

**ANALYSE GENETIQUE DES
TRUITES DE SLOVENIE**
marqueurs enzymatiques

RAPPORT 1994

mars 1995

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

Introduction

L'analyse génétique des truites de Slovénie a fait l'objet d'un rapport édité en juin 1994. Quatre sites du bassin de la Soca et un site du bassin du Danube avaient été analysés par des marqueurs enzymatiques.

La seconde partie de l'étude, justifiant le présent rapport, a été confiée en 1994 au Laboratoire Génome et Populations de l'Université Montpellier II par la Fondation Tour du Valat au Sambuc (Arles, France).

Les captures ont été assurées par la Confrérie des Pêcheurs de Tolmin (Ribiška Druzina Tolmin) et par l'Institut de Recherche sur les Pêches de Ljubljana (Zavod za Ribištvo Ljubljana); les prélèvements ont reçu le concours d'Alain Crivelli et de Dominique Beaudou. Les analyses et les lectures de gels ont été effectuées par Ghislaine Cattaneo-Berrebi, l'interprétation et la rédaction par Patrick Berrebi.

L'objectif global de ce travail est la recherche de peuplements génétiquement purs de truites marbrées dans la région de Tolmin. La "pureté génétique" est ici définie par opposition aux mélanges artificiels dus à l'homme avec des souches diverses de truites *fario*. Dans le rapport précédent, deux sites ayant ces propriétés avaient été confirmés (rivières Zadlaščica et Trebuščica). Dans la présente étude, les objectifs ont été plus complexes :

- rechercher de nouvelles populations de pures truites marbrées;
- étalonner les résultats génétiques précédents avec des "échantillons types" de truites marbrées d'Italie (Tagliamento, échantillon aimablement fourni par le Professeur Mario Specchi de Trieste), de truites *fario* du Danube (Bistrica), de truites *fario* méditerranéennes (Sorgue) et de truite atlantiques de pisciculture (Fontanelles), ces deux derniers échantillons sont utilisés avec l'autorisation de la Fédération des AAPPMA du Vaucluse.

- enfin, connaître la stabilité des estimations d'introgression dans la Soca entre novembre 1993 et juin 1994 (Volarja).

METHODES EMPLOYEES

16 systèmes enzymatiques ont été analysés, fournissant 32 locus présomptifs. Parmi ceux ci, 16 se sont montrés polymorphes sur l'ensemble de l'échantillonnage pris en compte.

Les sites retenus pour la présente analyse sont ceux de novembre 1993 (5 sites) augmentés des échantillons de juin 1994 (6 sites), d'un échantillon italien et de deux français. Le détail de ces échantillons sont donnés dans le tableau 1 (noms des sites, nombre de truite par site) et leur localisation à la figure 1.

Le tableau 1 indique en outre les fréquences alléliques de l'ensemble des échantillons des deux années d'étude.

Pour synthétiser les résultats et en particulier pour utiliser l'information contenue dans les locus polymorphes non diagnostiques, des analyses multidimensionnelles (AFC) ont été effectuées en prenant les allèles comme variables.

RESULTATS ET INTERPRETATION

Analyse du tableau de fréquence (tableau 1)

Le tableau de fréquence ci-joint reproduit l'ensemble des données obtenues, présentées sous forme synthétique. Le détail des résultats bruts, poisson par poisson, est donné dans le grand tableau en annexe à la fin du rapport.

Pour cette deuxième tranche d'analyses, le locus *TF** a été rajouté. Il est obtenu à partir du sérum sanguin après centrifugation sur le terrain. Seuls les échantillons de la seconde campagne ont bénéficié de ce marqueur supplémentaire (plus 5 truites de la première campagne). Son intérêt est comparable à celui de la *LDH-5** : c'est un excellent marqueur des trois groupes de truites susceptibles de participer aux populations échantillonnées : les truites marbrées (*Salmo trutta marmoratus*) portent l'allèle 75 et les truites fario (*Salmo trutta fario*) de Méditerranée (allèle 102) et de l'Atlantique (allèle 100).

En utilisant les méthodes de calcul déjà exposées (voir rapport 1994, tableau page 10) et en utilisant l'information supplémentaire fournie par le marqueur *TF**, il est possible d'attribuer à chaque échantillon un pourcentage précis des trois origines génétiques possibles.

* Dans un premier temps, le taux de gènes *marmoratus* est calculé comme la valeur moyenne pour les locus *AAT-1**, *LDH-5**, *SOD** et *TF** quand ce dernier a été analysé. Ces valeurs sont celles des 4 premières colonnes du tableau 2.

