

Suivi génétique des truites de la Vis Maintien de la souche méditerranéenne

Rapport VIS1



© https://fr.wikipedia.org/wiki/Saint-Laurent-le-Minier#/media/File:Cascade_saint_laurent_le_minier.jpg

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

Analyses moléculaires: **David SCHIKORSKI**
Laboratoire Labofarm-Genindexe, 4 rue Théodore Botrel, 22603 Loudéac Cedex
Tél: 02 96 28 63 43, Mél: d.schikorski@genindexe.com



1. Introduction

La Vis est un affluent de l'Hérault qui a toujours concentré l'intérêt des naturalistes et des pêcheurs du fait de son cadre sauvages et de la bonne conservation de sa faune et de sa flore.

Dans le cadre d'une candidature au label "site rivière sauvage" du Fond de Conservation des Rivières Sauvages, la Fédération Départementale pour la Pêche et la Protection du Milieu Aquatique de l'Hérault (FD34), accompagnée par les acteurs locaux (Fédération de pêche du Gard / Communes / Association "La Vis Vallée Nature" / EDF) et institutionnels (SMBVFH / Région / Agence de l'Eau) a porté de 2014 et 2016 une étude détaillée des populations piscicole sur l'ensemble du linéaire de la Vis.

L'étude génétique de 1994-1995, basée sur des allozymes (marqueurs qui ont précédé les microsatellites) a montré la présence presque exclusive de la lignée méditerranéenne (donc la forme autochtone sauvage) tout au long du cours d'eau depuis la résurgence (Source de La Foux) après l'assec jusqu'à la station Grenouillet (voir Annexe 6.2.).

Le présent rapport décrit les résultats des analyses pratiquées sur les échantillons de 2015 et 2016 ainsi qu'un échantillon plus ancien de 2005. La question posée est le maintien de la lignée sauvage près de 20 ans après les premières analyses.

2. Echantillonnage

La campagne de pêches de 2015-2016 a pour but de ré-analyser les truites de la Vis afin de confirmer qu'elles ont conservé leur origine autochtone.

La carte ci-dessous localise:

- les 3 échantillons de 2015 (Vis à Alzon, Mas du Pont et Gorniès),
- l'échantillon de 2016 (Vis à Mangechâtaine),
- l'échantillon issu du projet Genetrutta (analyse nationale de la diversité génétique des truites) datant de 2005 (Vis à Blandas)
- deux stations de l'affluent voisin de l'Hérault: l'Arre.



Figure 1: Position géographique des 5 stations de la Vis (rivière en rouge) et des 2 stations de l'Arre. La référence Lergue est fournie par les géniteurs d'origine sauvage maintenus en pisciculture (Pégairolle de l'Escalette).

A ces stations naturelles sont rajoutées six lignées de pisciculture:

- les géniteurs ayant donné la lignée Lergue de la pisciculture de Pégairolle,
- deux lignées de Fontcaude représentant les affluents Lergue et Brèze,
- la lignée locale "Gravezon" de la pisciculture de Babeau,
- la lignée majoritairement méditerranéenne (du Doubs) d'une pisciculture des Alpes Maritimes et
- la lignée commerciale nationale atlantique servant souvent au repeuplement dans toute la France (ici une pisciculture importante de l'Isère).

N° carte	Station	Nbre	Année	Rapport	N° ISEM d'échantillon	N° ISEM d'individu
1	Vis (Alzon)	20	2015	VIS1A	L666	T28612-T28631
2	Vis (Blandas)	33	2011	GT2015	L480	T21829-T21861
3	Vis (Mas du Pont)	20	2015	VIS1A	L668	T28654-T28673
4	Vis (Gorniès)	22	2015	VIS1A	L667	T28632-T28653
5	Vis (pont de Mange-Châtaigne)	13	2016	VIS1	L752	T30247-T30259
6	Arre	30	2011	GAR2	L378	T19692-T19721
7	Coularou (aval)	30	2013	COUL	L086	T24701-T24730
8	Pisciculture Pégairolle (géniteur Lergue)	5	2004	PLERG2	F291	T07682-T07686
9	Pisciculture Foncaude (Lergue)	10	2015	ORB7	L713	T29592-T29601
10	Pisciculture Foncaude (Brèze x Lergue)	10	2015	ORB7	L712	T29582-T29591
11	Pisciculture Babeau (souche Gravezon)	41	2014	ORB6	L619	T27643-T27683
12	pisciculture Babeau (Cauterets 2014)	29	2014	MAE1	L556	T28112-T28140
13	pisciculture Isère	30	2008	GSALM2	L266	T16926-T16955

