

ANALYSE GENETIQUE DE 29 TRUITES
DU LAC D'ANNECY

RAPPORT 1995

Patrick BERREBI, septembre 1995

Laboratoire GENOME ET POPULATIONS
Université Montpellier 2
CC063
place E. Bataillon
34095 MONTPELLIER CEDEX 05

ANALYSE GENETIQUE DE 29 TRUITES DU LAC D'ANNECY

RAPPORT 1995

Le rapport que vous avez entre les mains est le compte rendu de recherches commandées au Laboratoire Génome et Populations par un organisme demandeur. Il ne s'agit donc pas d'une publication scientifique proprement dite.

La propriété des données décrites ici est double : elles appartiennent à l'organisme demandeur de l'étude et aux scientifiques producteurs des données. Cette double propriété entraîne des obligations : l'ensemble ou une partie de ce document ne peut être reproduit sans l'accord des deux parties, et en particulier, toute reproduction des données de ce rapport par la presse doit faire l'objet d'un accord des deux parties.

Introduction

Le 10 juillet 1995, un échantillon de truites du lac d'Annecy était porté par le docteur D. Gerdeaux (INRA Thonon) au laboratoire Génome et Populations (URA 1493 du CNRS, Université Montpellier II) pour analyse.

Cet échantillon comprenait trois organes par poisson (un oeil, un morceau de foie et de muscle). Ces truites avaient été pêchées à la ligne dans le lac durant un laps de temps assez long (au moins une année). L'analyse a été demandée par "Annecy Lac Pêche". Elle a été réalisée à Montpellier par G. Cattaneo-Berrebi (technicienne) et les résultats interprétés par P. Berrebi (chercheur).

La méthode

La méthode choisie est l'électrophorèse des protéines enzymatiques sur gel d'amidon horizontal. Cette technique permet de séparer les différents types de protéines enzymatiques (les allozymes) en fonction de leur charge électrique. La connaissance de la composition allozymique de nombreuses populations naturelles et domestiques de truites permet au laboratoire d'interpréter les résultats.

Les organes sont homogénéisés au broyeur en présence d'un tampon stabilisateur. Après centrifugation en présence d'un dégraissant (CCl₄), le surnageant limpide est récupéré, c'est l'extrait enzymatique. Ces extraits (un par poisson et par organe) sont ensuite déposés sur le gel d'amidon qui est mis sous tension. Les molécules se déplacent dans ce champ durant 2 à 4 heures suivant le marqueur recherché. Le gel est ensuite découpé en tranches minces et coloré avec des réactifs spécifiques des systèmes enzymatiques recherchés.

14 systèmes enzymatiques ont été révélés dans les différents organes. Ils ont permis de lire 30 locus différents qui sont autant de marqueurs (voir tableau).

Les lectures permettent de décompter les différentes formes (ou allèles) à chaque locus. Les fréquences de ces allèles sont les données de base pour l'interprétation.

A titre comparatif, les fréquences alléliques d'un échantillon de pisciculture et d'un échantillon méditerranéen pur (Vaucluse) sont présentées sur le tableau.

Remarques :

Après utilisation des échantillons, il semble que les organes aient subi de mauvaises conditions de conservation.

Dans l'éventualité de nouvelles analyses, nous conseillons la méthode suivante :

environ un gramme de muscle et de foie (l'équivalent de la première phalange de l'index) ainsi qu'un oeil (pour les grosses truites) doivent être conservés dans un carré d'aluminium ménager avec un numéro d'identification écrit au crayon ou au feutre indélébile sur du bristol. La congélation doit se faire au plus tard quelques heures après la mort de la truite : 2 à 3 heures si la température ambiante est inférieure à 20°C, moins si il fait chaud. Il est toujours conseillé de prévoir de la glace dans un récipient isotherme. Une fois congelés, les organes ne doivent jamais être décongelés avant analyse. Nous déconseillons la conservation des échantillons dans un congélateur ménager pendant plus de 2 mois. Nous possédons au laboratoire des congélateurs à -80°C et il est préférable de faire plusieurs livraisons au laboratoire si la pêche doit s'étaler sur de nombreux mois.

Résultats et interprétation

Les truites françaises sont divisées en deux groupes principaux selon qu'elles vivent naturellement dans un bassin coulant vers l'Atlantique (forme atlantique ou "moderne") ou vers la Méditerranée (forme méditerranéenne ou "ancestrale"). Les truites de pisciculture sont toutes d'origine atlantique (création des souches au début du siècle à partir de truites sauvages du nord de l'Europe).

