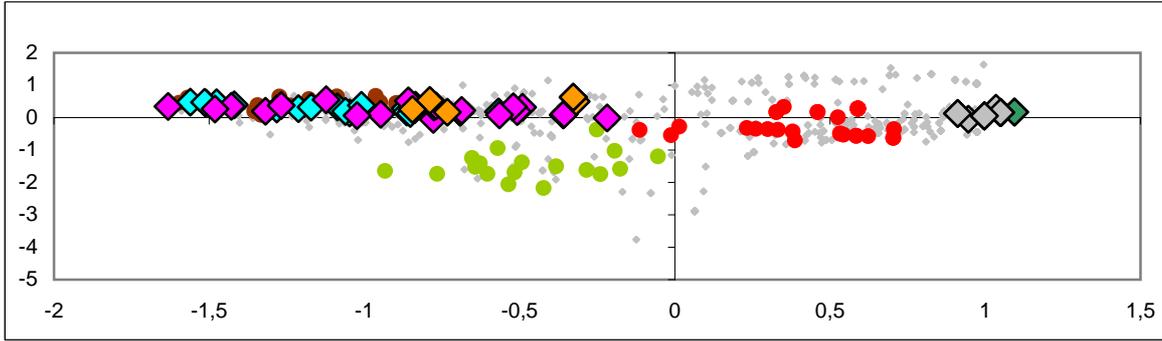
corse
pisciculture
méditerranéen

lot 16
lot 17
lot 18
lot 19
lot 20



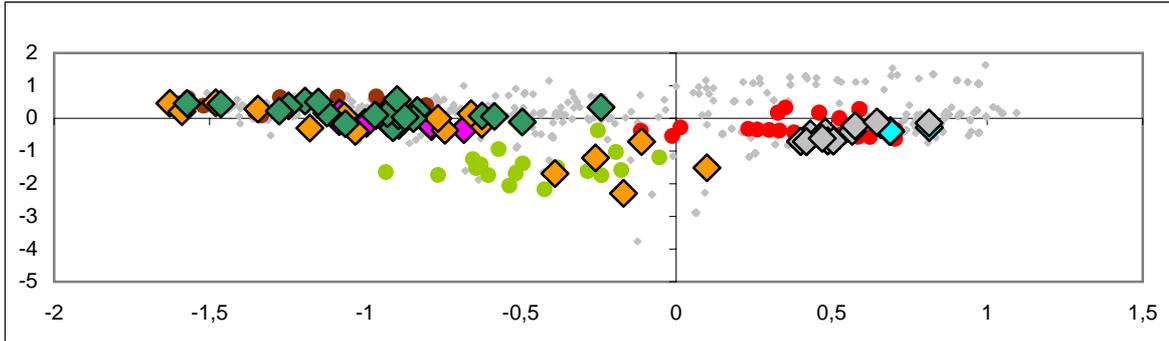
corse
pisciculture
méditerranéen

lot 21
lot 22
lot 23
lot 24
lot 25



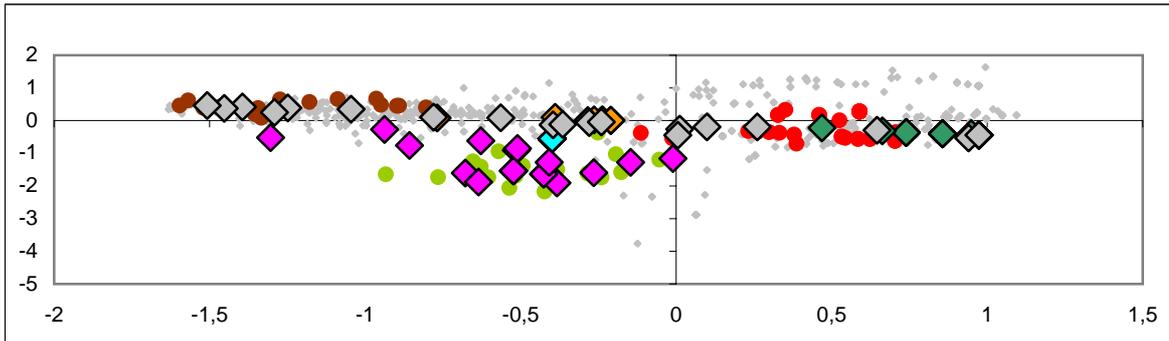
corse
pisciculture
 méditerranéen

lot 26
 lot 27
 lot 28
 lot 29
 lot 30



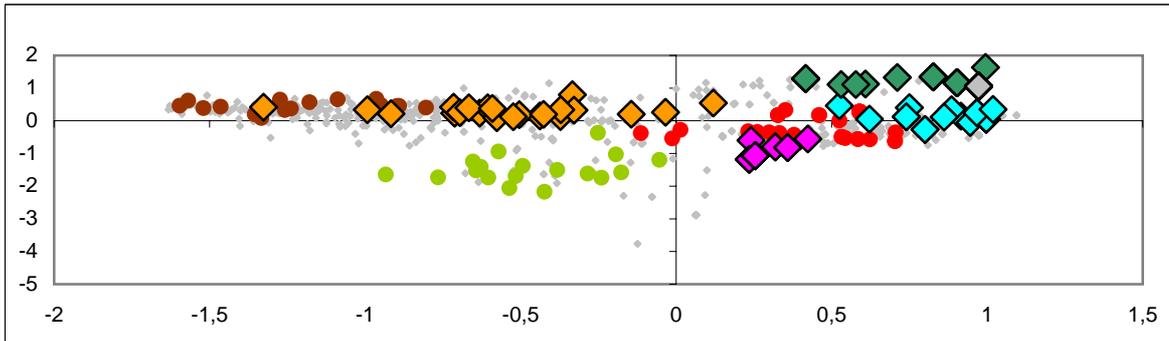
corse
pisciculture
 méditerranéen

lot 31
 lot 32
 lot 33
 lot 34
 lot 35



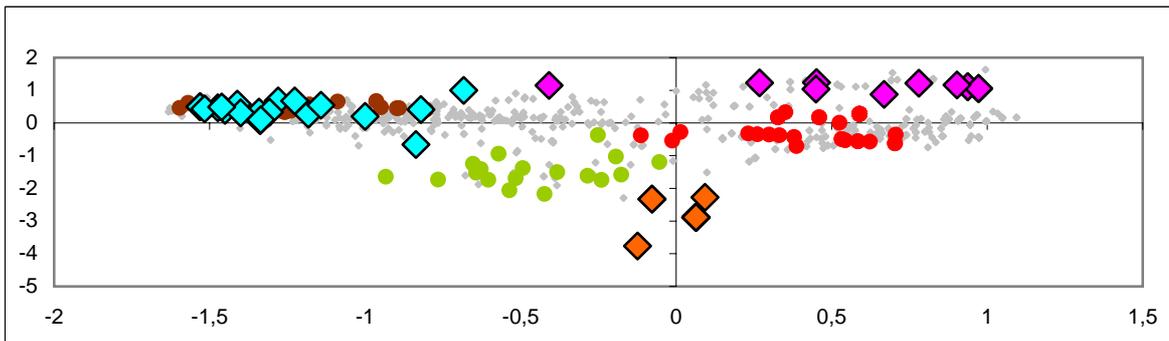
corse
pisciculture
 méditerranéen

lot 36
 lot 37
 lot 38
 lot 39
 lot 40



corse
pisciculture
 méditerranéen

lot 41
 lot 42
 lot 43
 lot 44
 lot 45



corse
pisciculture
 méditerranéen

lot 46
 lot 47
 lot 48

| lot | N | Station | Bassin | %C | %M | %P |
|-----|----|--------------------------|-------------------|-----|----|----|
| 1 | 19 | Uccialinu | Taravo | 100 | 0 | 0 |
| 2 | 20 | St Antone | Taravo | 100 | 0 | 0 |
| 3 | 20 | Ese | Prunelli | 100 | 0 | 0 |
| 4 | 20 | Ariola | Fiumorbo | 7 | 2 | 91 |
| 5 | 20 | Rina | Fiumorbo | 100 | 0 | 0 |
