

# Place évolutive des truites du lac du Lauzanier dans la diversité du parc Naturel du Mercantour

## Rapport MERC5



© Patrick Berrebi

Analyses statistiques et rédaction: **Patrick BERREBI**  
ISEM, Université Montpellier 2, cc065, place Bataillon, 34095 Montpellier Cedex 05  
Tél: 04 67 14 37 32, Mél: [patrick.berrebi@umontpellier.fr](mailto:patrick.berrebi@umontpellier.fr)

Analyses moléculaires: **David SCHIKORSKI**  
Laboratoire Genindexe, 4 Rue Théodore Botrel, 22603 Loudéac Cedex  
Tél: 02 96 28 63 43, Mél: [d.schikorski@genindexe.com](mailto:d.schikorski@genindexe.com)

## **1. Introduction**

La gestion de la truite est une activité complexe du fait de la multitude des pratiques passées et de la diversité naturelle de l'espèce. La gestion actuelle nécessite l'établissement d'un plan d'action justifié et la satisfaction des pêcheurs qui ont des points de vue parfois opposés. Les gestions halieutique ou patrimoniale s'appliquent en France en fonction de chaque situation. Les analyses génétiques peuvent aider à faire un choix. Elles procurent aux gestionnaires deux types d'information: la distribution géographique des lignées naturelles différenciées et le niveau d'hybridation entre lignées sauvages et domestiques. La première information permet de prévenir des mélanges inappropriés et la seconde permet d'adapter la gestion à l'état du cheptel.

La gestion des truites de lac présente des difficultés supplémentaires car l'origine des truites est toujours un challenge (l'histoire des introductions est souvent très complexe et multiple). Même géographiquement cohérent, un peuplement de truites de lac peut être simplement issu d'une translocation depuis la population de l'émissaire. Se pose aussi la question de la légitimité de ce peuplement artificiel vis-à-vis des autres habitants essentiellement invertébrés du lac.

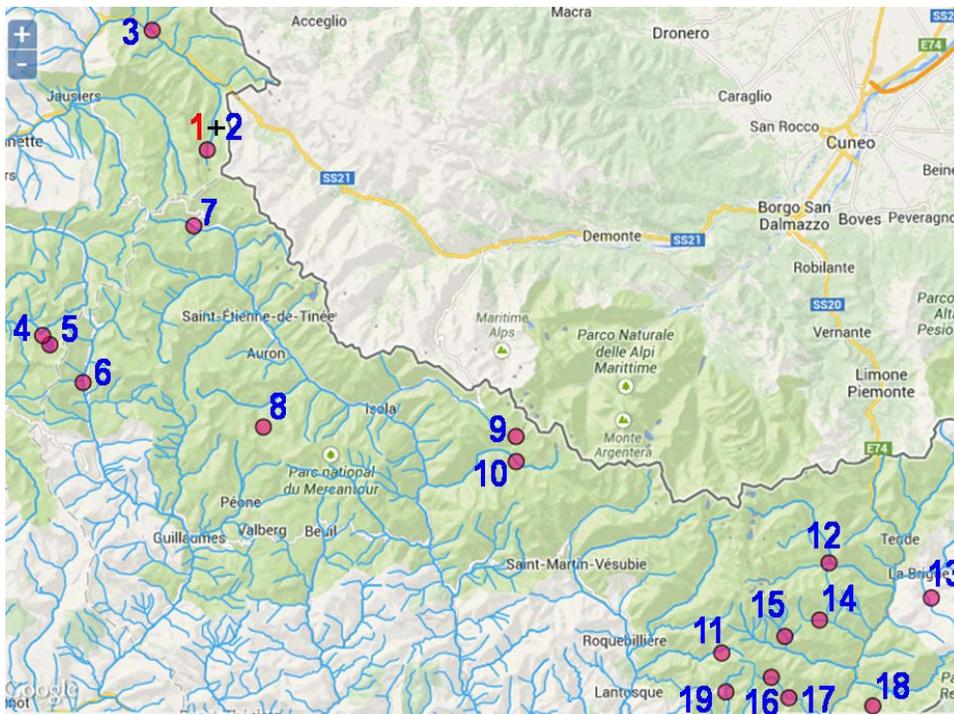
## **2. Les échantillons analysés**

Les 15 échantillons de nageoires préservées dans l'alcool ont été échantillonnés par l'Institut des Sciences de l'Evolution de Montpellier (ISEM) de l'Université de Montpellier (UM) lors d'une mission commune avec le Parc National du Mercantour (PNM) le 24 septembre 2014 (opération Lacs Sentinelle). Marie-France Leccia est la correspondante du PNM auprès de l'ISEM.