Tableau 1: Caractéristiques des 4 échantillons nouveaux de la Vis (2015 et 2016) en jaune, des échantillons servant de référence (dont un de la Vis à Blandas de 2011) et 6 références de piscicultures (en gris).

3. Méthodes

3.1. Méthode moléculaire

Chaque truite est caractérisée par son génotype: c'est l'ensemble des variants aux différents gènes (les allèles) légués par son père et par sa mère (donc 2 allèles par gène). Pour des raisons pratiques, les gènes étudiés sont des microsatellites.

Pour la présente étude (étendue géographique limitée), il est préconisé d'analyser 6 locus microsatellites. L'expérience passée a permis de choisir les locus suivants: Omy9, Mst85, SSoSl-311, Omy21Dias, Mst543 et SSoSl-438. L'ensemble des allèles (12) aux locus analysés (6) permet de décrire le génotype de chaque truite.

La génétique des populations appliquée à la gestion des truites nécessite des échantillons de références, généralement déjà analysés par l'ISEM et donc sans frais, de types bien connu (différents types domestiques et sauvages de la région étudiée). Ils permettent de caractériser les nouveaux échantillons par comparaison. Dans le cas du suivi de la Vis, les échantillons de 2015 utilisés dans le rapport VIS1A sont repris. Un autre échantillon de la Vis de 2011 est mis à contribution ainsi que d'autres échantillons de rivières et de piscicultures (Tableau 1).

L'ensemble des truites analysées et des échantillons de référence constituent la matrice de génotypes à la base de tous les calculs permettant de comprendre la structure du cheptel étudié.

3.2. Analyses statistiques

Il est nécessaire de traiter statistiquement la matrice de génotypes pour comprendre la composition, la structure et l'origine des truites nouvellement analysées. Pour cela une suite de trois méthodes est appliquée, largement employées dans les publications scientifiques.

3.2.1. L'analyse multidimensionnelle

C'est la première méthode employée car elle permet un débroussaillage global de l'échantillonnage et des références. L'analyse choisie est l'Analyse Factorielle des Correspondances (AFC), traitée par le logiciel GENETIX, qui permet de placer dans un graphique (simplification d'un hyper-espace) toutes les truites analysées représentées par des points dont la position dépend du génotype: plus deux truites sont génétiquement semblables, plus leur points seront proches sur le graphique, plus deux truites sont différentes et plus ils seront éloignés. Les regroupements de points ou "nuages" correspondent aux lignées présentes dans l'échantillonnage.

3.2.2. L'analyse d'assignation

Plus sophistiquée, l'analyse d'assignation utilise l'intelligence artificielle. Par apprentissage, le logiciel (ici c'est STRUCTURE) teste un grand nombre de découpages de l'échantillonnage en K sous-unités. Sous le modèle du meilleur équilibre génétique populationnel, le logiciel améliore chaque découpage successif pour aboutir à la meilleure solution, qui correspond aux différentes lignées présentes dans l'échantillonnage. Plusieurs niveaux de partition (K) sont testés et le meilleur nombre de sous-groupe est suggéré par un logiciel d'aide à la décision STRUCTURE HARVESTER. Les autres valeurs de K sont cependant étudiées.