* A partir des pourcentages d'allèles "non *marmoratus*" des marqueurs *LDH-5** et *TF** (quatre dernières colonnes), il est possible de calculer le pourcentage de gènes des deux autres origines.

Cette méthode de calcul permet de connaître la participation, en terme de "pourcentage de gènes présents dans l'échantillon", des truites marbrées, *fario* méditerranéennes et *fario* atlantique. Le tableau 3 récapitule ces valeurs. Les faibles différences avec le tableau de la page 10 du rapport de 1994 sont dues au complément d'analyses que nous avons pu faire sur les échantillons de la première campagne.

origine	mar	mar	mar	mar	med	med	atl	atl
locus	<i>AAT1*</i>	<i>LDH-5*</i>	<i>SOD*</i>	<i>TF*</i>	<i>LDH-5*</i>	<i>TF*</i>	<i>LDH-5*</i>	<i>TF*</i>
allèle	130/180	120	50	75	105	102	100	100
ISCICA	0.11	0.02	0	-	0.22	-	0.76	-
ZADLASCICA	0.98	-	1	-	-	-	0	-
TREBUSCICA	0.98	0.96	1	1	0.04	0	0	0
BACA	0.3	0.25	0.39	-	0.39	-	0.36	-
VOLARJA 93	0.56	0.28	0.41	-	0.34	-	0.38	-
BISTRICA	0.03	0	0	0.04	0.75	0.7	0.25	0.27
VOLARJA 94	0.32	0.37	0.48	0.58	0.23	0.08	0.4	0.33
ICJA	0.9	0.38	0.77	0.74	0.5	0.16	0.13	0.1
STUDENC	1	1	0.98	1	0	0	0	0
LIPOVSCEK	1	1	1	1	0	0	0	0
HUDA GRAPA	1	1	1	1	0	0	0	0
TAGLIAMENTO	0.75	0.5	0.92	-	0.5	-	0	-
SORGUE	0	0	0	0	1	1	0	0
FONTANELLES	0.05	0	0	0	0.03	0	0.97	1

Tableau 2 : calculs intermédiaires des taux d'introgession. mar = *marmoratus*, med = *fario* de Méditerranée, atl = *fario* atlantique.

	<i>marmoratus</i>	<i>fario</i> Méditerranée	<i>fario</i> Atlantique
Stations d'amont du bassin de la Soca			
ZADLASCICA 93	99%	1%*	0%
TREBUSCICA 93	98%	2%	0%
ICJA 94	70%	18%	12%
STUDENC 94	99%	1%*	0%
LIPOVSCEK 94	100%	0%	0%
HUDA GRAPA 94	100%	0%	0%
Station basses du bassin de la Soca			
BACA 93	31%	36%	33%
VOLARJA 93	42%	27%	31%
VOLARJA 94	44%	17%	39%
Bassin du Tagliamento			
TAGLIAMENTO 94	72%	28%	0%
Bassin du Danube			
ISCICA 94	4%	22%	74%
BISTRICA 94	2%	72%	26%
Bassin du Rhône			
SORGUE 94	0%	100%	0%
Pisciculture			
FONTANELLES 94	1%	1%	98%

Tableau 3 : récapitulation des estimations des taux d'introgession des 14 échantillons considérés dans l'analyse. Les valeurs marquées par une astérisque sont des extrapolations : dans ces populations de truites marbrées presque pures, il n'était pas possible d'attribuer le 1% d'introgession à une origine méditerranéenne ou atlantique. Par analogie au cas de la Trebušcica, nous avons considéré qu'une introgession d'origine méditerranéenne était plus probable.

Interprétation des Analyse Factorielles des Correspondances (figures 2 et 3).

Quatre analyses factorielles des correspondances ont été réalisées :