| 6 | 20 | Veraculongu | Taravo | 100 | 0 | 0 |
| 7 | 20 | Manica | Asco/Golo | 100 | 0 | 0 |
| 9 | 20 | Manganellu-Teghie Nere | Vecchio/Tavignanu | 15 | 0 | 85 |
| 10 | 20 | Paratella | Prunelli | 100 | 0 | 0 |
| 11 | 19 | Marmano, aval cascade | Fiumorbo | 80 | 1 | 19 |
| 12 | 20 | Bravone | Bravone | 16 | 3 | 81 |
| 13 | 15 | Frasseto | Taravo | 90 | 5 | 5 |
| 14 | 20 | Pozzi di Marmanu | Fiumorbo | 100 | 0 | 0 |
| 15 | 20 | Fango amont | Fango | 25 | 0 | 75 |
| 16 | 20 | Rocce | Fango | 90 | 0 | 10 |
| 17 | 16 | Bocca Bianca | Fango | 89 | 0 | 11 |
| 18 | 19 | Luana | Travo | 18 | 0 | 82 |
| 19 | 13 | Carnevalle | Prunelli | 100 | 0 | 0 |
| 20 | 12 | Puzzatelli | Vecchio/Tavignanu | 100 | 0 | 0 |
| 21 | 19 | Lagnato | Liamone | 26 | 0 | 74 |
| 22 | 19 | Ht Botaro | Liamone | 81 | 17 | 2 |
| 23 | 12 | Scileccia | Prunelli | 5 | 0 | 95 |
| 24 | 20 | Casaluna | Golo | 13 | 11 | 76 |
| 25 | 20 | Haut Marmanu | Fiumorbo | 100 | 0 | 0 |
| 26 | 19 | Latinetta (plateau Fium) | Fiumorbo | 8 | 0 | 92 |
| 27 | 20 | Piscia in Alba | Taravo | 17 | 7 | 76 |
| 28 | 6 | Teghie Nere | Vecchio/Tavignanu | 26 | 0 | 74 |