3.2.3. L'analyse des paramètres populationnels

Les paramètres populationnels sont nombreux en génétique des populations. Trois d'entre eux ont été choisis (i) les paramètres de diversité génétique des échantillons (H_{nb} , H_o et A), (ii) un paramètre de panmixie (F_{is} : il teste la panmixie: le fait que les truites d'une population se sont reproduites entre elles, ce qui permet de détecter les immigrations comme lors d'un repeuplement) et (iii) la mesure de différenciation génétique entre échantillon pris deux à deux (F_{st}).

4. Résultats et interprétation

4.1. Analyse multidimensionnelle

L'AFC nous montre que les échantillons de la Vis se partagent en deux (Figure 2): la Vis à Alzon qui montre une population proche de celle de l'Arre, affluent voisin, et la Vis à l'aval de la résurgence qui forme une lignée homogène et indépendante de l'Arre, de la Lergue et du Gravezon.

L'analyse semble indiquer que certains échantillons de la Vis (Gornières mais surtout Mange-Châtaigne) subissent une influence soit de l'amont (Alzon), soit de la souche domestique Atlantique. L'analyse d'assignation qui suit sera plus précise sur ce point.

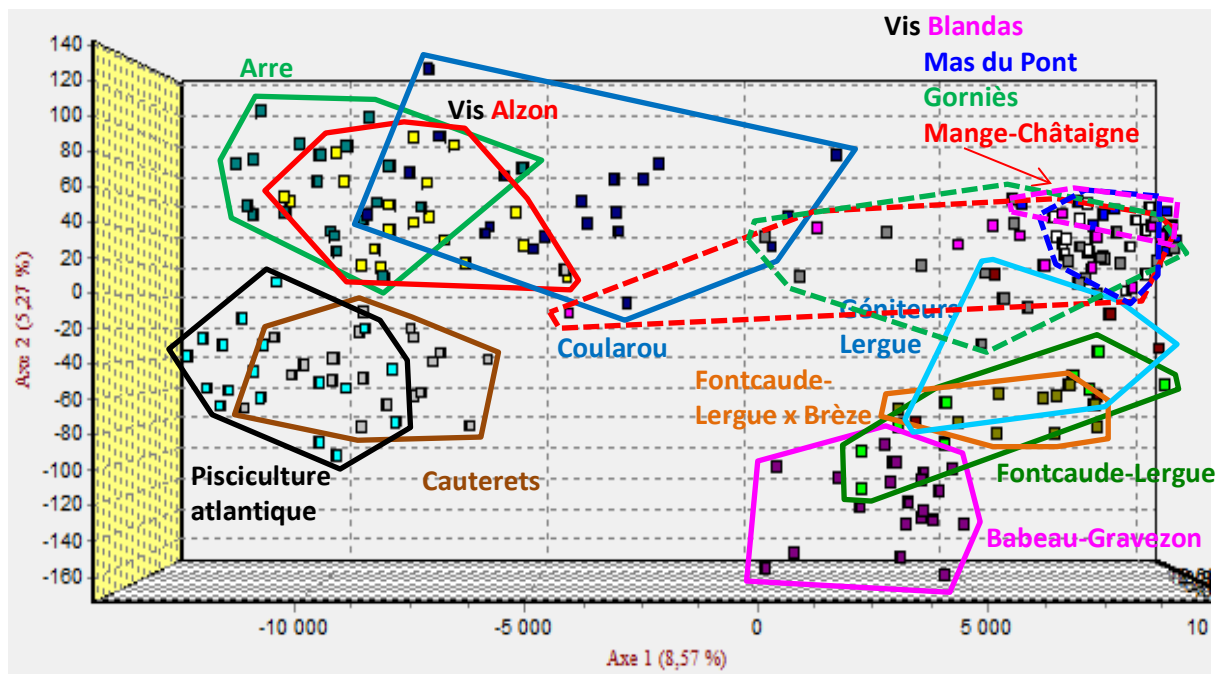


Figure 2: L'analyse multidimensionnelle des 5 stations de la Vis et des échantillons de référence. On remarque une structure en 4 (ou 5) sous-unités: Vis Alzon et Arre en haut à gauche, Vis en haut à droite, Lergue et Gravezon en bas à droite et domestiques atlantiques en bas à gauche. Les couleurs des noms de stations indiquent les couleurs des enveloppes.

