Approche génétique de la population de *Callinectes sapidus* en Corse

Françoise DENIS
MNHN – UMR BOREA

Marie GARRIDO – Dimitri VEYSSIERE
OEC

14 Mars 2022

Stratégies interrégionales de lutte contre le Crabe bleu

Approche génétique de la population de *Callinectes sapidus* en Corse

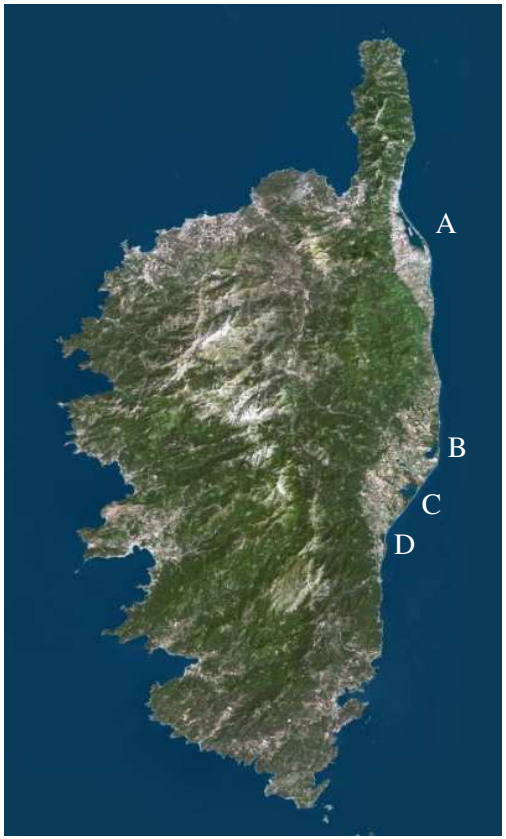
Mise au point d'un outil moléculaire de détection précoce

Evaluation de la diversité et de la phylogéographie des populations corses

➢Mise au point d'outils moléculaires de détection précoce

- ✓ Techniques de prélèvement de l'ADNe
- ✓ Techniques d'extraction
- ✓ Validation et Amplification d'un marqueur d'identification spécifique