| 29 | 10 | Guadu Alla Machia 1 | Fiumorbo | 100 | 0 | 0 |
| 30 | 10 | Guadu Alla Machia 2 | Fiumorbo | 100 | 0 | 0 |
| 31 | 16 | E Ventose | Asco/Golo | 100 | 0 | 0 |
| 32 | 12 | I Fossi Palneca | Taravo | 15 | 11 | 74 |
| 33 | 19 | Asinao | Rizzanese | 15 | 0 | 85 |
| 34 | 20 | Veraculongu aval | Taravo | 22 | 0 | 77 |
| 35 | 19 | Chiuvone | Rizzanese | 100 | 0 | 0 |
| 36 | 19 | Ciuttare | Liamone | 33 | 33 | 34 |
| 37 | 18 | Haut Lonca | Porto | 13 | 70 | 17 |
| 38 | 8 | Coreccia/Haut Cruzzini | Liamone | 82 | 0 | 18 |
| 39 | 20 | Ese aval buses | Prunelli | 100 | 0 | 0 |
| 40 | 20 | Ese Zipitoli | Prunelli | 39 | 0 | 61 |
| 41 | 20 | Marmano amont pont | Fiumorbo | 100 | 0 | 0 |
| 42 | 16 | Susinelle-Ruello | Fiumorbo | 89 | 11 | 0 |
| 43 | 22 | Carabona | Taravo | 15 | 0 | 85 |
| 44 | 20 | Aff. RG St Antone | Taravo | 100 | 0 | 0 |
| 45 | 20 | Aff.RD StAntone | Taravo | 100 | 0 | 0 |
| 46 | 20 | Bassetta | Taravo | 4 | 2 | 94 |
| 47 | 12 | St Antoine aval cascade | Taravo | 93 | 0 | 7 |
| 48 | 19 | Zoïcu | Liamone | 12 | 88 | 0 |