La méthode d'analyses statistiques employée nécessite de comparer les génotypes des 15 truites de 2014 avec des truites de type connu. Le rapport MERC4 ayant déjà constitué un assemblage informatif composé de 3 références du bassin de la Durance, 7 du Var, 8 de la Roya, plus les lacs d'Allos, Fenestre et Lauzanier (seulement 4 truites de 2000), le présent rapport reprend toutes ces références et rajoute les 15 truites du lac du Lauzanier de 2014. Cela permettra de décrire l'originalité éventuelle des truites de 2014. Enfin deux échantillons de truites domestiques (atlantiques: la principale lignée commerciale française; méditerranéennes: la souche de Roquebillière) permettront de détecter l'impact des repeuplements. Les caractéristiques des échantillons analysés sont détaillées au Tableau 1. Leurs localisations sont précisées à la Figure 1.

	station (rivière)	ss bassin	nombre	date	N° échantillon	N° individus	rapport
1	Lac Lauzanier	Durance	15	sept-14	L607	T26910-T26924	MERC5
2	Lac Lauzanier	Durance	4	sept-00	F214	T05068-T05072	MERC1+MERC4
3	Ubayette	Durance	20	sept-00	F213	T05044-T05064	MERC1
4	Serpentine	Durance	9	sept-00	F212	T05019-T05028	MERC1
5	lac d'Allos	Allos	20	2003+2005	F330+F333+L023	T08578-T8626	MERC2+MERC3
6	Var (amont Garretton)	Var	20	2005	L032	T08872-T08891	MERC2
7	Tinée (Rte Bousiéyas)	Var	20	2005	L030	T08812-T08831	MERC2
8	Salleveille	Var	20	2005	L031	T08842-T08861	MERC2
9	Tavel	Var	16	2005	L033	T08902-T08917	MERC2
10	Mollières (amont)	Var	20	2005	L029	T08782-T08801	MERC2
11	Lac de Fenestre	Var	14	2003	F334	T08599-T08612	MERC3
12	Vallon Planchette	Var	9	sept-01	F220	T05187-T05196	MERC1
13	Minière	Roya	20	2005	L027	T08722-T08741	MERC2
14	Vallon du Prés	Roya	20	2005	L024	T08632-T08651	MERC2
15	Céva	Roya	20	2005	L025	T08662-T08681	MERC2
16	Mérim (Durmiose)	Roya	20	2005	L026	T08692-T08710	MERC2
17	Vallon Maglia (Fontanas)	Roya	20	sept-00	F216	T05098-T05117	MERC1
18	Vallon Maglia (aval)	Roya	10	sept-00	F215	T05073-T05082	MERC1
19	Vallon de Grana	Roya	20	2005	L028	T08752-T08771	MERC2
20	Bévéra (Cabanes Vieilles)	Roya	9	sept-01	F219	T05167-T05176	MERC1
21	pisciculture Roquebillière	6	20	sept-01	F218	T05147-T05166	MERC1
22	pisciculture Isère	38	30	2008	L266	T16926-T16945	GSALM2

*Tableau 1 : Détail des échantillons analysés. Il s'agit de l'ensemble de l'ensemble des références utilisées dans le rapport MERC4.*



*Figure 1 : Positionnement géographique des stations prises en compte. Les chiffres renvoient au Tableau 1 (première colonne).*

### 3. Les méthodes moléculaires

Les techniques bio-moléculaires permettent d'extraire l'ADN contenu dans les nageoires. Par amplification et migration, sont révélés les variants héréditaires (allèles) portés par chaque truite au niveau d'endroits bien particuliers des chromosomes (les locus). Pour être informatifs, des locus hypervariables sont choisis, les microsatellites. Ici, nous avons choisi 6 locus microsatellites nommés Oneµ9, Mst85, Ss0SL-311, Omy21DIAS, Sfo1, Ssa197 et Omm1105. Leurs allèles constituent les génotypes des truites.

Les génotypages sont assurés par Genindexe (Labofarm), laboratoire privé. Les résultats sont établis sous la forme d'une matrice croisant locus et truites et indiquant un génotype à deux allèles à chaque intersection (un allèle du père et un allèle de la mère du poisson). Cette matrice de génotypes est le point de départ de toutes les analyses statistiques détaillées aux chapitres suivants.

Le séquençage d'une partie de l'ADN mitochondrial (la D-loop) permet de placer les truites du lac dans une des cinq lignées connues. La particularité de ce marqueur est sa capacité absolue à distinguer ces lignées dont l'atlantique (domestique ici) et les lignées sauvages.

### 4. Les méthodes statistiques

Il existe une multitude de méthodes statistiques permettant de faire parler la matrice de génotypes. Les méthodes choisies ici sont d'une part efficaces et très utilisées en génétique des populations, et d'autre part visuelle pour que le lecteur non spécialiste puisse suivre les résultats et le raisonnement.

- *L'analyse multidimensionnelle* permet de positionner sur un graphique chaque truite en fonction de l'ensemble de ses caractéristiques génétiques (génotypes). La méthode choisie est l'Analyse Factorielle des Correspondances (AFC) traitée avec le logiciel GENETIX. Les regroupements de points (= truites) sur le graphique, appelés "nuages", décrivent les différentes lignées présentes dans l'échantillonnage global. Cette méthode est considérée comme un débroussaillage des données moléculaires permettant de comprendre rapidement quelles sont les lignées en présence et leur éventuelle hybridation.

- *L'analyse d'assignation* permet de découper l'échantillonnage global en sous-groupes qui sont les lignées présentes. Cette méthode plus délicate d'emploi a l'avantage de chiffrer (%) la composition de chaque échantillon en différentes lignées. Elle permet aussi de décrire la composition en lignées de chaque truite (= taux d'hybridation). L'analyse d'assignation est faite avec le logiciel STRUCTURE. Le nombre objectif de sous-unités est déterminé par le logiciel STRUCTURE HARVESTER; cependant nous nous contenterons de l'utilisation de ce logiciel dans le rapport MARC4.