zone d'étude 2021



Biguglia

Diana

Urbinu

Palo

➢Mise au point d'outils moléculaires de détection précoce

✓ **Techniques de prélèvement de l'ADNe**

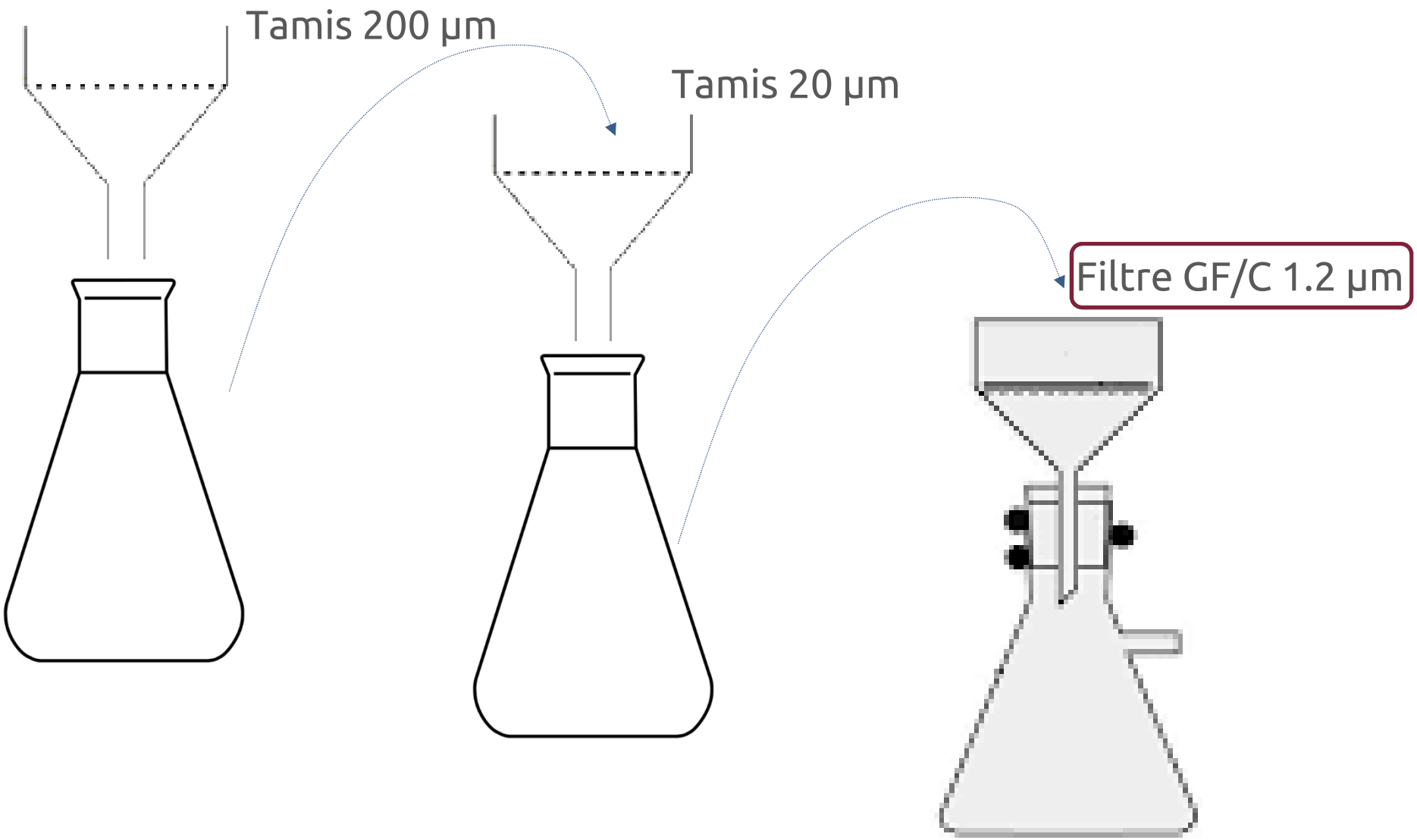