Tableau 2: Estimation finale de la composition génétique des 47 échantillons analysés.

composant ces échantillons sont majoritairement placées parmi les références corses (points rouges), mais que quelques individus (respectivement 2, 3 et 1) qui se placent nettement du coté atlantique, sont des truites nées en pisciculture et déversées dans ces rivières il y a moins de 2 ans.

Le tableau 2 récapitule les estimations de composition génétique des 47 stations analysées. Un résultat important de cette fin d'année 2006 est que nous disposons de 19 localités peuplées uniquement par la truite corse et de 3 autres localités qui ne présentent que quelques individus de pisciculture mais sans hybridation, c'est à dire que ces populations sont probablement capables de revenir à un état naturel. Ce capital de 22 localités est la base de la protection de la forme corse.

Mais la protection de la biodiversité est exigeante. Il faut non seulement protéger ces 22 stations, mais aussi prendre garde à ne pas perdre les différences qui les séparent, dues à l'isolement probablement très long qui a provoqué des variations neutres (dérive) et permis

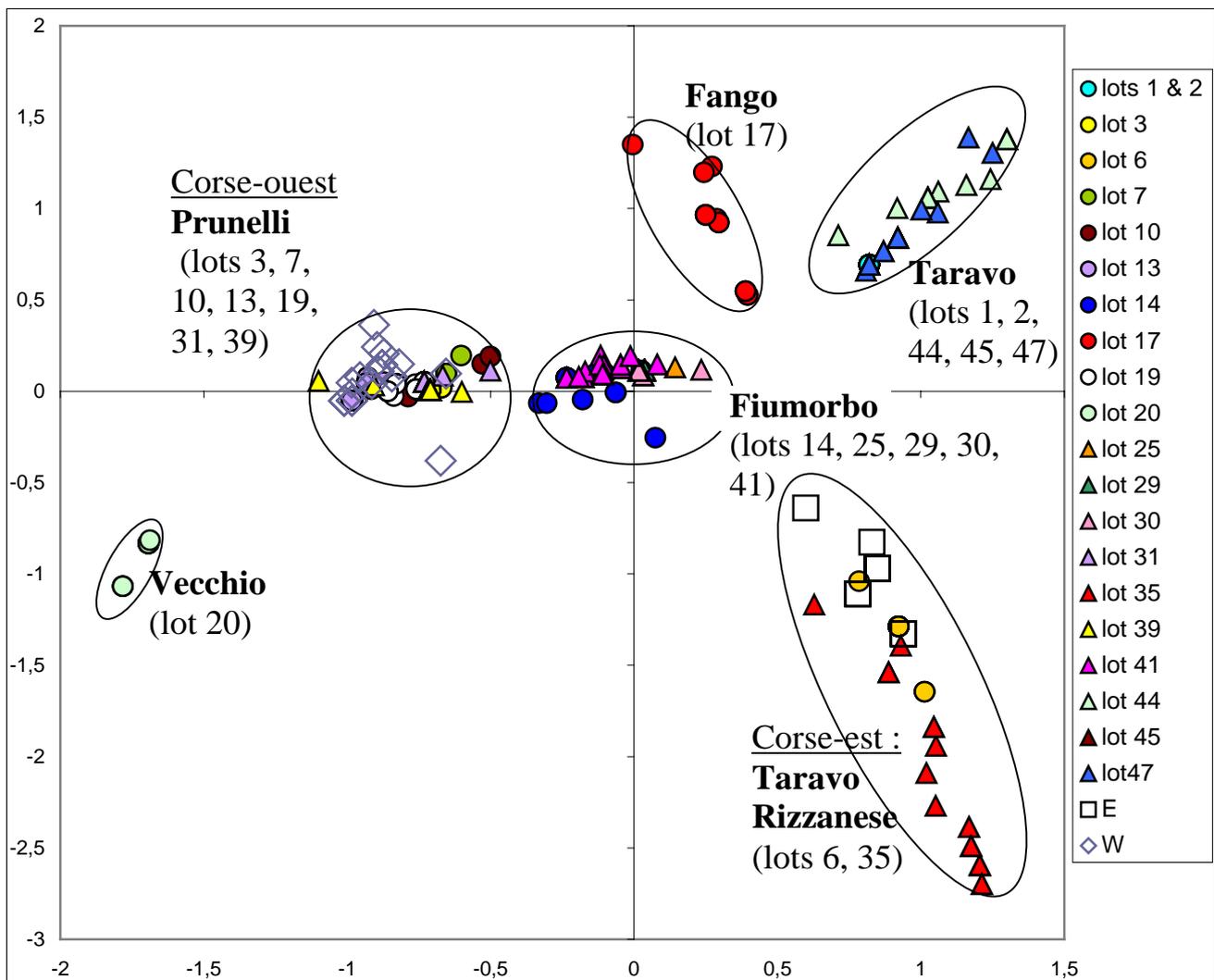


Figure 3: Les stations peuplées de truites purement corses (les "intrus" atlantiques des stations 13, 17 et 47 ont été préalablement retirés) se subdivisent en 6 sous-unités décrites dans le schéma ci dessus. Leur composition est donnée dans le tableau 3.

des adaptations locales. C'est pour cela qu'il est important de classer ces stations remarquables en quelques types génétiques à l'intérieur duquel on pourra faire des translocations ou des repeuplements inoffensifs pour la biodiversité.

Pour cela, une analyse ne comprenant que ces stations purement corses a été effectuée (Figure 3, sur 4 locus). Cette analyse a permis de dresser le tableau 3, ci dessous, déterminant les 6 types observés.

