

**Etude génétique des truites du
Grand Riou de la Blanche (Alpes de Hautes Provence)
autour de l'aménagement hydroélectrique du Martinet**

Rapport SAG3



Pont de Baud

© Sébastien Thébault via Wikimedia Commons

Analyses statistiques et rédaction: **Patrick BERREBI**
Institut des Sciences de l'Evolution, Université Montpellier 2
Tél: 04 67 14 37 32, Mél: patrick.berrebi@univ-montp2.fr

Analyses moléculaires: **David SCHIKORSKI**
Laboratoire Genindexe, 6, Rue des Sports, 17000 La Rochelle
Tél: 05 46 30 69 66, Mél: d.schikorski@genindexe.com

1. Introduction

Objectifs généraux

La gestion raisonnée des truites de nos rivières nécessite de pouvoir distinguer d'une part les truites sauvages des domestiques issues d'alevinages, et d'autre part les différentes lignées génétiques naturelles d'une région. Cette description de la structure génétique des truites est un outil nécessaire à l'application de gestions adaptées à chaque cas.

L'objectif de cette étude génétique est de confirmer la présence de la souche autochtone méditerranéenne dans un affluent de l'Ubaye, le Grand Riou de la Blanche sur lequel la prise d'eau de l'aménagement hydroélectrique du Martinet est implantée.

L'administration, en raison du classement du cours d'eau en liste 2, impose que la dévalaison soit prise en compte dans la gestion, et cela d'autant plus que l'on est en présence de truites de souche locale naturelle.

Impact de la prise d'eau

Au niveau de la prise d'eau par en-dessous, le facteur physique limitant l'intrusion des poissons dans la prise est l'écartement des barreaux de la grille sur laquelle s'écoule l'eau du torrent. L'écartement des barreaux est de 15 mm ce qui veut dire que les individus dévalant de taille inférieure à 15 cm pénètrent dans la prise d'eau et sont entraînés vers la turbine Pelton (mortalité 100%). Le second objectif de l'analyse est d'apprécier l'impact de l'aménagement sur la dévalaison.

Repeuplements

Les alevins introduits par l'association locale (AAPPMA *La truite de l'Ubaye*, président Christian Calvignac, qui a répondu à nos questions) sont des alevins de l'année (0+) de souche atlantique déversés en juin. Le plus souvent ils sont issus de la pisciculture de Marcoux (origine Causerets ou Roquebillière atlantique). Plus rarement des truites domestiques méditerranéennes de la pisciculture de Roquebillière ont également été déversées dans le Grand Riou de la Blanche il y a quelques années.

Environ 500 alevins sont libérés chaque année dans le tronçon court-circuité (TCC) autour du pont de Baud et 1000 sont répartis en amont de la prise d'eau; cependant, les années marquées par des événements hydrologiques particuliers (crues avec transport solide important) comme en 2010, 5 à 6000 alevins sont déversés sur tout le linéaire.

Depuis plusieurs années, l'AAPPMA s'oriente résolument vers la gestion patrimoniale dans le sous-bassin de l'Ubaye (arrêt des repeuplements). Les seules exceptions sont les cours d'eau de haute montagne (+ de 2000m) qui n'ont pas de peuplement naturel (conditions climatiques incompatibles). Là des alevins atlantiques sont relâchés.

En raison de la nature difficile du Grand Riou de la Blanche (présence de l'obstacle artificiel constitué par la prise d'eau du Martinet mais également des nombreux obstacles naturels présents en aval de cette dernière) et des accidents climatiques (en moyenne un tous les dix ans), le développement des populations de truites est fortement contraint en particulier parce que les déplacements vers l'amont sont très limités. L'AAPPMA traite donc l'amont de cette rivière comme un ruisseau d'altitude et repeuple en alevins atlantiques.