20L d'eau/point

↳ Filtration sur la berge

Laboratoire de terrain

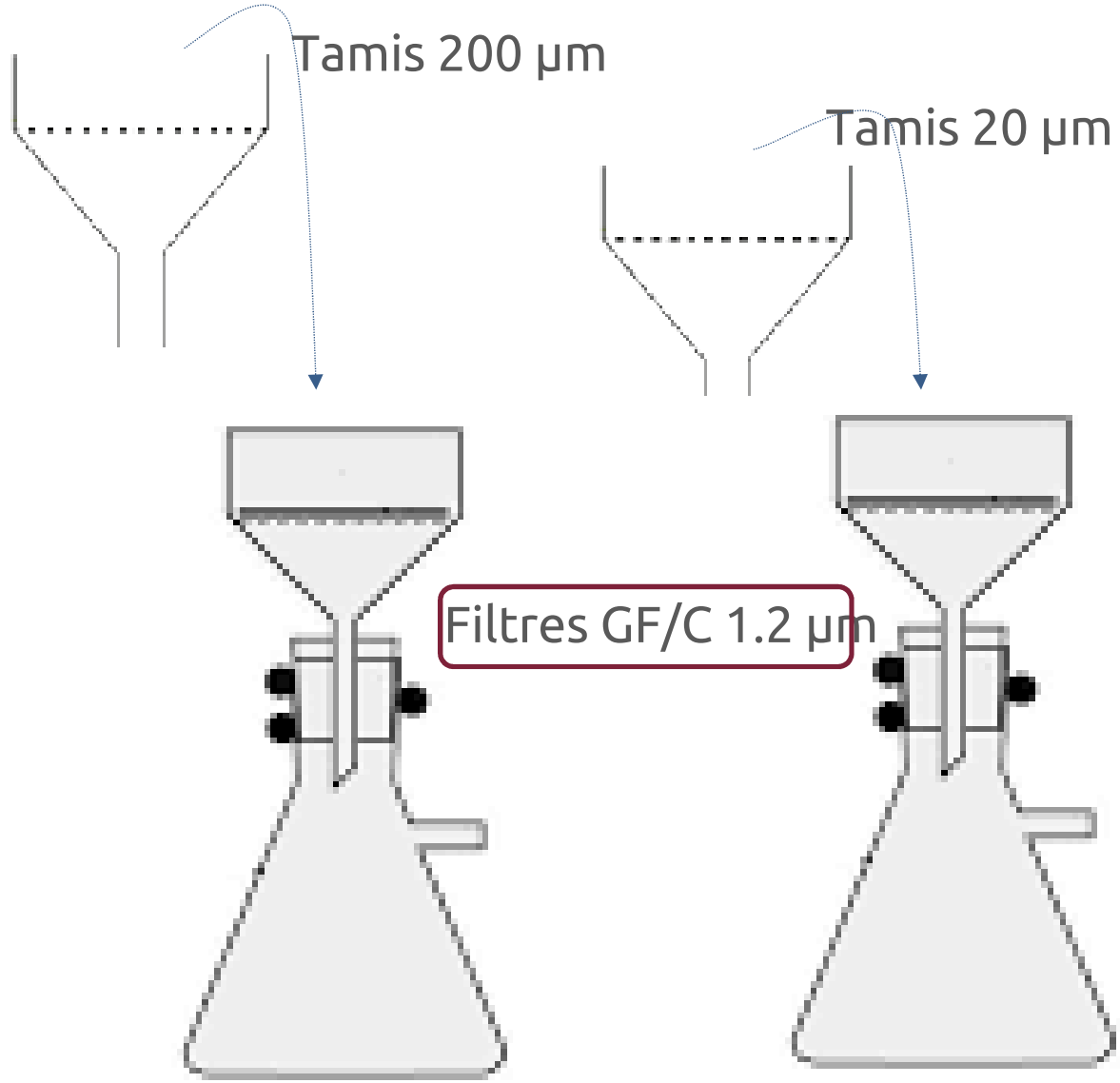
➢Mise au point d'outils moléculaires de détection précoce