4.2. Analyse d'assignation

Cette analyse consiste à découper l'ensemble de l'échantillonnage (ici 222 truites) en K sous-groupes chacun génétiquement le plus homogène possible. Ce découpage se fait sans information de l'origine des truites par intelligence artificielle: le découpage se fait d'abord au hasard et un score est calculé à chaque étape (= la vraisemblance). Quand un découpage augmente la vraisemblance il est accepté, sinon il est rejeté.

Ici 100 000 essais sans enregistrement (burn'in) suivis de 200 000 essais avec enregistrement sont pratiqués pour chaque valeur de K et répétés 5 fois à chaque K.

Le logiciel d'aide à la décision suggère que le découpage en 6 est le plus significatif (K=6). En poursuivant l'analyse, K=7 nous montre que la souche de Cauterets se sépare de la souche atlantique nationale... et en poussant jusqu'à K=8 (solution présentée à la Figure 3) Vis-Alzon et Arre peuvent être séparés (ces deux échantillons sont donc très proches).

Le Tableau 2 chiffre en pourcentages l'histogramme de la Figure 3. Les couleurs des entêtes du tableau reproduisent celles de l'histogramme.

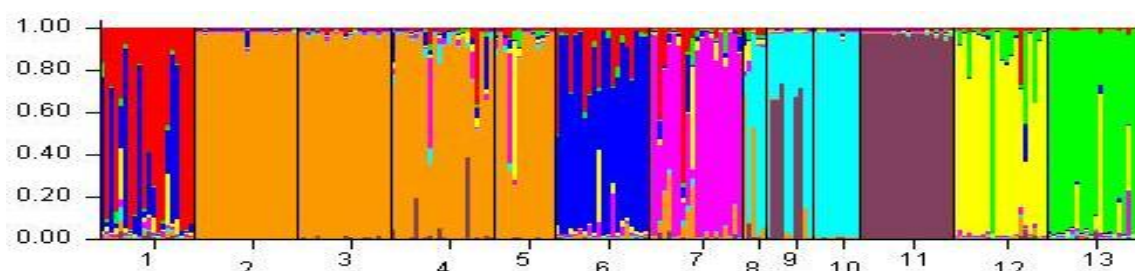


Figure 3: Histogramme présentant les 8 sous-groupes homogènes détectés. L'Annexe 6.1. reproduit les résultats truite par truite avec les mêmes couleurs.

Le Tableau 2 précise les résultats. Concernant les échantillons de la Vis, nous constatons que:

- La population au niveau d'Alzon est totalement différente de celles de la Vis à l'aval de la résurgence. Génétiquement, cette population confirme son origine naturelle, est assez proche de la lignée Arre: elle en comporte 29% (et l'Arre comporte 14% de la lignée Alzon); d'autre part l'assignation à K=7 confond les deux lignées Alzon et Arre.

- La Vis de Blandas à Mange-Châtaigne est très homogène, autochtone méditerranéenne de 83 à 97%.

- Seule la population de Mange-Châtaigne présente une hybridation de l'ordre de 6% avec des gènes provenant de la souche de Cauterets.

- Bien que naturelle à 83%, aucune souche domestique n'y est présente de façon sure.