2. Echantillonnage

L'échantillonnage des truites analysées ici a été constitué par le bureau d'études Sage-Environnement lors des trois pêches électriques de septembre 2015 (une station en amont de la prise d'eau du Martinet, deux stations dans le tronçon court-circuité : aval proche de la prise d'eau et aval éloigné proche de la confluence avec l'Ubaye). Un total de 90 échantillons (morceaux de nageoires conservés dans l'alcool) a été reçu par l'Institut des Sciences de l'Evolution (ISEM) de l'Université de Montpellier (UM) le 12 octobre 2015. Pascal Vaudaux est le correspondant de Sage-Environnement auprès de l'ISEM.

La distribution géographique des stations est précisée à la Figure 1. La composition et les caractéristiques des échantillons sont présentées au Tableau 1. Aux nouveaux échantillons ont été rajoutés pour comparaison des truites domestiques. L'ensemble des données permettra de produire des résultats interprétables.

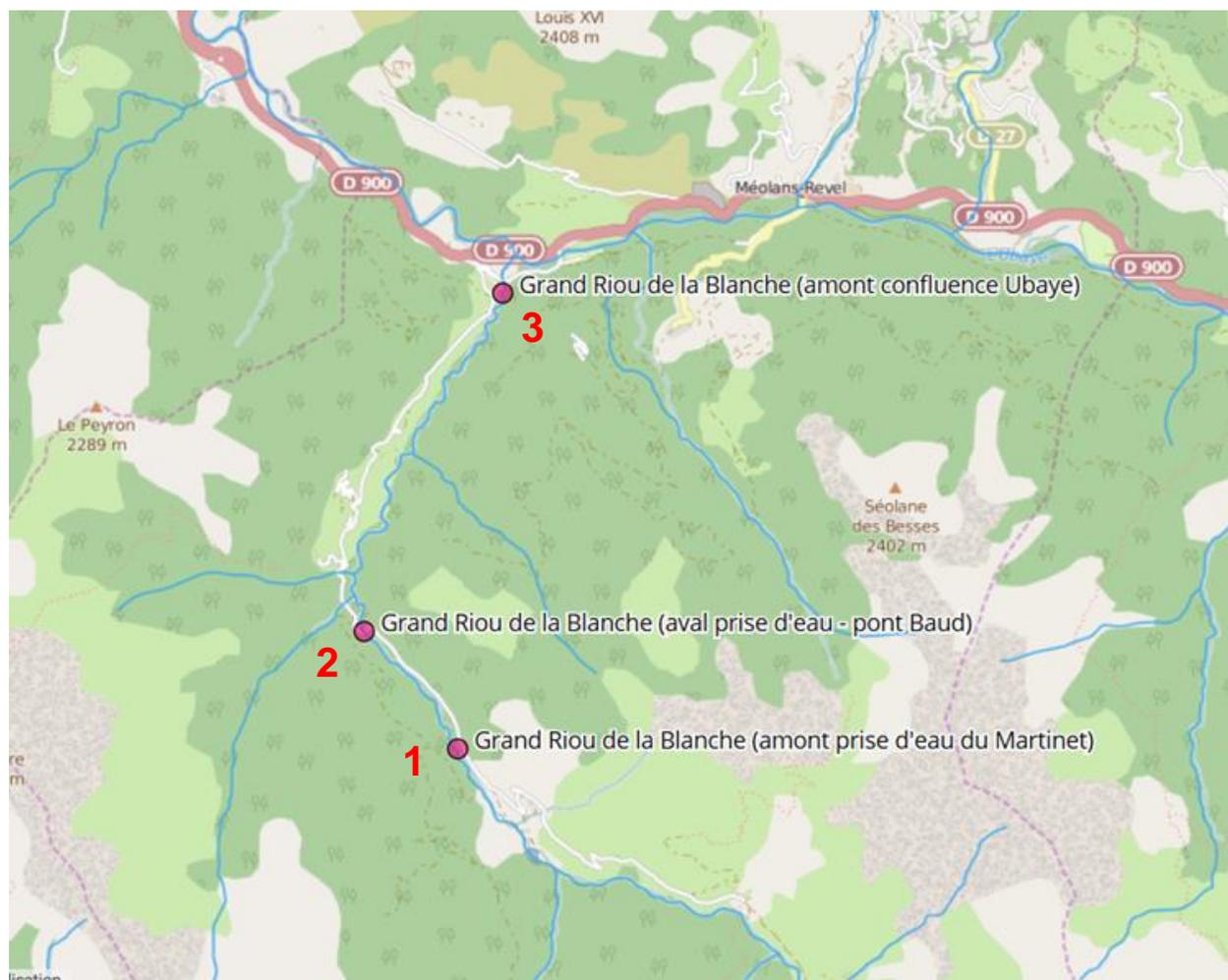


Figure 1 : Répartition géographiques des 3 échantillons analysés dans le présent rapport. Les noms des stations numérotées et les détails techniques sont donnés au Tableau 1.

N° carte	Stations	Nbre	Date	Rapport	N° ISEN échantillons	N° ISEN individus
1	Grand Riou (amont prise d'eau)	30	08/09/2015	SAG3	L677	T28816-T28845
2	Grand Riou (TCC - pont Baud)	30	08/09/2015	SAG3	L678	T28846-T28875
3	Grand Riou (TCC - confluence Ubaye)	30	09/09/2015	SAG3	L679	T28876-T28905
4	pisciculture Roquebillière	29	2008	GSALM2	L156	T13061-T13090
5	pisciculture Babeau (Cauterets 2014)	28	2014	MAE1	L556	T28112-T28140
6	pisciculture Isère	30	2008	GSALM2	L266	T16926-T16955

Tableau 1 : Caractéristiques des échantillons analysés lors de la présente étude (en jaune). Ont été rajoutés des échantillons de piscicultures (en gris). C'est la souche méditerranéenne de Roquebillière qui a été prise en compte.

3. Méthodes

3a. Méthodes moléculaires