✓ **Techniques de prélèvement de l'ADNe**

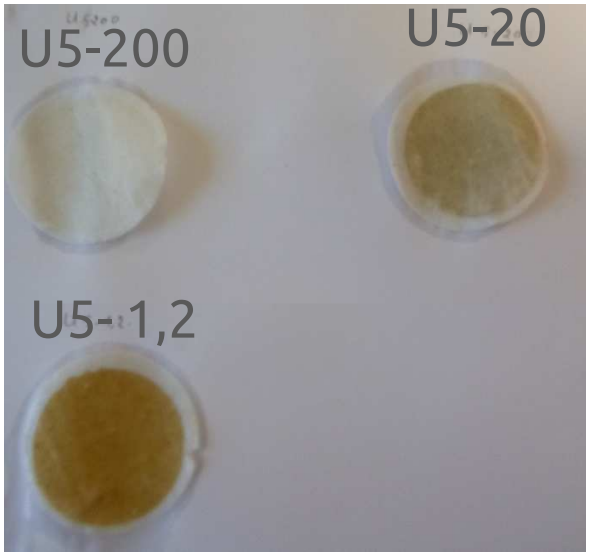


➢Mise au point d'outils moléculaires de détection précoce

✓ **Techniques de prélèvement de l'ADNe**



3 Filtres GF/C par point



➢Mise au point d'outils moléculaires de détection précoce

✓ Techniques de prélèvement de l'ADNe

Biguglia

Urbinu

Palo

⟹ 42 analyses de filtrat

➢Mise au point d'outils moléculaires de détection précoce

✓ **Techniques d'extraction**

➢ Kit NucleoSpin Soil Macherey-Nagel

Lyse

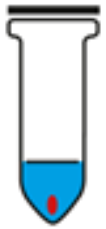
Élimination des contaminants majeurs

Élimination des contaminants mineurs

➢ Qualité ADN : OK

➢ CTAB

Lyse



Purification

Précipitation

➢ Qualité ADN : faible

➢Mise au point d'outils moléculaires de détection précoce

✓ **Validation et Amplification d'un marqueur d'identification spécifique**

➢ Métabarcoding

Mélange d'ADN

Amplification de COI

Identification d'une seule espèce

➢Mise au point d'outils moléculaires de détection précoce

✓ **Validation et Amplification d'un marqueur d'identification spécifique**

➢ Métabarcoding

Mélange d'ADN

Amplification de COI

Identification d'une seule espèce

Métabarcoding ⟸ Barcoding

➢Mise au point d'outils moléculaires de détection précoce

✓ **Validation et Amplification d'un marqueur d'identification spécifique**

➢ Métabarcoding

Mélange d'ADN

Amplification de COI

Identification d'une seule espèce

Métabarcoding ⟸ Barcoding

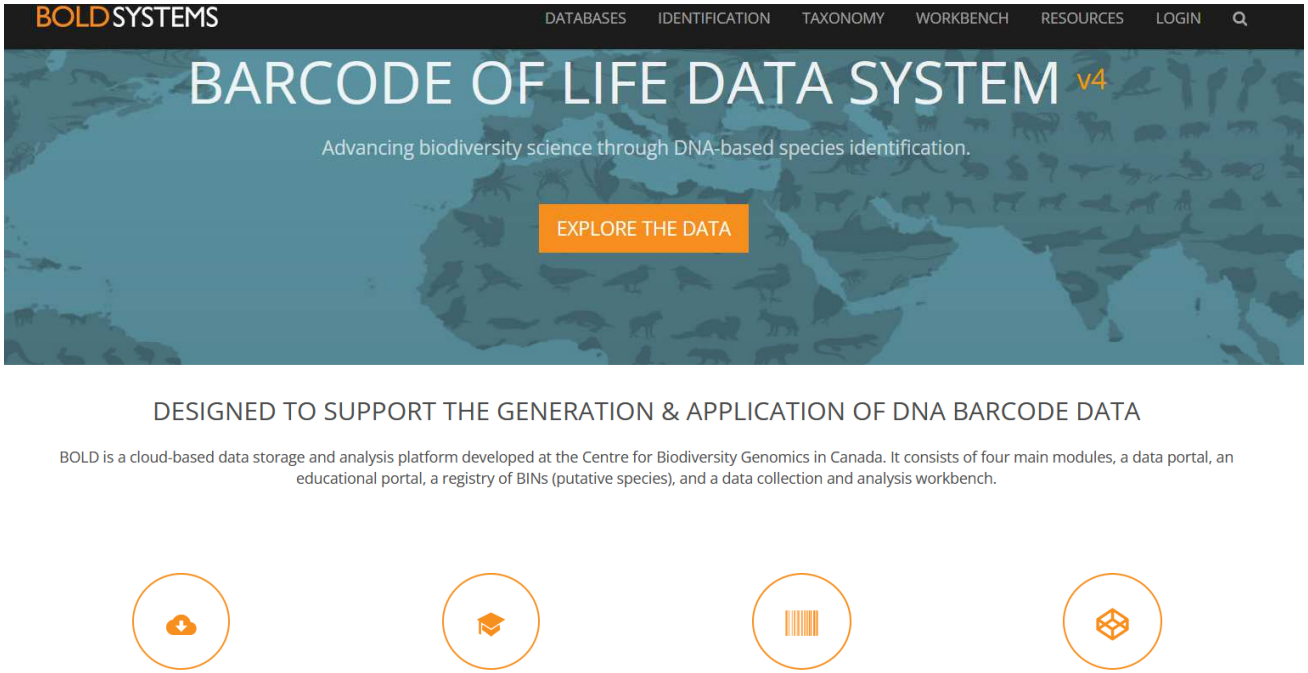
COI

➢Mise au point d'outils moléculaires de détection précoce

✓ Validation et Amplification d'un marqueur d'identification spécifique

➢ Métabarcoding

↳ Barcoding



➢Mise au point d'outils moléculaires de détection précoce

✓ **Validation et Amplification d'un marqueur d'identification spécifique**

- Test de la qualité de l'ADN

  ↳ Marqueur universel : 18S ⟹ Vérification qualité

- Test d'amorces COI
  - Folmer et al. (1994) :

    LCO1490: 5'-ggtcaacaaatcataaagatattgg-3'
    HCO2198: 5'-taaacttcagggtgaccaaaaaatca-3

    ↳ 685 bp

  - Lobo et al. (2013) :

    LoboF1: 5'-kbtchacaaaycayaargayathgg-3'
    LoboR1: 5'-tgrttyttyggwcayccwgargttta-3

    ↳ 658 bp

  - Amorces test (non publiées) :

    ↳ 350 bp

➢Mise au point d'outils moléculaires de détection précoce

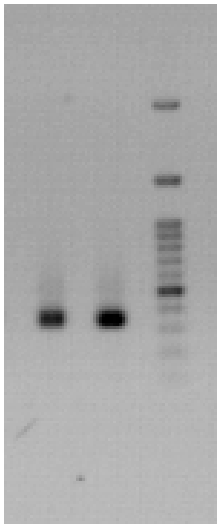
✓ **Validation et Amplification d'un marqueur d'identification spécifique**