Les séquences mitochondriales sont traitées différemment. Il y a d'abord un "nettoyage" et un alignement des séquences, puis la construction d'un arbre phylogénétique, ici le "Neighbor Joining" ou NJ a été choisi (logiciel MEGA-6).

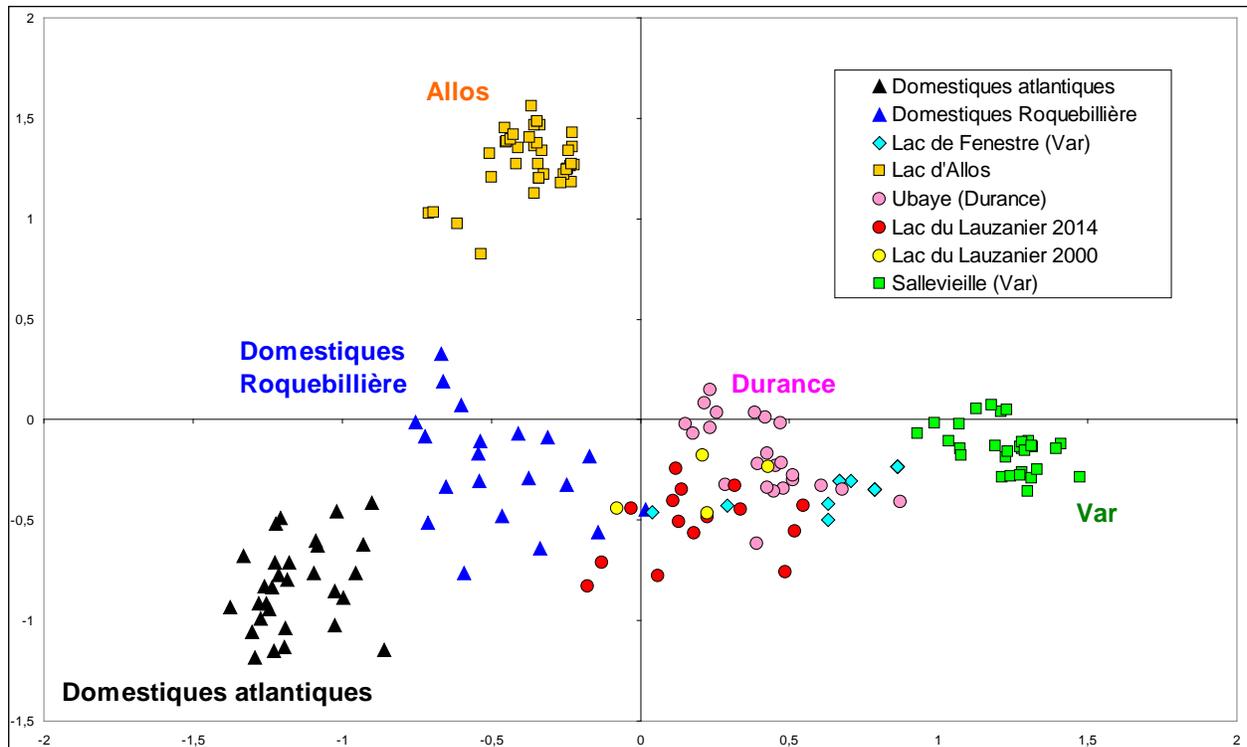
## 5. Résultats

### 5.1. Débroussaillage par AFC

Une analyse multidimensionnelle reprenant la totalité des échantillons du Tableau 1 a d'abord été faite afin de débroussailler la structure de cet assemblage de 22 échantillons pour un total de

492 truites. Cette analyse est visible en Annexe 1. A partir de cette analyse préliminaire très "touffue", les meilleurs représentants des chaque lignée mise en évidence ont été sélectionnés pour l'analyse de la Figure 2 (sauf la Roya, très différente) qui est très parlante: 5 lignées se partagent l'hyper-espace: Allos, Var et Durance sont la partie sauvage à droite ou en haut du graphique, atlantiques et Roquebillière la partie domestique est à gauche en bas.

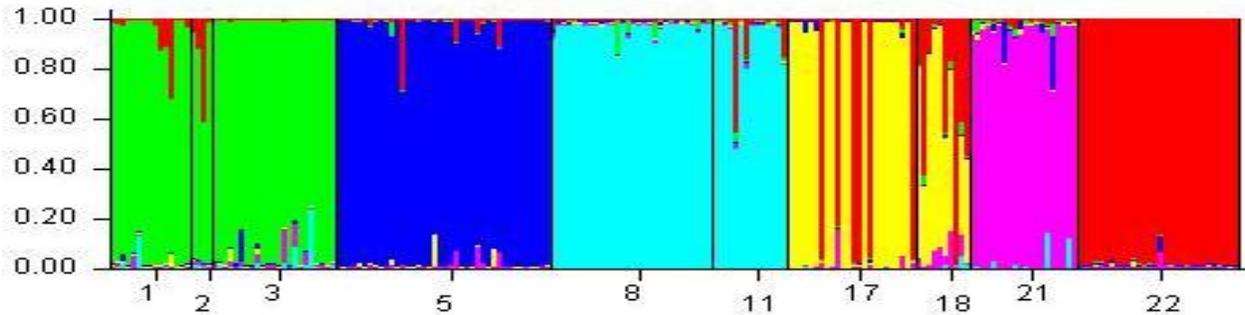
Les truites du lac du Lauzanier, 2000 et 2014, sont positionnées parmi les truites de la Durance. C'est cohérent avec la position du lac en amont de l'Ubayette. Aucune influence domestique ne semble évidente, une certaine proximité avec les truites de Roquebillière sera à vérifier dans l'analyse suivante.