Chaque truite a été génotypée (détermination des deux allèles provenant de ses deux parents) au niveau de 6 locus microsatellites (Oneu9, Mst85, SSoSI-311, Omy21Dias, Mst543 et SSoSI-438).

Les génotypes obtenus ont permis de construire la matrice de données à la base de tous les calculs qui suivent.

3b. Méthodes statistiques

Classiquement, trois types d'analyses statistiques permettent de comprendre la structure, la composition et parfois l'histoire des peuplements analysés.

- L'**analyse multidimensionnelle** (ici l'Analyse Factorielle des Correspondances ou AFC traitée par le logiciel GENETIX) est considérée comme un débroussaillage rapide des données faisant apparaître les grandes lignées présentes dans les échantillons analysés et dans les échantillons de référence.

- L'**analyse d'assignation** (ici avec le logiciel STRUCTURE) recherche le meilleur découpage de l'ensemble des truites analysées de façon à regrouper celles qui se ressemblent le plus et pourraient appartenir à la même population (sous-groupes à l'équilibre génétique). La partie la plus délicate est de déterminer le nombre de sous-groupes le plus pertinent (K).

- Les **paramètres populationnels** sont de divers types. Certains décrivent la diversité génétique de chaque population (Hnb, Ho et A); un autre décrit l'équilibre panmictique (reproduction au hasard de toutes les truites de la population, un déséquilibre est généralement signe d'introduction de truites étrangères se reproduisant ailleurs, comme en pisciculture) avec le Fis; un autre détermine la quantité de différence génétique entre populations prises 2 à 2 (le Fst).

Ces paramètres permettent d'interpréter les résultats génétiques.

4. Résultats

4a. Analyse multidimensionnelle

La Figure 2 positionne chaque truite (= un point) dans un hyperespace mathématique. Ce diagramme permet de voir les regroupements (= nuages) caractéristiques des types génétiques en présence dans l'échantillonnage total (= échantillons de la présente étude et échantillons de référence).