➢ Métabarcoding

Mélange d'ADN

Amplification de COI

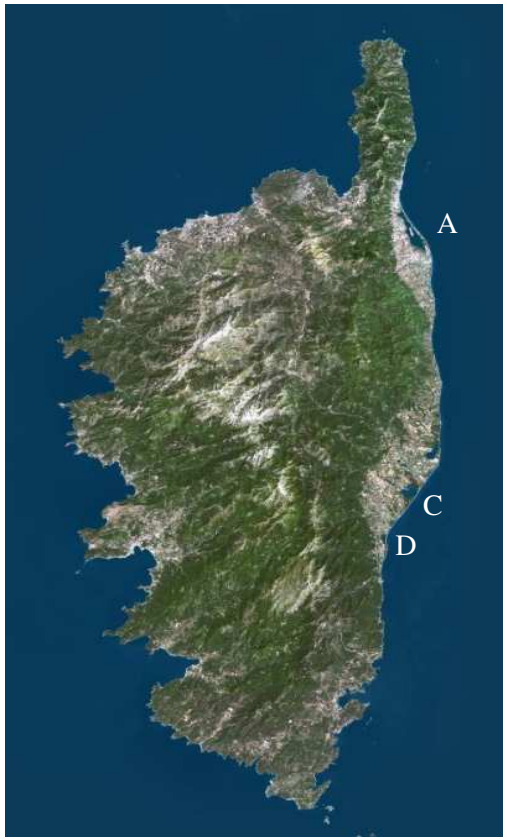
Identification d'une seule espèce



En cours d'analyse

➢ Evaluation de la diversité et de la phylogéographie des populations

➢ Prélèvement par le réseau des pêcheurs sentinelles



	Nb d'ind.
Biguglia	15
Urbinu	15
Palo	17

+ 5 contenus stomacaux

➢ Evaluation de la diversité et de la phylogéographie des populations

- ➢ Extraction CTAB

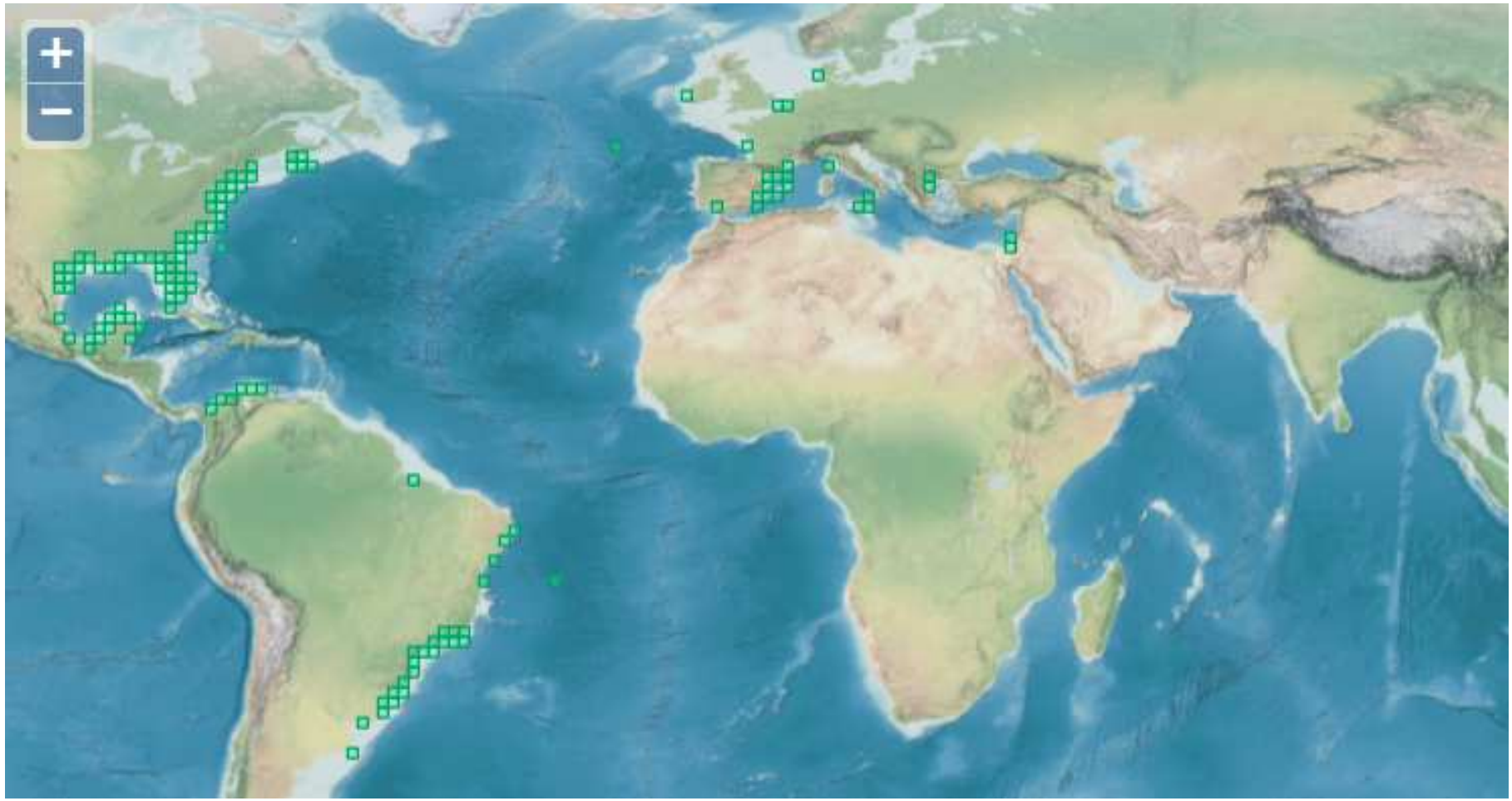
- ➢ BLAST

select all *100 sequences selected* GenBank Graphics Distance tree of results MSA Viewer

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Callinectes sapidus voucher CCDB<BRA>:1680 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial	Callinectes sapidus	1184	1184	100%	0.0	99.69%	651	JX123452.1
Callinectes sapidus isolate CH19 mitochondrion, complete genome	Callinectes sapidus	1177	1177	98%	0.0	99.84%	16212	MH801207.1
Callinectes sapidus isolate CH34 mitochondrion, complete genome	Callinectes sapidus	1171	1171	98%	0.0	99.69%	16213	MH801210.1
Callinectes sapidus isolate CH22 mitochondrion, complete genome	Callinectes sapidus	1171	1171	98%	0.0	99.69%	16270	MH801208.1
Callinectes sapidus from Ocean Springs, MS cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene, complete cds; mitochon...	Callinectes sapidus	1171	1171	98%	0.0	99.69%	1534	AY682077.1