**Figure 2** : Analyse multidimensionnelle (AFC) disposant une partie des échantillons présentés au Tableau 1 (pour l'analyse complète, se reporter à l'Annexe 1). Ont été retenus les meilleurs représentants des lignées Durance, Var et Allos, de même que les références domestiques atlantique et méditerranéenne.

## 5.2. Chiffrage par assignation

L'analyse d'assignation permet de classer et de chiffrer la composition génétique de chaque échantillon et de chaque individu. L'analyse similaire présentée dans le rapport MERC4 nous avait indiqué que le meilleur découpage est celui qui aboutit à K=5 sous-unités. La présente analyse étant enrichie de la souche domestique de Roquebillière, K=6 est la meilleure partition. Ici l'analyse est passée par 100000 essais préliminaires (= burn'in) et 200000 essais enregistrés (logiciel "intelligent" capable d'apprentissage: chaque essai sert à améliorer le découpage). Les tests pour K=6 ont été répétés 5 fois. Les valeurs données sont la moyenne des 4 tests réussis.



**Figure 3** : Histogramme de la composition génétique de chaque truite (fines barres verticales) et de chaque échantillon quand on subdivise l'échantillonnage total en 6 lignées.

La Figure 3 représente le découpage le plus logique, confirmant les observations de la Figure 2: nous retrouvons les 5 lignées déjà détectées (Durance en vert, Allos en marine, Var en bleu clair, Roya en jaune, Roquebillière en rose et atlantiques en rouge). Quelques traces d'hybridations sont aussi observées, nécessitant de chiffrer les assignations (Tableau 2).

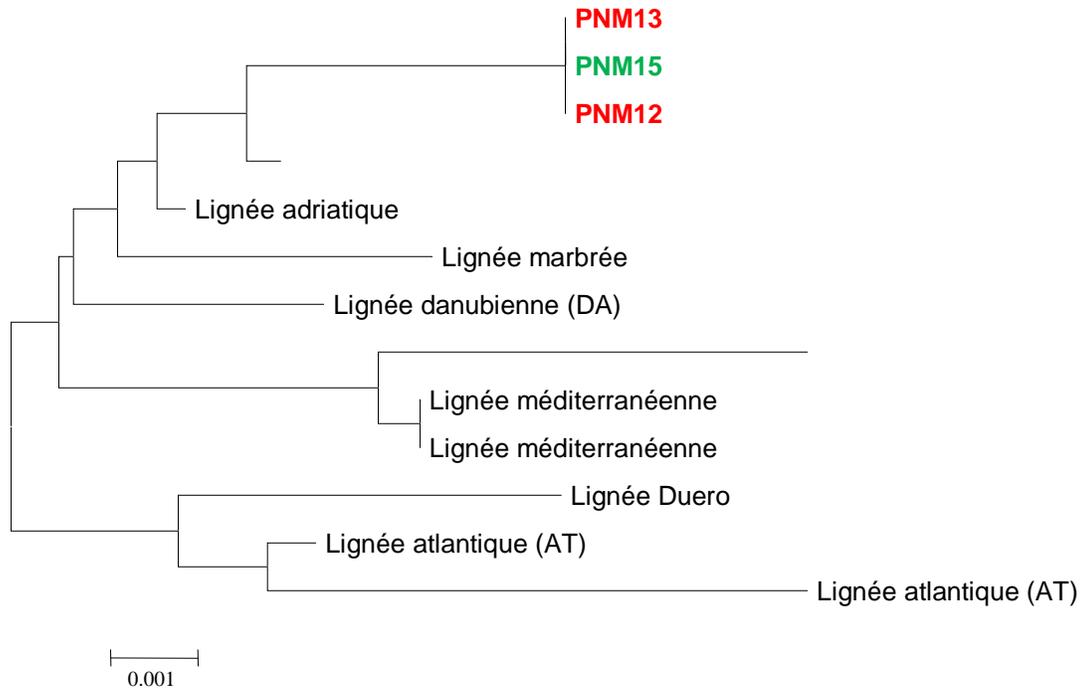
Carte	station (rivière)	ss bassin	Durance	Allos	Var	Roya	Roquebillière	atlantiques
1	Lac Lauzanier 2014	Durance	92	1	1	1	1	5
2	Lac Lauzanier 2000	Durance	82	1	1	1	1	15
3	Ubayette	Durance	93	1	2	1	2	0
5	lac d'Allos	Allos	1	95	0	1	1	2
8	Salleveille	Var	1	1	97	1	1	0
11	Lac de Fenestre	Var	1	0	91	0	1	6
17	Vallon Maglia (Fontanas)	Roya	0	1	0	73	1	24
18	Vallon Maglia (aval)	Roya	2	1	1	57	5	35
21	pisciculture Roquebillière	dept. 6	1	3	2	1	92	1
22	pisciculture Isère	dept. 38	0	1	0	0	1	97

**Tableau 2**: Pourcentages d'assignation de chaque échantillon aux 6 lignes détectées ( $K=6$ ). L'échantillon N°1 (Lauzanier 2014) est purement de lignées Durance, les valeurs égales ou inférieures à 5 sont considérées comme pouvant être du "bruit de fond".