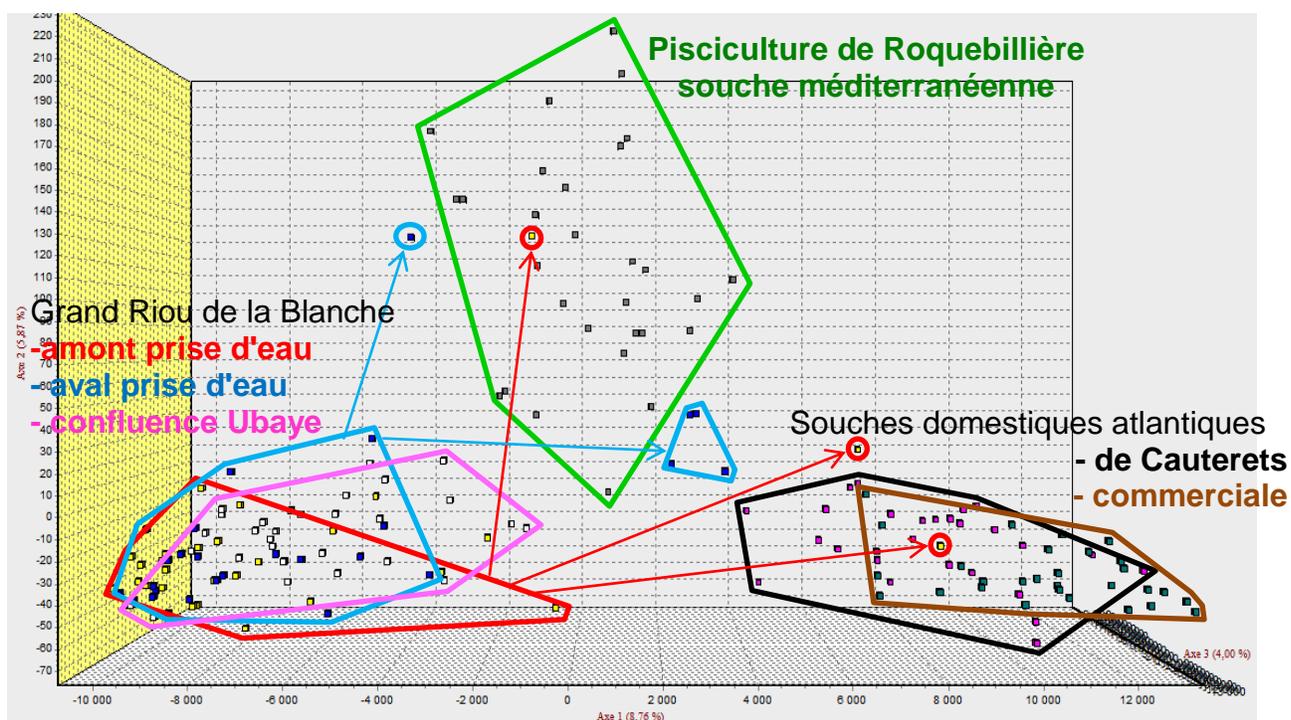


Figure 2 : Positionnement de toutes les truites génotypées (de la présente étude et des échantillons de référence) dans un hyperespace dont le graphique présente une version simplifiée à deux dimensions. Globalement cette analyse isole bien les truites du Grand Riou à gauche, les truites domestiques méditerranéennes de Roquebillière en haut au centre et les truites domestiques atlantiques à droite. Les flèches désignent les truites de rivière d'origine domestique ou hybrides. Seule la station aval du Grand Riou (confluence) est indemne d'introduction.

4b. Analyse d'assignation

L'analyse d'assignation permet de découper l'échantillonnage total (truites de la présente étude et des échantillons de référence) en K sous-unités en équilibre populationnel, sans tenir compte de l'appartenance de chaque truite à un échantillon géographique. Le logiciel d'aide à la décision, STRUCTURE HARVESTER, suggère que K=3, mais les autres valeurs de K peuvent aussi être explorées (Figure 3).

Ici 50000 runs de préchauffage (burn'in) ont été pratiqués suivis de 100000 runs d'affinage. K a été testé de 1 à 5 avec 3 tests pour chaque valeur de K.