Callinectes sapidus voucher USNM:IZ:1286742 cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds; mitochondrial	Callinectes sapidus	1168	1168	97%	0.0	100.00%	658	KR030241.1
Callinectes sapidus voucher 14_UNE_SL_001 cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds; mitochondrial	Callinectes sapidus	1162	1162	97%	0.0	99.84%	658	KT073233.1
Callinectes sapidus isolate 09C.7.19 cytochrome c oxidase subunit I (COX1) gene, partial cds; mitochondrial	Callinectes sapidus	1162	1162	97%	0.0	99.84%	658	OK189501.1
Callinectes sapidus isolate 09D.7.19 cytochrome c oxidase subunit I (COX1) gene, partial cds; mitochondrial	Callinectes sapidus	1162	1162	97%	0.0	99.84%	658	OK189500.1
Callinectes sapidus isolate 5.20.CR5 cytochrome c oxidase subunit I (COX1) gene, partial cds; mitochondrial	Callinectes sapidus	1162	1162	97%	0.0	99.84%	658	OK189487.1
Callinectes sapidus isolate BSTrb01 cytochrome oxidase subunit 1 gene, partial cds; mitochondrial	Callinectes sapidus	1160	1160	98%	0.0	99.38%	648	MN759043.1
Callinectes sapidus isolate BSOrd02 cytochrome oxidase subunit 1 gene, partial cds; mitochondrial	Callinectes sapidus	1160	1160	98%	0.0	99.38%	648	MN759042.1
Callinectes sapidus isolate BSOrd01 cytochrome oxidase subunit 1 gene, partial cds; mitochondrial	Callinectes sapidus	1160	1160	98%	0.0	99.38%	648	MN759041.1
Callinectes sapidus from Maryland cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene, complete cds; mitochondrial	Callinectes sapidus	1160	1160	98%	0.0	99.38%	1534	AY682073.1