N° carte	Station	Alzon	Vis	Arre	Coularou	Lergue	Gravezon	Cauterets	Domes- tiques natio- nales
1	Vis (Alzon)	61	1	29	2	1	1	4	2
2	Vis (Blandas)	0	97	1	1	1	0	0	0
3	Vis (Mas du Pont)	1	96	1	1	1	1	0	0
4	Vis (Gornières)	3	83	3	4	2	4	1	1
5	Vis (pont de Mange-Châtaigne)	1	83	1	5	1	1	6	2
6	Arre	14	1	76	3	0	1	3	2
7	Coularou (aval)	8	6	3	74	1	1	4	2
8	Pisciculture Pégairolle (géniteur Lergue)	2	25	2	2	60	2	5	1
9	Pisciculture Foncaude (Lergue)	0	2	0	1	58	37	0	0
10	Pisciculture Foncaude (Brèze x Lergue)	0	0	0	0	97	1	0	0
11	Pisciculture Babeau (souche Gravezon)	0	1	0	0	1	97	0	0
12	pisciculture Babeau (Cauterets 2014)	2	1	2	1	1	1	79	13
13	pisciculture Isère	1	0	1	2	1	1	8	87

Tableau 2: Pourcentages d'assignation des 13 échantillons aux 8 sous-groupes homogènes détectés. Les 5 échantillons de la Vis sont traités de la façon suivante: les cellules correspondant aux assignations majoritaires sont en jaune. Les pourcentages égaux ou inférieurs à 5 sont en gris car peu sûrs: ils peuvent correspondre à un "bruit de fond" de la méthode.

5. Conclusion

La présente analyse est pratiquée 20 ans après la précédente, basée sur les allozymes, qui avait considéré la Vis (dans sa partie aval de la résurgence) comme peuplée de truites purement méditerranéenne (voir Annexe 6.2).

Les nouveaux résultats confirment le maintien de cette population purement méditerranéenne. Le rajout de l'échantillon aval (pont de Mange-Châtaigne) nous montre que cette population méditerranéenne s'étend plus en aval, avec il est vrai une petite hybridation (6%) avec la souche domestique utilisée dans le département.

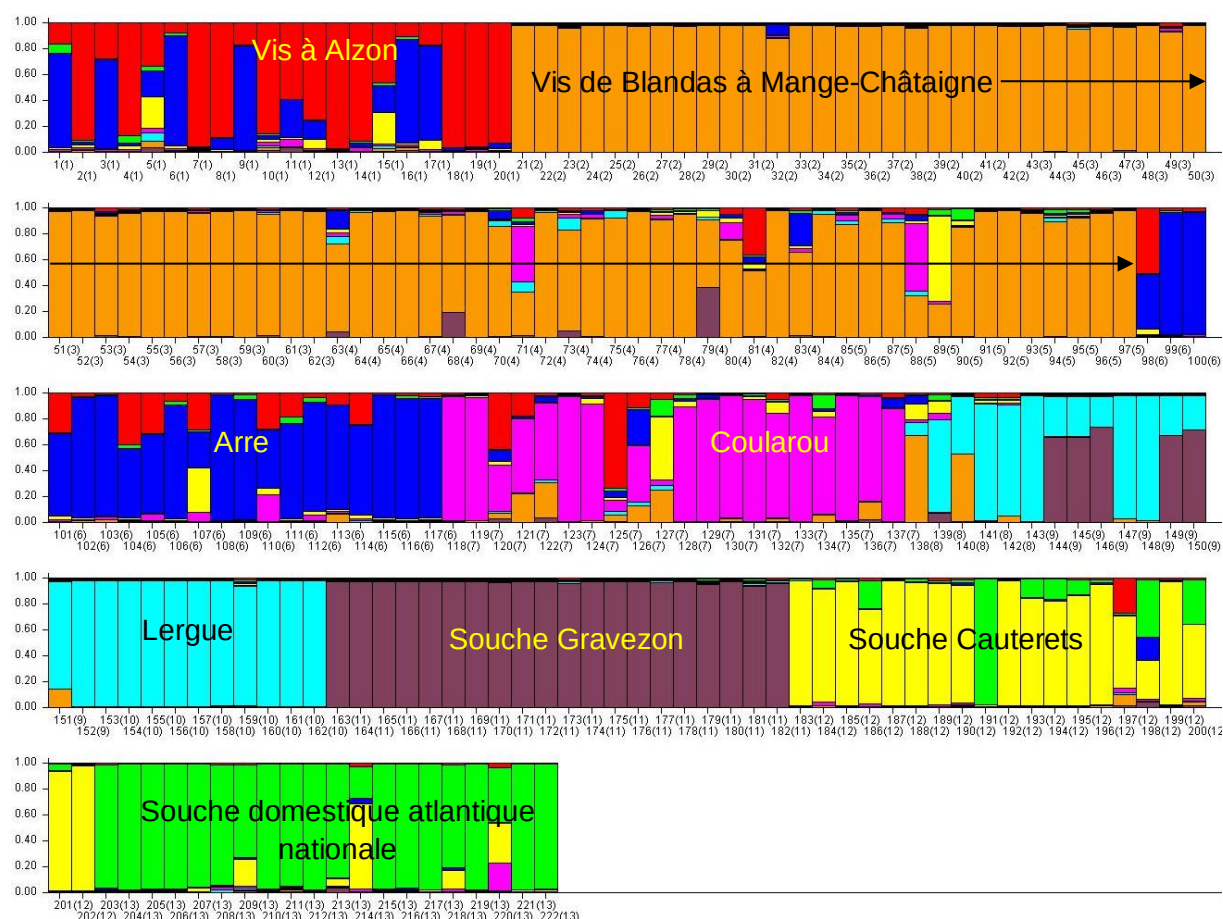
La population au niveau d'Alzon (amont de la zone asséchée) a toujours intrigué et n'est toujours pas clairement caractérisée. Les allozymes la plaçaient parmi les truites atlantiques, mais différentes des truites domestiques. Une hypothèse de capture d'un cours d'eau atlantique (un affluent de la Dourbie) avait été émise. La présente étude la rapproche de l'Arre, ce qui constituerait les restes d'une première invasion commune à plusieurs affluents locaux, la lignée Vis étant arrivée plus tard, à un moment où l'assèchement en amont de la Foux était déjà effectif.