La **Figure 4** donne l'histogramme obtenu pour K=3. Il permet de déterminer la composition de chaque échantillon en pourcentages des K sous-unités détectées. On y voit les truites sauvages colorées en bleu, la souche méditerranéenne de Roquebillière en vert et les truites domestiques atlantiques en rouge. Confirmant les observations faites Figure 2, les stations amont et aval de la

prise d'eau contiennent des truites provenant de la souche méditerranéenne domestique de Roquebillière (bandes entièrement vertes: une en amont, individu 7; une en aval de l'obstacle, individu 37; aucune à la confluence) et des truites domestiques atlantiques (bandes rouges : uniquement deux en amont, individus 1 et 11). D'autre part, des hybrides plus complexes sont définis:

- un hybride 50% Roquebillière, 50% domestiques atlantiques (truite 49 et 53 à l'aval)
- des truites 23/3-1/3 ou 1/4-3/4 entre les deux origines domestiques (truites 33 et 42 à dominance méditerranéenne).

Le Tableau 2 transpose l'histogramme coloré (Figure 4) en pourcentages.

	k=2	k=3	k=4	k=5	
				1 + 2	amont du Grand Riou de le Blanche
		1 + 2 + 3	2 + 2 + 3		
				3	confluence avec l'Ubaye
	1 + 2 + 3 + 4				
		4	4	4	domestiques méditerranéennes de Roquebillière
			5	5	domestiques atlantiques de Caunterets
	5 + 6	5 + 6			
			6	6	domestiques atlantiques commerciales

Figure 3 : Les six échantillons (1 à 6, voir Tableau 1) ont été traités par assignation en découpant l'ensemble des truites en k sous-groupes (k va de 2 à 5). L'aide à la décision nous dit que K=3 est le meilleur découpage (bande jaune).