Ces deux formes se reconnaissent d'abord grâce au marqueur **LDH-5*** de l'oeil qui présente l'allèle **90** en Atlantique et l'allèle **100** en Méditerranée. Les truites du lac d'Annecy devraient posséder exclusivement l'allèle 100 du fait de l'appartenance du lac à un bassin méditerranéen. Nous considérons donc que toute présence d'allèles 90 est due aux déversements de truites de souches de pisciculture.

Selon le tableau, les truites du lac seraient génétiquement composées d'un mélange d'environ 45% de truites autochtones (truites méditerranéennes naturelles, porteuses de l'allèle LDH-5*(90) et 55% de truites d'origine domestique. L'observation des génotypes (voir grand tableau en fin de rapport) montre qu'il n'y a pas juxtaposition des deux formes mais mélange (hybridation) : les truites déversées, en lac ou en rivière, ont participé à la reproduction naturelle.

Le marqueur **FBP-1*** est également un bon séparateur des deux formes, mais il faut le tester préalablement dans la région d'analyse, ce qui n'a pas été fait. Nous le considérons donc comme moins sûr. Les truites méditerranéennes sont porteuses de l'allèle 150 tandis que les truites de pisciculture portent essentiellement l'allèle 100. Comme le montre le tableau, cette règle souffre des exceptions. Selon ce marqueur, les truites du lac comprendraient 30% de gènes

locus	allèles	Annecy	Pisciculture type	Population Méditerr.
<i>AAT-1*</i>	130	0	0,050	0
	100	1	0,950	1
<i>AAT-2*</i>	100	1	1	1
<i>AAT-4*</i>	100	1	0,700	1
	65	0	0,300	0
<i>ADH*</i>	100	1	1	1
<i>CK1*</i>	125	0,191	0,200	1
	100	0,809	0,800	0
<i>CK2*</i>	100	1	1	1
<i>CK3*</i>	100	1	1	0,983
	87	0	0	0,017
<i>FBP-1*</i>	150	0,310	0,267	0,967
	100	0,690	0,733	0,033
<i>FBP-2*</i>	100	1	1	1
<i>FH-1*</i>	135	0	0,583	0
	100	1	0,417	1
<i>IDH-1*</i>	100	1	1	1
<i>IDH-2*</i>	100	1	1	1
<i>IDH-3*</i>	100	1	1	1
<i>IDH-4*</i>	100	1	1	1
<i>LDH-1*</i>	100	1	1	1
<i>LDH-3*</i>	100	1	1	1
<i>LDH-4*</i>	100	1	1	1
<i>LDH-5*</i>	100	0,440	0,033	1
	90	0,560	0,967	0
<i>MDH-1*</i>	100	1	1	1
<i>MDH-2*</i>	200	0,569	0,300	0
	100	0,431	0,518	1
	nul	0	0,182	0
<i>MDH-3*</i>	130	0,017	0	0
	100	0,742	0,600	1
	75	0,241	0,400	0
<i>MDH-4*</i>	100	1	1	1
<i>MPI*</i>	105	0,172	0,433	0,050
	100	0,828	0,567	0,950
<i>G3PDH-2*</i>	100	0,862	0,783	1
	50	0,138	0,217	0
<i>6PGDH*</i>	100	1	1	1
<i>GPI-1*</i>	100	1	1	1
<i>GPI-2*</i>	200	0	0,017	0,017
	100	1	0,983	0,983
<i>GPI-3*</i>	100	1	1	1
<i>PGM*</i>	100	0,966	1	1
	90	0,034	0	0
<i>SOD*</i>	100	1	1	1

Tableau des fréquences alléliques pour les 29 truites du lac d'Annecy et pour un échantillon type de pisciculture et un échantillon type du bassin méditerranéen (Vaucluse). Les locus informatifs pour l'échantillon du lac sont en gras.

méditerranéens et 70% de gènes atlantiques. Pour les raisons exposées plus haut, il faut modérer ces chiffres.

Les autres marqueurs polymorphes dans le lac (en gras dans le tableau) nous indiquent aussi certaines ressemblances entre l'échantillon du lac et les deux échantillons types :

- les marqueur *AAT-4**, *FH-1** et *MPI** de l'échantillon du lac présentent plutôt des fréquences proches de celles de l'échantillon méditerranéen type,
- les marqueurs *CK-1**, *MDH-2**, *MDH-3** et *G3PDH-2** de l'échantillon du lac présentent plutôt des fréquences proches de celles de l'échantillon domestique type,
- les autres marqueurs sont peu ou pas polymorphes et ne permettent aucune interprétation.