Seule une analyse mitochondriale (séquençage de la Dloop) permettrait de mettre un point final et savoir si la Vis à Alzon (et l'Arre) est peuplée de truite méditerranéennes ou atlantiques.

Fait à Montpellier le 21 décembre 2016

6. Annexes

Annexe 6.1. Analyse d'assignation détaillée (k=8)



Intérêt d'une étude génétique des truites de la Vis

par

Patrick Berrebi

Directeur de Recherche CNRS

Institut des Sciences de l'Evolution

Université Montpellier 2

04 67 14 37 32 - patrick.berrebi@univ-montp2.fr

A la suite de la première réunion du comité scientifique de l'association La Vis, Vallée Nature, à Gornières le 10 juillet 2012, il est apparu nécessaire d'établir le statut exact de la population de truites de la Vis

Pourquoi la truite?

Cette espèce est très populaire car le plus en contact avec la population. Elle est considérée comme un habitant des parties supérieures des cours d'eau, exigeante en qualité de l'eau, en alimentation, en fraîcheur thermique et en nourriture sauvage: elle atteste donc de la qualité des rivières. D'autre part elle représente un intérêt à la fois patrimonial (on parle de forme locale par opposition à une forme domestique importée considérée comme moins intéressante) et halieutique (capturer une truite apporte un plus de prestige et d'adresse, mais aussi une richesse alimentaire et gastronomique non négligeable).

Dans le cadre de l'intérêt patrimonial, il est intéressant de noter que plusieurs études ont été faites dans le passé et font l'objet de la présente synthèse.

Pourquoi la génétique?

La génétique des populations est une science récente qui reprend les concepts de la génétique qui existe depuis des siècles, mais qui utilise les progrès récents de la science pour développer de nouvelles capacités de diagnostic grâce à la biologie moléculaire. Les marqueurs moléculaires sont capables de distinguer tout type de truites avec une haute précision. Elle se prête donc bien aux questions de reconnaissance des formes ancestrales (naturelles) par rapport aux formes importées (le plus souvent de pisciculture)

Quel choix des marqueurs?