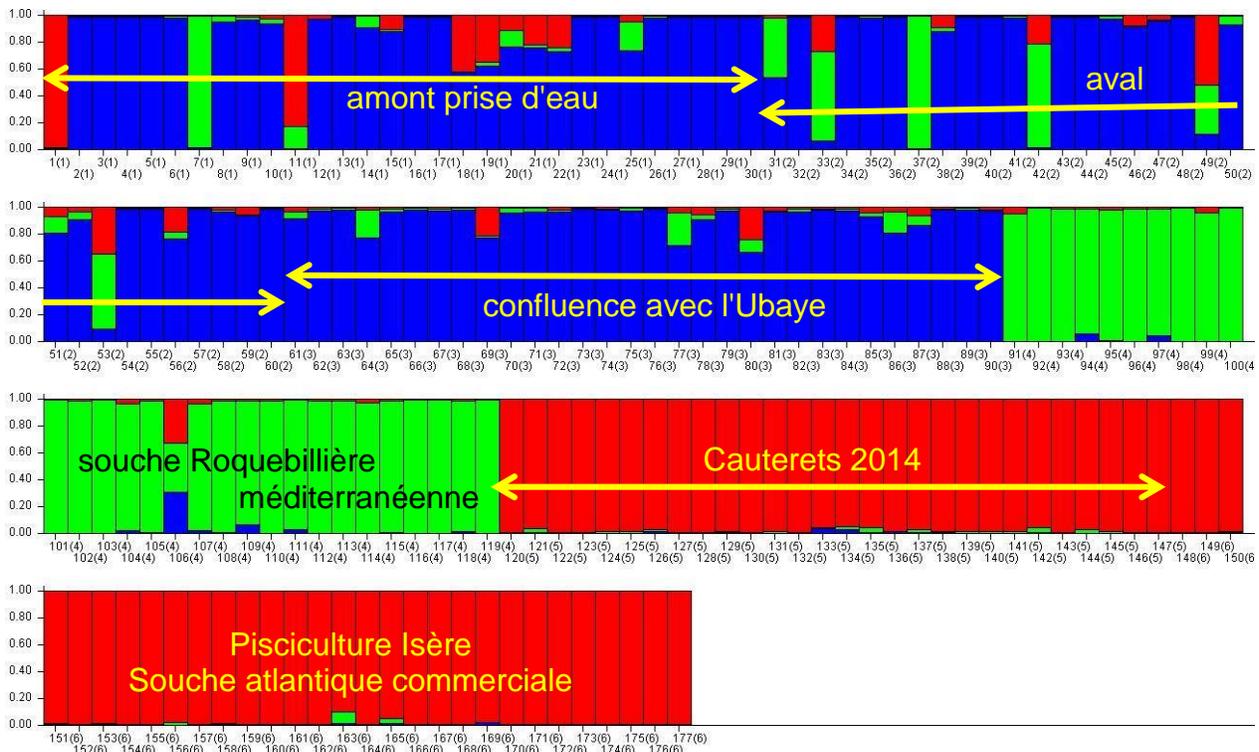


Figure 4 : Présentation de l'analyse d'assignation sous forme d'histogramme coloré. Les couleurs sont distribuées au hasard aux k sous unités détectées (ici k=3). Chaque truite est représentée par un rectangle vertical.

N° carte	Stations	Ubaye	Roquebillière	domestique atlantique
1	Grand Riou (amont prise d'eau)	82	6	11
2	Grand Riou (TCC - pont Baud)	79	14	7
3	Grand Riou (TCC - confluence Ubaye)	93	4	3
4	pisciculture Roquebillière	3	95	2
5	pisciculture Babeau (Cauterets)	1	1	98
6	pisciculture Isère	1	1	98

Tableau 2 : Composition de chaque échantillon analysé et des échantillons domestiques en pourcentages des $K=3$ sous-unités génétiques considérées. Les valeurs égales ou inférieures à 5 sont à la limite de sensibilité de la méthode (= bruit de fond), elles sont indiquées en gris. Les couleurs des cellules soulignent l'importance des pourcentages obtenus.

4c. Paramètres populationnels

Les analyses de composition ou de structure (multidimensionnelle et d'assignation) ne sont pas les seules à apporter des informations. Les paramètres populationnels sont particulièrement importants pour obtenir des informations biologiques sur les populations analysées.

Ainsi les paramètres H et A renseignent sur le polymorphisme de chaque population. H_o est la diversité génétique observée et H_{nb} est cette même diversité telle qu'elle serait si la population était panmictique (reproduction au hasard entre tous ses membres, donc présence d'une seule lignée). L'écart entre H_o et H_{nb} permet de calculer le F_{is} qui renseigne sur cette panmixie. Le Tableau 3 donne les résultats obtenus ainsi que leur niveau de significativité.

N° carte	Stations	Nbre	Hnb	Ho	A	Fis	significativité
1	Grand Riou (amont prise d'eau)	30	0,57	0,48	7,7	0,15	***
2	Grand Riou (TCC- pont Baud)	30	0,56	0,47	7,5	0,16	***
3	Grand Riou (TCC - confluence Ubaye)	30	0,62	0,60	6,2	0,04	ns
4	pisciculture Roquebillière	29	0,67	0,63	6,0	0,07	ns
5	pisciculture Babeau (Cauterets)	28	0,78	0,76	7,7	0,03	ns
6	pisciculture Isère	30	0,66	0,64	6,0	0,04	ns

Tableau 3 : Paramètres populationnels donnant des informations sur le polymorphisme (entêtes orange), et la panmixie (entêtes bleues). ns = non significatif (=population en panmixie), *** = populations en fort déséquilibre panmictique.

Un autre type de paramètre permet de mesurer la différence génétique entre échantillons (assimilable à une distance génétique inter-échantillons) et surtout de tester sa significativité: ce sont les F_{st} présentés au Tableau 4.