### 5.3. Séquençage de cinq truites

Le séquençage de l'ADN mitochondrial est un outil puissant quand on veut placer des truites inconnues dans une des cinq lignées de l'espèce et spécialement en région méditerranéenne, distinguer les truites sauvages (on dit qu'elles ont les haplotypes méditerranéens ME ou adriatique AD qui est un second type méditerranéen) des truites domestiques, généralement de lignée atlantique AT.

Cinq truites du Lauzanier ont été séquencées, dont la truite PNM15 qui n'a pas une robe de truite (voir la dernière photographie de l'Annexe 2). Placées dans un arbre phylogénétique NJ, quatre d'entre elles sont de type adriatique et une de type méditerranéen. En première approximation, ce sont toutes des truites sauvages (mais voir la discussion).



**Figure 4:** Arbre phylogénétique NJ des cinq truites séquencées au niveau de la D-loop de l'ADN mitochondrial (en rouge et vert) comparées aux lignées adriatique, marbrée, danubienne, méditerranéenne et atlantique (la lignée Duero est incluse dans l'atlantique). Les truites du lac du Lauzanier sont adriatiques (4) et méditerranéenne (1). La truite en vert a une morphologie atypique.

## 6. Interprétation et Discussion

### 6.1. Impact des repeuplements

Les analyses génétiques ne sont compréhensibles que par comparaison des truites du milieu naturel, de nature inconnue (celles qui font l'objet de cette étude), avec les truites de référence connue. La présence de truites domestiques est détectée par ressemblance avec les truites de référence de pisciculture. Toutefois, si une autre souche inconnue (ou non signalée au laboratoire) a été utilisée dans la zone étudiée, les estimations peuvent être faussées sans que nous le sachions. Dans l'analyse des peuplements de lac, ce risque est important car leur gestion est toujours complexe et rarement enregistrée.

Dans la présente analyse, l'impact des repeuplements avec les truites domestiques atlantiques est important surtout dans la Roya (voir Annexe 1, carrés jaunes), mais aussi dans la Serpentine (voir Annexe 1, ronds roses). Tout ceci est détaillé dans le rapport MERC4.

En ce qui concerne le lac du Lauzanier, objet du présent rapport, il n'est que marginalement influencé par la souche domestique atlantique (15% en 2000 mais avec seulement 4 truites, 5% en 2014 mais c'est peut-être du bruit de fond non significatif). Il n'y a aucune trace de truites domestiques méditerranéennes (Roquebillière).

Le lac du Lauzanier a été aleviné jusqu'en 1996 (Vincent Duru, communication personnelle), soit il y a 20 ans soit une dizaine de générations chevauchantes de truites. La reproduction de la truite a été observée sur ce lac par les pêcheurs, probablement dans les ruisseaux tributaire et

émissaire du lac. L'absence totale de truites domestiques atlantiques dans le lac du Lauzanier est donc logique si on admet sa baisse continue avec le temps. Peut-être que les truites atlantiques n'y ont pas trouvé de bonnes conditions écologiques et ne se sont pas reproduites, ou ont subi une forte compétition des truites locales (du bassin hydrographique Durance).