Les types "est" et "ouest" tels que définis lors des études allozymiques se retrouvent ici, mais la précision des données microsatellites montre qu'ils ne constituent qu'une partie de la biodiversité de la truite corse (respectivement types Taravo et Prunelli)

| LOT | N° LIFE | rivière | bassin | N | action |
|-------------------------------------|-----------|-------------------------|-------------------|----|--------|
| Type Prunelli (= type ouest) | | | | | |
| Lot 3 | L41-L60 | Ese | Prunelli | 20 | A3 |
| Lot 7 | L121-L140 | Manica | Asco/Golo | 20 | A2 |
| Lot 10 | L181-L200 | Paratella | Prunelli | 20 | A2 |
| Lot 13 | L241-L260 | Frasseto | Taravo | 15 | A2 |
| Lot 19 | L361-L380 | Carnevalle | Prunelli | 13 | A2 |
| Lot 31 | L581-L600 | E Ventose | Asco/Golo | 16 | A2 |
| Lot 39 | L721-L740 | Ese aval buses | Prunelli | 20 | A3 |
| Type Fango | | | | | |
| Lot 17 | L321-L340 | Bocca Bianca | Fango | 16 | A2 |
| Type Taravo (=type est) | | | | | |
| Lot 1 | L01-L19 | Uccialinu | Taravo | 20 | A3 |
| Lot 2 | L21-L40 | St Antone | Taravo | 19 | A3 |
| Lot 44 | L821-L840 | Aff. RG St Antone | Taravo | 20 | A2 |
| Lot 45 | L841-L860 | Aff.RD StAntone | Taravo | 20 | A2 |
| Lot 47 | L881-L900 | St Antoine aval cascade | Taravo | 12 | A3 |
| Type Taravo-Rizzanese | | | | | |
| Lot 6 | L101-L120 | Veraculongu | Taravo | 20 | A3 |
| Lot 35 | L661-L680 | Chiuvene | Rizzanese | 19 | A2 |
| Type Fiumorbo | | | | | |
| Lot 14 | L261-L280 | Pozzi di Marmanu | Fiumorbo | 20 | A3 |
| Lot 25 | L481-L500 | Haut Marmanu | Fiumorbo | 20 | A2 |
| Lot 29 | L541-L560 | Guadu Alla Machia 1 | Fiumorbo | 10 | A2 |
| Lot 30 | L561-L580 | Guadu Alla Machia 2 | Fiumorbo | 10 | A2 |
| Lot 41 | L761-L780 | Marmano amont pont | Fiumorbo | 20 | A3 |
| Type Vecchio | | | | | |
| Lot 20 | L381-L400 | Puzzatelli | Vecchio/Tavignanu | 12 | A2 |