N° carte	Stations	1	2	3	4	5	6
1	Grand Riou (amont prise d'eau)	0	0,01	0,05	0,26	0,24	0,33
2	Grand Riou (TCC - pont Baud)		0	0,07	0,26	0,25	0,33
3	Grand Riou (TCC - confluence Ubaye)			0	0,23	0,21	0,30
4	pisciculture Roquebillière				0	0,17	0,23
5	pisciculture Babeau (Cauterets)					0	0,08
6	pisciculture Isère						0

Tableau 4 : Comparaisons deux à deux de chaque échantillon par le paramètre *Fst*. Toutes les comparaisons sont significatives (échantillons génétiquement différents) sauf la case en vert (amont et aval de la prise d'eau) présentent des différences génétiques négligeables que le hasard pourrait expliquer.

5. Interprétation - discussion

Deux questions récurrentes méritent des commentaires.

5a. Structure des peuplements naturels

En faisant abstraction de l'impact des repeuplements en truites domestiques, la composition en lignées naturelles des truites étudiées fait apparaître une seule lignée sauvage représentée par la couleur bleu marine à la Figure 4 et au Tableau 2. Il s'agit très probablement de la lignée "Ubaye" mise en évidence dans le rapport local AHP2 en 2012 et présente en abondance (90%) dans la station voisine, à la confluence du torrent du Rioclar.

Le Grand Riou de la Blanche est bien peuplé à l'origine de la souche sauvage méditerranéenne dite "Ubaye". Il importe à présent de détecter les perturbations qu'elle a subies.

5a. Impact des alevinages en truites domestiques atlantiques.

Les analyses génétiques ne sont possibles que par comparaison des truites de nature inconnue (celles qui font l'objet de cette étude) avec les truites de référence connue. En ce qui concerne les truites domestiques, une étude récente (Bohling et al. en cours de publication) a montré que ce qui peut être appelé "souche domestique atlantique nationale", issue de travaux de sélection de l'INRA dans les années 90, représentait la grande majorité des alevinages en France.

C'est cette souche que nous avons appelée ici "pisciculture nationale". Nous avons aussi ajouté une souche domestique particulière, la souche méditerranéenne de Roquebillière, car sa participation aux alevinages locaux est connue dans le passé. Toutefois, si une autre souche inconnue a été utilisée dans la zone étudiée, les estimations seront faussées sans que nous le sachions.

D'après le Tableau 2, les populations de la zone étudiée ne sont indemnes de truites domestiques que dans l'échantillon prélevé à la confluence Riou/Ubaye. Les échantillons de part et d'autre de la prise d'eau sont modérément impactés, surtout avec la souche atlantique nationale à l'amont, et surtout avec la souche méditerranéenne domestique de Roquebillière à l'aval de l'obstacle.

5c. Autres questions

D'autres questions intéressantes peuvent être abordées grâce aux données obtenues.

- Ainsi le Tableau 3 nous montre que la **diversité génétique** (représentée au mieux par le paramètre Hnb) se réduit quand on remonte le cours d'eau, mais de façon négligeable entre le tronçon court-circuité et l'amont de la prise d'eau (Hnb passe de 0,62 à 0,57). Ce phénomène global est attendu du simple fait de la réduction de la taille des populations quand on va de l'aval vers l'amont.

- Le **nombre moyen de variants** par marqueur (paramètre A) varie de façon surprenante en sens inverse (passe de 6,2 à 7,7). Normalement, le paramètre A devrait varier dans le même sens que Hnb. C'est le signe d'une perturbation : ici c'est l'apport de variants domestiques (truites domestiques atlantiques + truites méditerranéennes de Roquebillière) qui augmentent artificiellement A sans augmenter la diversité génétique globale (apports modérés).

- Enfin, la **panmixie** (équilibre entre toutes les truites de la population qui se reproduisent entre elles) qui règne à la confluence du Grand Riou et de l'Ubaye, est brisée à l'amont, que ce soit à l'amont ou à l'aval proche de la prise d'eau (Fis moyen de 0,15: très hautement significatif).