### **6.2. Structure génétique naturelle des truites du Parc National du Mercantour.**

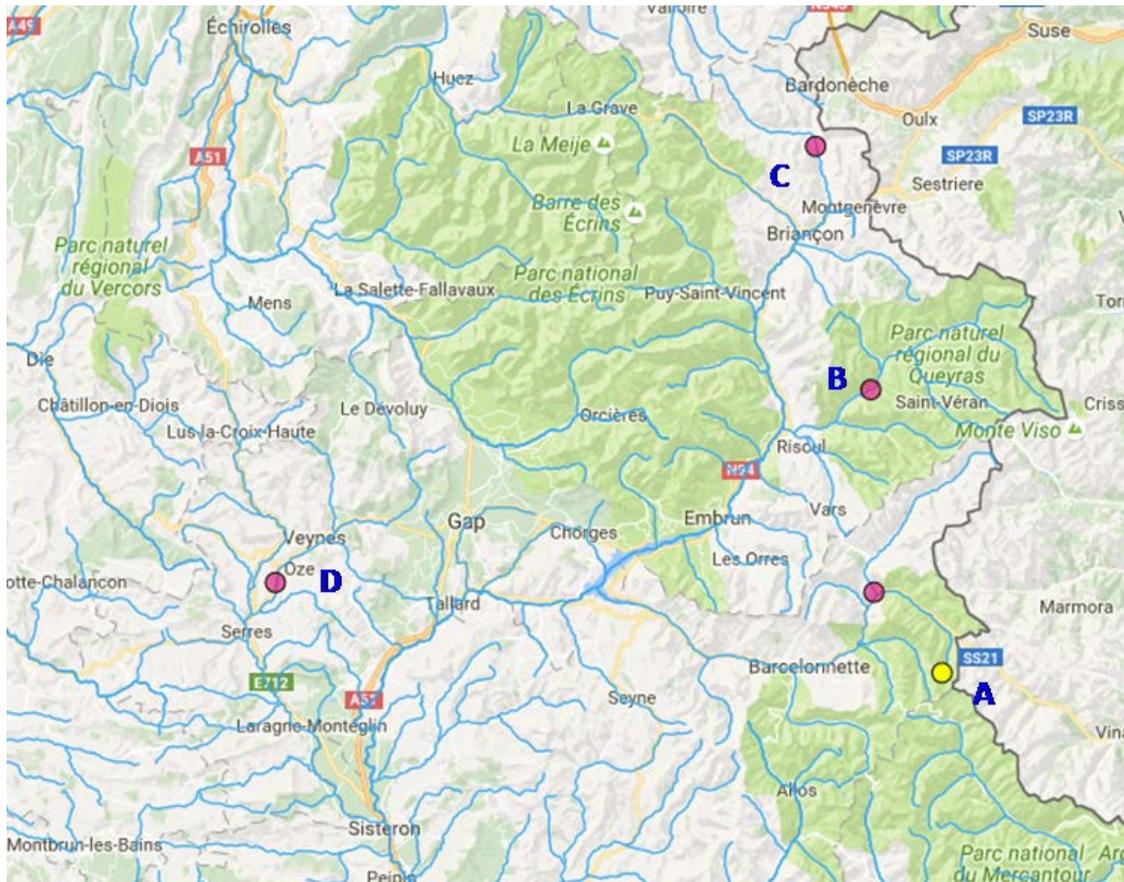
Les truites des lacs du Mercantour commencent à être bien analysées.

Ainsi les truites du lac d'Allos sont une entité mystérieuse, soit endémique, soit tellement mélangée qu'elle apparait comme un nouvelle lignée.

Dans le lac de Fenestre, c'est logiquement une lignée "Var" qui a été détectée, le lac étant en amont de la Madone de Fenestre, affluent montagneux du Var.

Enfin le lac du Lauzanier est peuplé de truites de lignée "Durance" comme la position hydrographique du lac permettait de le supposer.

Cependant, la présence logique de truites appartenant à la lignée du bassin auquel appartient chaque lac ne veut pas forcément dire qu'elles y sont autochtones: il est très facile d'ensemencer un lac sans poisson par quelques truites récoltées juste dans l'émissaire.



**Figure 5:** Autre endroits du bassin de la Durance où l'haplotype AD a été enregistré: A = lac du Lauzanier, B = Ubaye, C = Clarée, D = Petit Buëch.

Quatre truites sur cinq sont de lignée mitochondriale adriatique. Le terme "adriatique" provient de la première station où cette lignée a été observée, mais depuis, la lignée adriatique a été observée en grand nombre en Espagne, en Corse, dans les Balkans bien sûr et en Grèce. Il

s'agit d'une lignée "méditerranéenne-bis"! Le lac est donc peuplé de truites sauvages méditerranéennes, nées sur place ou remontées ou transportées de l'aval.

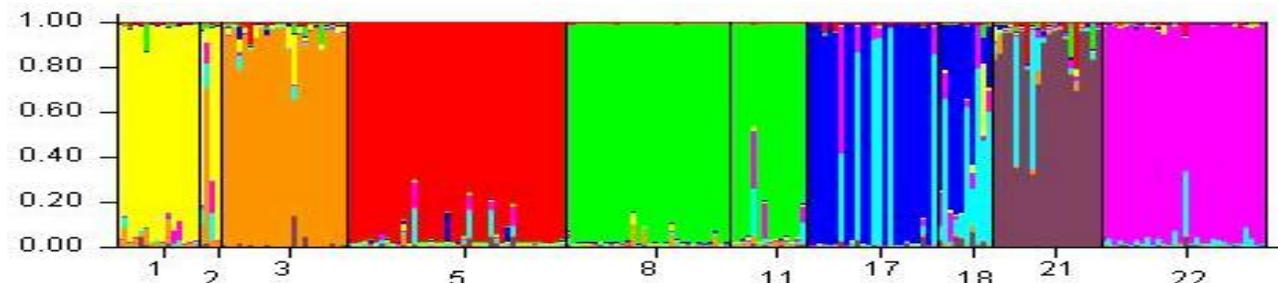
### 6.3. Le paradoxe morphologique

Le diagnostic de cette étude (Lauzanier = lignée Durance) pourrait être considéré comme définitif si la morphologie (la robe essentiellement) des truites qui y vivent le confirmaient. Or ces truites ont des robes extrêmement diverses (Annexe 2), ce qui va à l'encontre des résultats génétiques.

En rivière, il est souvent facile de deviner, avant toute analyse génétique, si un peuplement a été repeuplé récemment ou pas: si les robes des truites sont variées (idéalement tous les intermédiaires entre deux types extrêmes sauvage/domestique) on peut en déduire qu'il y a eu repeuplement. Si toutes les truites sont identiques, nous avons le plus souvent affaire à un peuplement sauvage pur (il est possible aussi que ce soit un peuplement hybridé il y a fort longtemps, sans introduction récente, la panmixie sur des décennies aura homogénéisé les robes).