➢ Evaluation de la diversité et de la phylogéographie des populations

➢ Distribution géographique

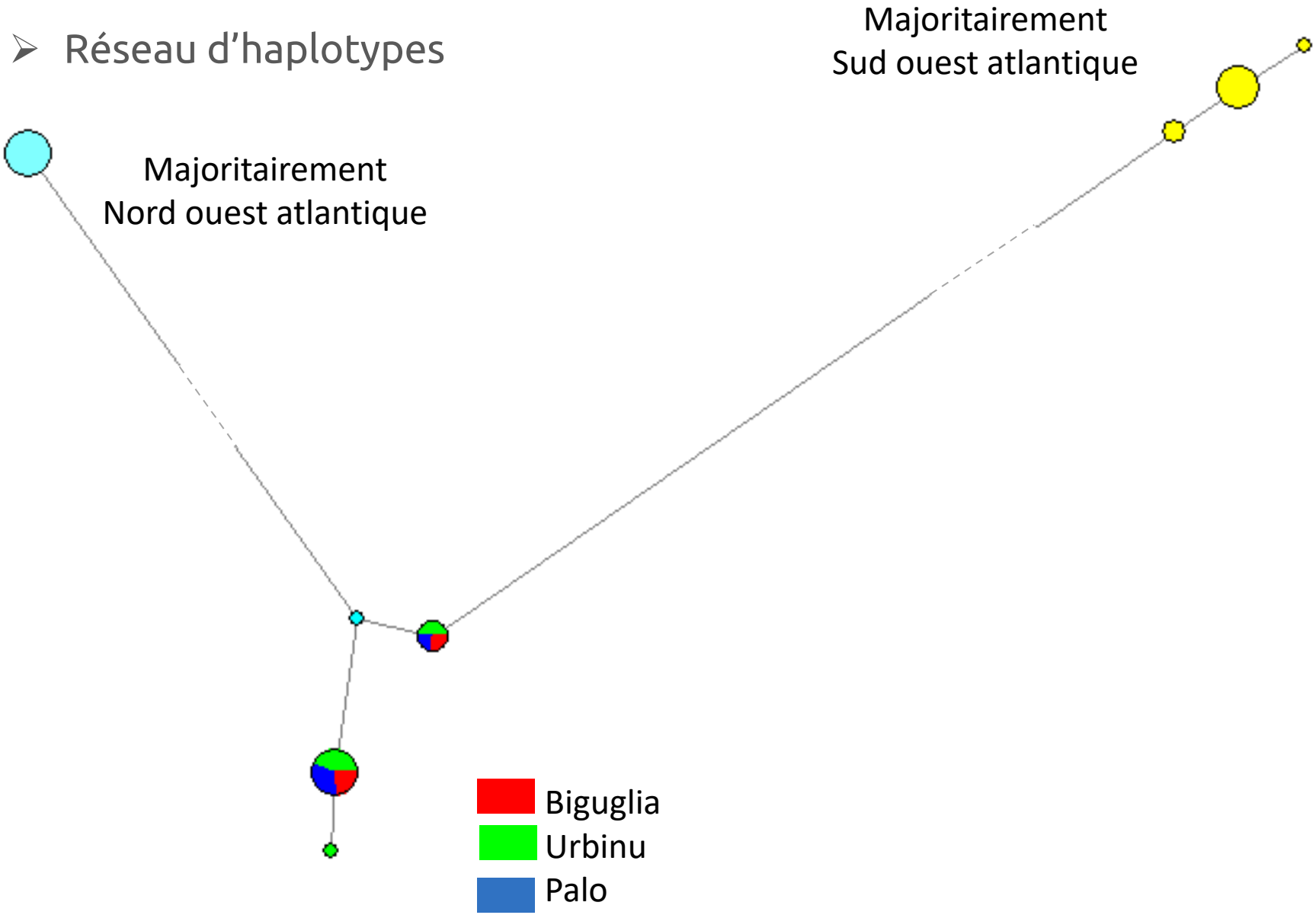


➢ Evaluation de la diversité et de la phylogéographie des populations

➢ Evaluation de la diversité et de la phylogéographie des populations

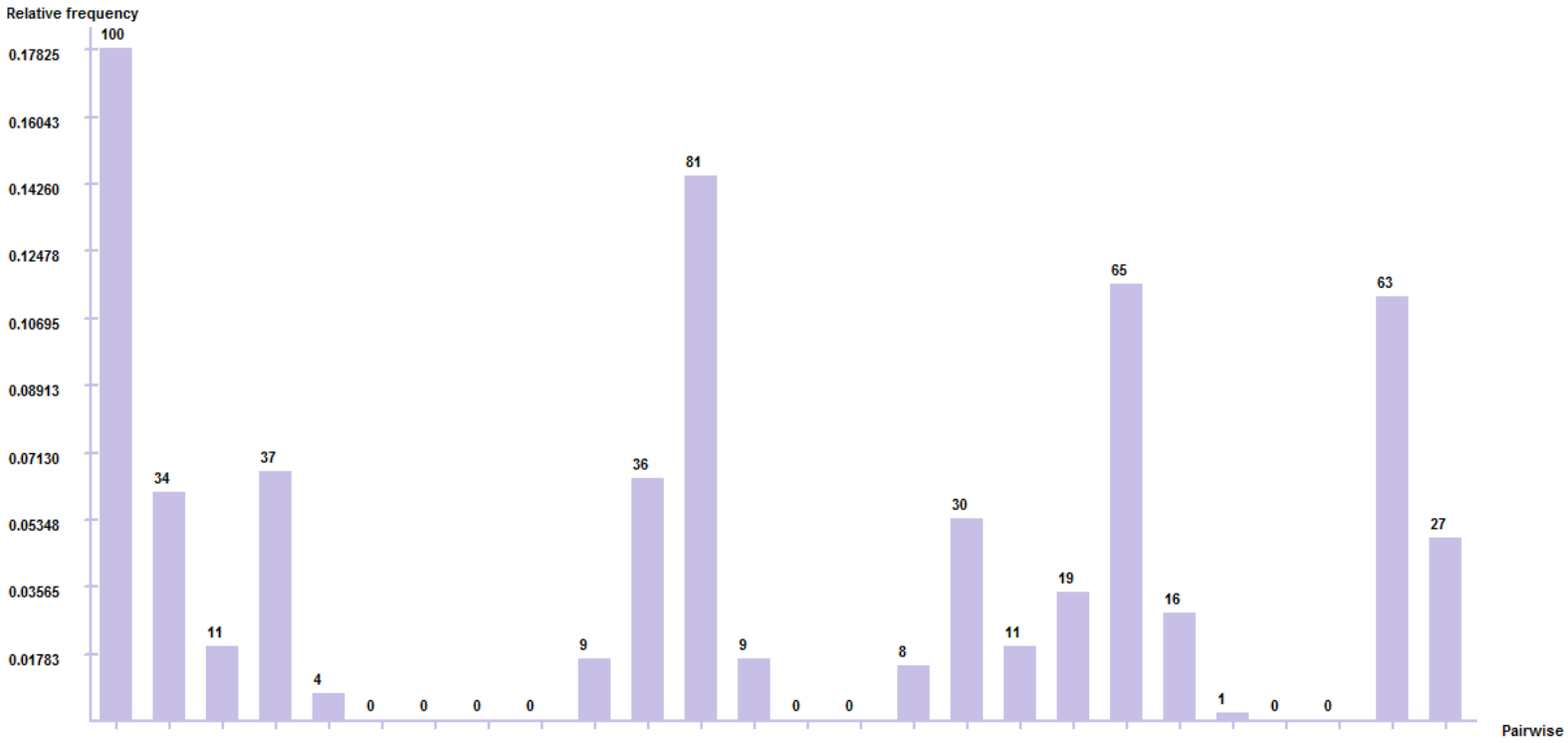
➢ Evaluation de la diversité et de la phylogéographie des populations

➢ Réseau d'haplotypes



➢ Evaluation de la diversité et de la phylogéographie des populations

➢ Distribution des mésappariements



↳ Plusieurs groupes taxonomiques

➢ perspectives

- Finaliser l'analyse bioinformatique
- Renouveler les prélèvements dans les lagunes analysées
  et augmenter le nombre de zones
- Adéquation du COI en phylogéographie ?
  - Analyse de ITS1
  - Intérêt des microsatellites
    - En cours de test