L'ensemble de ces paramètres populationnels nous montrent une cassure entre la zone de la prise d'eau (amont et aval) et la confluence. Le calcul des Fst (Tableau 4) nous montre également que cette cassure est située à l'aval de la prise d'eau, mais pas entre l'amont et l'aval proche. C'est aussi cohérent avec la Figure 4 qui montre que le passage de $k=4$ à $k=5$ entraîne la distinction entre confluence et prise d'eau, mais pas entre amont et aval proche de la prise d'eau. Cette rupture peut probablement être mise en relation avec les nombreux obstacles naturels infranchissables à la montaison qui entravent la circulation des individus provenant de l'Ubaye.

L'ensemble des données présentées ici permettent de proposer quelques hypothèses et conclusions:

- globalement le Grand Riou de la Blanche est une rivière à peuplement salmonicole très fortement sauvage méditerranéen, de même lignée que l'Ubaye avec laquelle il conflue. La présence limitée des truites domestiques (17 à 21%) permet de déduire une efficacité tout aussi limitée des repeuplements et de recommander une gestion patrimoniale pour le maintien de la lignée sauvage méditerranéenne Ubaye à l'amont du Grand Riou de la Blanche. De plus, les pêches électriques de septembre 2015 mettent en évidence l'existence d'un recrutement naturel sur toutes les stations échantillonnées ;

- ce peuplement, quand il est à l'état naturel (station proche de la confluence avec l'Ubaye), est d'une diversité élevée (Hnb autour de 0,6) et panmictique;

- les repeuplements ont laissé des descendants des deux origines identifiées. Les pratiques de repeuplement de l'AAPPMA locale expliquent la présence de domestiques atlantiques mais la présence de truites domestiques méditerranéennes nées en pisciculture (au moins les truites 7 et 37) ne correspondent pas aux affirmations de l'AAPPMA et suggèrent des introductions récentes. Deux hypothèses peuvent être proposées : (i) les alevins de repeuplement atlantiques de Roquebillière étaient mêlés d'alevins de la souche méditerranéenne de la même pisciculture (sous forme de méditerranéennes pures ou d'hybrides), ou (ii) des alevinages provenant de la souche méditerranéenne de Roquebillière ont été clandestinement effectués;

- la prise d'eau a maintenu des différences mineures de présence domestique entre les truites situées à son amont et à son aval proche : l'amont contient des truites des deux origines domestiques connues (souche méditerranéenne domestique de Roquebillière et souche

domestique nationale atlantique) alors que l'aval proche montre essentiellement une introduction d'allèles de méditerranéennes de Roquebillière;

- les stations amont et aval proche de la prise d'eau ne présentent pas de différence significative (testée par de multiples méthodes: diversité Hnb, nombre de variants A, différences génétique globale Fst mais aussi Figures 2, 3 et 4). Cette étude génétique par 6 marqueurs microsatellites ne relève donc pas de différence importante entre l'amont et l'aval proche de la prise d'eau, comme attendu dans le cas où elle constituerait un obstacle totalement infranchissable à la dévalaison.

Fait à Montpellier le 5 janvier 2016

6. Références bibliographiques

La plupart des rapports cités sont consultables sur le site:

<http://data.oreme.org/trout/home> (utiliser le navigateur Mozilla Firefox)

- Berrebi, P., Cherbonnel, C. (2009). Cartographie génétique des populations sauvages de truites françaises - Programme Genesalm - tome 1 - version du 15 décembre 2009: Université Montpellier 2, rapport de contrat du projet Genesalm, 22p. (GSALM2)
- Berrebi P., Shao Z. 2012. Etude génétique des truites des bassins versants du Coulomp et de l'Ubaye (campagnes 2010 et 2011), p. 10. Rapport d'étude n°1 pour la Fédération de Pêche des Alpes de Haute Provence. Université Montpellier 2. (AHP2)
- Berrebi P. 2015. Structure génétique des truites naturelles et domestiques de l'Orb amont - marqueurs microsatellites- Rapport MAE1 (juin 2015): Rapport d'étape pour la thèse de Maëva Leitwein. Université de Montpellier. 9p.
- Bohling, J., Shao, Z., Haffray, P., Berrebi, P. (soumis 2015). Genetic diversity and population structure of domestic brown trout (*Salmo trutta*) in France.