Dans le lac du Lauzanier, la génétique est homogène, la morphologie hétérogène! Ceci est parfaitement illogique et aucune explication ne vient à l'esprit. Peut-être d'autres analyses d'un plus grand nombre de truites permettraient de comprendre.

Afin d'aller un peu plus loin et rechercher une éventuelle hétérogénéité parmi les truites du lac, les analyses d'assignation ont été poussées au-delà de  $K=6$  (s'il y avait deux entités faiblement différenciées, elles devraient apparaître).



**Figure 5:** Poussée au-delà du niveau de découpage préconisé ( $K=6$ ), c'est à partir de  $K=8$  que les truites du Lauzanier se distinguent des truites de l'Ubayette.

La partition obtenue pour  $K=8$  à la Figure 5 confirme la forte homogénéité génétique des truites du lac malgré l'hétérogénéité morphologique. Le seul progrès obtenu est la séparation des truites de l'Ubayette de celles du lac, mais à l'intérieur du lac, aucune partition n'est possible: nous avons bien un seul type génétique.

Le poisson le plus distinct morphologiquement est le dernier (PNM15), ressemblant à un omble de fontaine (Figure 6 ci-dessous). Deux grands spécialistes mondiaux des salmonidés ont été interrogés: selon Louis Bernatchez (Québec):

"Ce que tu as semble plus un hybride entre *trutta* et *marmoratus* non? Sinon, est-ce que tu sais s'il y a du *namaycush* dans ce lac? Ce pourrait alors être un hybride *trutta*-*namaycush*..."

et selon Bo Delling (Suède):

"Pictured fish is a hybrid (*Salvelinus fontinalis* X *Salmo trutta*) – not 100% sure but 99%"

Une publication japonaise de 2009 faisait état d'hybridation entre un saumon du genre *Salvelinus* et la truite commune introduite là-bas. La photographie de l'hybride fait penser à notre spécimen PNM15 (Figure 6).

La morphologie fait effectivement bien penser à un hybride truite/omble (*Salmo trutta/Salvelinus alpinus*), deux espèces jadis alevinées dans le lac. Cependant, les analyses moléculaires utilisant 6 microsattellites et la séquence de la D-loop place ce poisson parmi les truites communes (*Salmo trutta*) adriatiques. Chacune de ces méthodes aurait eu la capacité de détecter soit une espèce autre que la truite commune, soit la lignée "marbrée" de truite commune, soit un omble de fontaine, soit un hybride.

Une explication possible peut être le simple hasard: avec 6 microsattellites (2 allèles par génotypes: celui du père et celui de la mère) et une séquence mitochondriale (venant uniquement de la mère), notre poisson a été testé sur 13 points de son génome. Il est peu probable mais possible que par hasard on n'ait eu que des marqueurs de truites. En analysant plus de gènes, on tomberait peut être sur un marqueur d'omble?



**Figure 6:** De haut en bas:  
- omble de fontaine des Pyrénées (*Salvelinus fontinalis*),  
- omble chevalier naturel des Alpes (*Salvelinus umbla*),  
- omble chevalier nordique domestique (*Salvelinus alpinus*)  
- "truite" PNM15,  
- hybride entre *Salvelinus leucomaenis* et *Salmo trutta* introduite au Japon (Kitano et al. 2009) présentant des vermiculations comme PNM15.

Une dernière hypothèse considérée comme impossible par l'ISEM (mais elle doit être formulée): une erreur de prélèvement a pu avoir lieu et le poisson PNM15 n'aurait pas été prélevé. Outre les précautions maximales qui sont prises lors de l'échantillonnage, un autre argument s'oppose à cette hypothèse: aucun des 14 autres poissons n'a le même génotype, il faut donc imaginer qu'un poisson non sélectionné pour l'analyse ait été prélevé... Très peu probable.