Remarque

Ces marqueurs (allozymes) ne sont que des marqueurs! Cela signifie qu'on ne peut les utiliser que de façon statistique. Dans les résultats fournis par le présent rapport, seul LDH-5 est un marqueur fiable de l'impact des repeuplements (nous disons "marqueur diagnostique"). Mais c'est un marqueur global du lac et non de la truite analysée. Si il indique par exemple une origine méditerranéenne (génotype 100100), cela ne signifie pas que la truite qui la porte est 100% méditerranéenne, elle est probablement génétiquement mélangée. Par contre, la totalité des truites porteuses de ce génotype dans l'échantillon, sont en moyenne probablement plus méditerranéennes que les truites porteuses du génotype atlantique (90090).*

On peut se demander, par exemple, si les truites méditerranéennes ont une meilleure croissance que les truites atlantiques. Pour cela, il faut comparer les moyennes des croissances des sous-échantillons porteurs de chaque type de génotype. Il faut ensuite démontrer que la différence observée est fiable (significative), par des tests statistiques.

En conclusion :

Les fréquences observées sont typiques de la truite *fario*, telle qu'on la trouve dans tous les cours d'eau méditerranéens français. Rien ne permet donc de considérer cette truite de lac comme différente, génétiquement, des truites de rivière voisines.

L'ensemble des résultats confirme donc une composition mixte de l'échantillon du lac d'Annecy avec une légère dominance de la forme atlantique d'origine domestique. Nous considérons donc que la truite méditerranéenne originelle est encore présente à un taux d'environ 40% dans le lac.

annexe : tableau détaillé des analyses

N° labo	LDH 1	LDH 3	LDH 4	LDH 5	MDH 1	MDH 2	MDH 3	MDH 4	MPI	G3PDH2	6 PGD	PGI 1	PGI 2	PGI 3	PGM	SOD 1
3041	100100	100100	100100	90100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100
3042	100100	100100	100100	90100	100100	100200	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100
3043	100100	100100	100100	90100	100100	200200	75075	100100	100100	50100	100100	100100	100100	100100	100100	100100
3044	100100	100100	100100	90100	100100	100200	100130	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100
3045	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100
3046	100100	100100	100100	90090	100100	100200	75100	100100	100105	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100
3047	100100	100100	100100	90100	100100	200200	75100	100100	100105	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100
3048	100100	100100	100100	90100	100100	100200	75100	100100	100105	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100
3049	100100	100100	100100	100100	100100	100200	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100
3050	100100	100100	100100	90090	100100	200200	75100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100
3051	100100	100100	100100	100100	100100	200200	100100	100100	100100	50100	100100	100100	100100	100100	100100	100100
3052	100100	100100	100100	90100	100100	100200	75100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100
3053	100100	100100	100100	90100	100100	100200	75100	100100	100105	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100
3054	100100	100100	100100	90090	100100	100200	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100
3055	100100	100100	100100	100100	100100	100200	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100
3056	100100	100100	100100	100100	100100	100200	100100	100100	100100	50100	100100	100100	100100	100100	100100	100100
3057	100100	100100	100100	90090	100100	100200	100100	100100	100100	50100	100100	100100	100100	100100	100100	100100
3058	100100	100100	100100	100100	100100	200200	75075	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100
3059	100100	100100	100100	90090	100100	200200	75100	100100	105105	50100	100100	100100	100100	100100	100100	100100
3060	100100	100100	100100	90100	100100	200200	75100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100
3061	100100	100100	100100	90100	100100	200200	75100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100
3062	100100	100100	100100	100100	100100	100200	100100	100100	100105	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100
3063	100100	100100	100100	100100	100100	100200	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100
3064	100100	100100	100100	90090	100100	100200	75100	100100	100105	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100
3065	100100	100100	100100	90100	100100	100200	75100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100
3066	100100	100100	100100	90090	100100	100200	100100	100100	100100	50100	100100	100100	100100	100100	100100	100100
3067	100100	100100	100100	100100	100100	100200	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100
3068	100100	100100	100100	90090	100100	200200	100100	100100	100100	50100	100100	100100	100100	100100	100100	100100
3069	100100	100100	100100	90100	100100	100200	100100	100100	100105	100100	100100	100100	100100	100100	100100	100100