Les marqueurs employés jusqu'aux environs de l'an 2000 étaient les allozymes. Ces marqueurs avaient trois inconvénients majeurs: ils nécessitaient de sacrifier les truites, il fallait une chaîne du froid sans faille et ils ne pouvaient pas distinguer plus, dans le contexte de la Vis, qu'entre origines méditerranéenne ou atlantique des spécimens étudiés. Ce sont ces marqueurs allozymiques qui ont servi aux études de la Vis en 1995 et 1997.

Depuis, l'emploi des microsatellites a permis un progrès considérable: il suffit de prélever la pointe d'une nageoire de truite (qui peut être relâchée sans dommage) et l'analyse moléculaire permet une précision beaucoup plus importante puisqu'on a déjà répertorié des dizaines de lignées génétiques rien qu'en zone méditerranéenne française.

Résultats déjà acquis

C'est en 1994, par la double impulsion de l'AAPPMA "La Gauloise" de Lodève (président R. Ramondenc) et de l'association ADESV (Association pour la Défense de l'Eau et des Sites de la Vis, président R. Boniface) que des captures de truites ont été réalisées à la

ligne dans les zones de S1 à S4 indiquées dans la Figure 1, plus un site au niveau d'Alzon (où les eaux s'enfoncent dans le calcaire) et de Grenouillet (hors carte, à droite)



Figure 1 : principaux échantillons de 1994 et 95 (modifié d'après Cambon et Berrebi 1998).

Les résultats allozymiques ont montré que les stations entre le barrage EDF et Grenouillet étaient entièrement méditerranéenne dans les années 95. Par contre, en remontant vers l'amont, on trouve de plus en plus de formes atlantiques (Tableau 1).

Des travaux non publiés sur les truites atlantiques de la Haute Vis (Alzon) ont permis de proposer l'hypothèse d'une origine naturelle. Si c'était le cas, il s'agirait d'une capture de rivière (et de ses truites), la Haute Vis coulant vers la Dourbie (affluent du Tarn) en des temps anciens. Mais la "pauvreté" des informations fournies par les allozymes n'ont pas permis de l'affirmer.

Station	Date	Nombre de truites	Pêcheurs	% de formes méditerranéennes
Alzon (amont + aval)	juillet 1995	10	La Gauloise	75%
S1 "résurgence"	juillet/août 1994	10	La Gauloise	90%
S2 "amont cascade"	juillet/août 1994	8	ADESV	100%
S3 "aval cascade"	juillet/août 1994	10	ADESV	100%
S4 "Mas del Pont"	juillet/août 1994	10	La Gauloise	100%
Grenouillet	juillet 1995	10	La Gauloise	100%

Tableau 1 : résultats génétiques sur échantillons de 1994.

Références bibliographiques

Ceci est la liste exhaustive des publications de génétique des populations dans lesquelles la Vis apparaît. Cependant,

- les rapports de 1995 b et c sont identiques en ce qui concerne la Vis (a est préliminaire)
- le texte de 1997 est une vulgarisation des résultats de 1995

Berrebi, P. (1995a). Etude génétique des truites des affluents du haut Hérault : Vis, Brèze, Laurounet et Lergue - Rapport préliminaire janvier 1995.

Berrebi, P. (1995b). Etude génétique des truites des affluents du haut Hérault : Vis, Brèze, Laurounet et Lergue. Université Montpellier II.

Berrebi, P. (1995c). Etude génétique des truites des affluents du Haut Hérault : Vis, Brèze, Laurounet, Lergue et Soulongre. Rapport technique. Université Montpellier II.

Cambon, D., and Berrebi, P. (1997). Aider la nature, ne pas la forcer - Les enseignements de l'analyse génétique des truites de la Vis. *Arborescence* 70.

Cambon, D., and Berrebi, P. (1998). Etude génétique et morphologique des truites des affluents du Haut Hérault : Vis et Lergue. Office National des Forêts.