Tableau 3: Les 6 types génétiques structurant la truite corse correspondent généralement à des bassins hydrographiques. Les types corse-ouest et corse-est issus des analyses allozymiques des années 90 trouvent leur équivalent respectivement dans les types Prunelli et Taravo. Les stations colorées en gris ont été repeuplées à partir d'autres populations corses, ce qui explique l'incohérence géographique. Cependant le type "Taravo-Rizzanese" est difficile à expliquer (en bleu).

Le type Prunelli comprend des échantillons de l'Asco (Golo) et du Taravo. Ceci s'explique par des translocations plus ou moins connues.

Fango, Fiumorbo et Vecchio sont peuplés de truites corses d'un type différent.

Les type Taravo-Rizzanese est ambigu. Les analyses de 2007 vont certainement permettre de clarifier la situation. Notons cependant que les têtes de bassin des cours d'eau en question sont extrêmement proches (quelques dizaines de mètres dans certains cas) et ne sont pas encaissés dans des gorges profondes (zone assez plane), ce qui a permis soit des échanges naturels à l'occasion de capture d'affluents, soit facilité le transport par l'homme d'un bassin à l'autre.

3. Conclusion

Ce rapport, court mais dense, récapitule les résultats obtenus en près de deux années de collaboration.

Des éléments essentiels pour la gestion ont été précisés: près de 22 localités peuplées de truites corses (= macrostigma) pures ont été décrites, permettant une délimitation détaillée des zones à protéger. Parmi elles, 3 font doublon dans le même cours d'eau, permettant d'estimer l'étendue des zones purement corses.

Six types génétiques de truites corses ont été localisés. Ces types génétiques étaient attendus compte tenu de la formation de ces populations: vivant en amont de cascades infranchissables, ces populations sont protégées de l'invasion de l'aval et particulièrement des truites méditerranéennes naturelles et des truites atlantiques domestiques. Mais cet isolement a aussi empêché les truites de même origine, les truites corses, de s'échanger des gènes. Une divergence obligatoire a eu lieu aboutissant à ces six types (il y en a probablement quelques autres en Corse).

Ceci constitue le second élément guidant la gestion de conservation de la truite corse: pour maintenir la biodiversité, il faut éviter tout transfert (translocation, repeuplement) d'un type génétique à l'autre, ce qui équivaut quasiment à éviter tout transfert d'un bassin à l'autre. Si les truites corses isolées en amont des bassins du Prunelli, du Fango, du Taravo, du Fiumorbo, du Vecchio et probablement du Rizzanese présentent des caractéristiques différentes à protéger, il est fort à parier que le phénomène existe aussi dans les autres bassins non explorés.

Fait à Montpellier le 25 octobre 2006

Analyses statistiques et rédaction : Patrick Berrebi

Analyses bio-moléculaires: Sophie Dubois