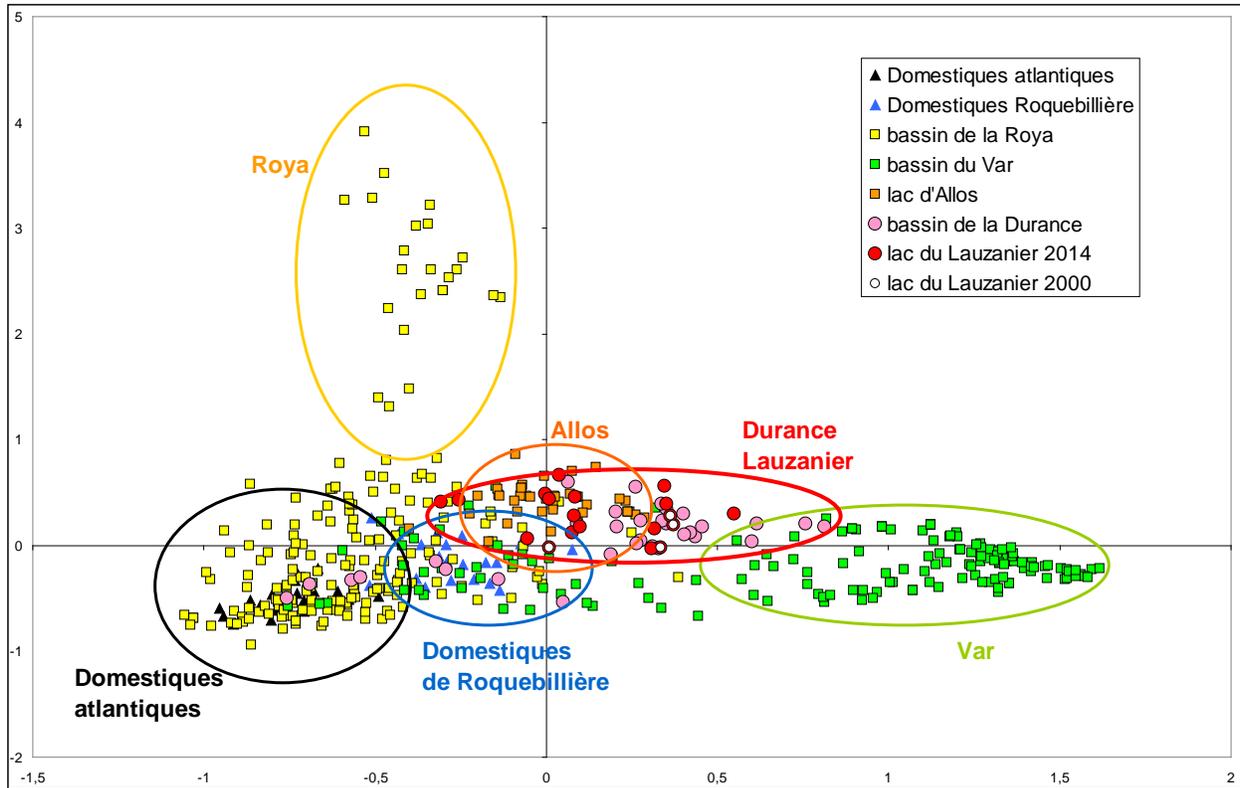
*Fait à Montpellier le 25 octobre 2016*

## **7. Références bibliographiques**

- Berrebi P. 2001. Etude génétique de la truite commune (*Salmo trutta*) dans quelques sites du Parc national du Mercantour (marqueurs allozymiques). Rapport de contrat, Université Montpellier II, 19 p. + annexe. ([MERC1](#))
- Berrebi P., Lasserre B., Dubois S. 2006. Analyse génétique (microsatellites) des truites du Parc du Mercantour - Rapport final, novembre 2006. Université Montpellier 2. ([MERC2](#))
- Berrebi P., Cherbonnel C. 2009. Cartographie génétique des populations sauvages de truites françaises - Programme GENESALM - tome 1 - version du 15 décembre 2009. 22p. ([GSALM2](#))
- Kitano S, Hasegawa K, and Maekawa K. 2009. Evidence for interspecific hybridization between native white-spotted charr *Salvelinus leucomaenis* and non-native brown trout *Salmo trutta* on Hokkaido Island, Japan. *Journal of Fish Biology* 74: 467-473.
- Berrebi P., Schikorski D. 2013. Génétique des truites des lacs d'Allos et de Fenestre dans le Parc National du Mercantour - Projet [MERC3](#) - Rapport de novembre 2013: Rapport pour le Parc du Mercantour, Université Montpellier
- Berrebi P., Lasserre B., Dubois S., Shao Z., Schikorski D. 2014. Structure génétique des truites du Parc du Mercantour. Complément d'analyses. Projet [MERC4](#): Rapport d'étude pour le Parc National du Mercantour, Université Montpellier 2. 11p.

## 8. Annexes

### 8.1. Analyse multidimensionnelle complète



**Annexe 1 :** Analyse multidimensionnelle (AFC) disposant toutes les truites considérées dans le Tableau 1 d'après leurs caractéristiques génétiques. Les ellipses localisent les truites de la lignée indiquée, mais les nombreuses hybridations rendent le diagramme "touffu". Par exemple, les carrés jaunes désignent les truites échantillonnées dans la Roya; cependant les carrés jaunes se trouvent en grand nombre dans la zone atlantique (ce sont des truites domestiques récemment déversées dans le bassin de la Roya) ou Roquebillière (même interprétation). Quant aux carrés jaunes situés entre l'ellipse Roya et une zone domestique, il s'agit des hybrides entre ces deux lignées.

## 8.2. Annexe 2: Morphologie et assignation des 15 truites analysées

Notons que les pourcentages d'assignation n'arrivent jamais à 100%: le bruit de fond est une dispersion des % parmi les 8 lignées présumées mais seuls les pourcentages au delà des 5% sont considérés comme significatifs et indiqués ici.



PNM01 = 95% Lauzanier (assignation la plus précise pour K=8)



PNM02 = 87% Lauzanier + 6% Ubaye



PNM03 = 94% Lauzanier



PNM04 = 93% Lauzanier + 5% Ubaye



PNM05 = 90% Lauzanier



PNM06 = 79% Lauzanier + 6% Ubaye + 12% Var



PNM07 = 96% Lauzanier



PNM08 = 95% Lauzanier



PNM09 = 96% Lauzanier



PNM10 = 82% Lauzanier



PNM11 = 91% Lauzanier + 5% atlantique



PNM12 = 86% Lauzanier + 9% atlantique



PNM13 = 97% Lauzanier



PNM14 = 97% Lauzanier



PNM15 = 96% Lauzanier