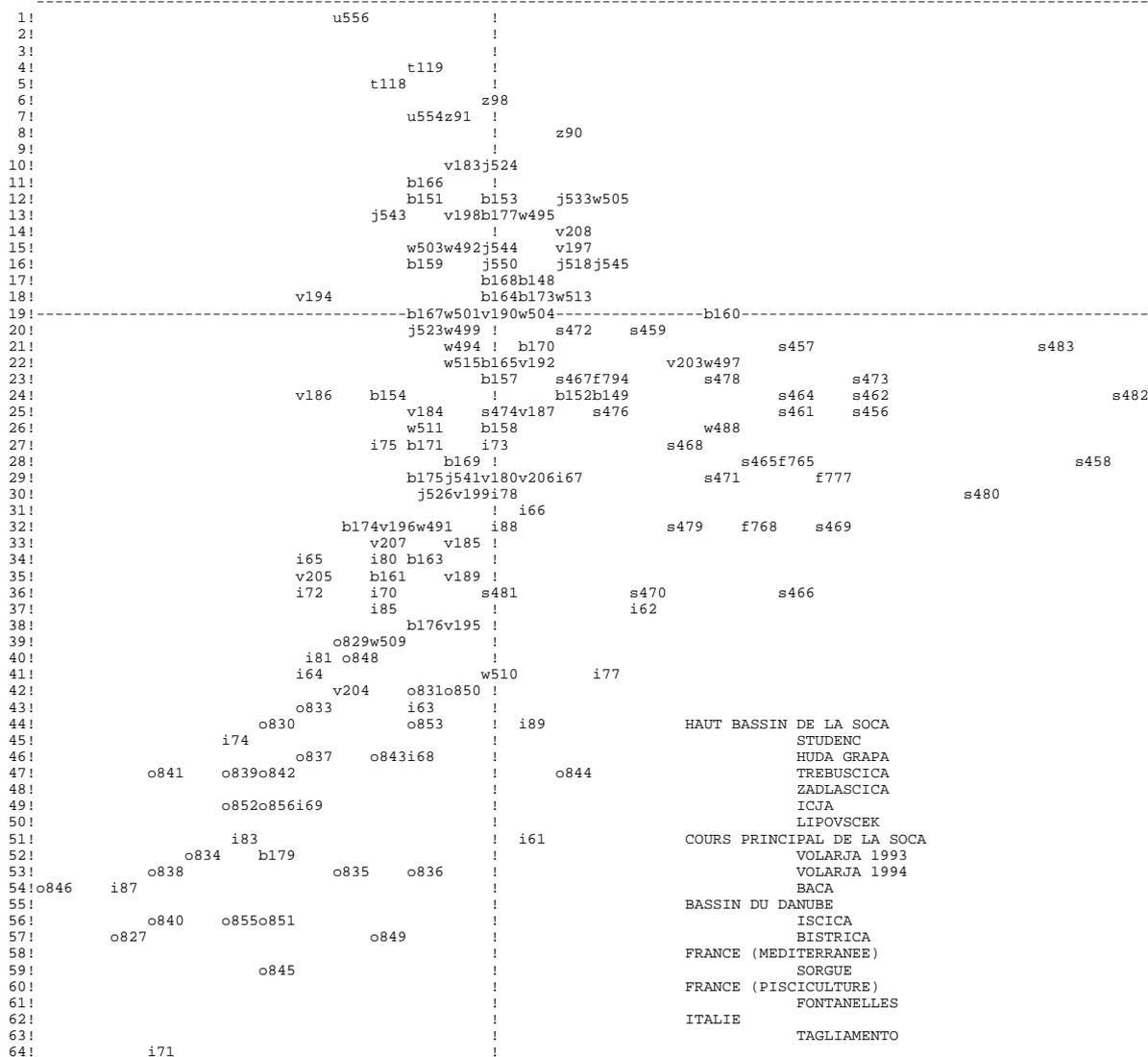
- analyse 1 : Slovénie + Italie + France sans le marqueur *TF** (ce marqueur n'avait pas été pris en compte lors de la première campagne. Pour pouvoir analyser simultanément les 14 échantillons, il est nécessaire de le retirer pour avoir le même nombre de variables)
- analyse 2 : Slovénie + France avec le marqueur *TF** (ceci limite l'analyse aux 7 échantillons de la seconde campagne + les deux français)
- analyse 3 : Slovénie + Italie sans le marqueur *TF** (ceci afin de voir si les échantillons de France perturbent l'analyse)
- analyse 4 : Slovénie seule avec le marqueur *TF** (*idem*)

L'ensemble des images fournies par les quatre analyses sont parfaitement cohérentes : les points se répartissent sous l'influence des trois pôles que sont les truites marbrées, les truites *fario* méditerranéennes et les truites *fario* atlantiques.

Nous ne présentons ici que l'analyse 1 qui a l'avantage d'inclure tous les échantillons, mais le désavantage de ne pas utiliser le marqueur *TF**. Cependant, du fait de la parfaite corrélation entre *TF** et *LDH-5**, cela n'implique pas de modification importante. La figure 2 représente la distribution des individus et la figure 3 celle des variables (allèles). La comparaison des deux projections a une valeur explicative : elle indique quelles sont les variables responsables du classement.

Nous observons sur la figure 2 que

- seuls les échantillons de tête de bassin de la Soca se limitent au pôle *marmoratus* : Studenc, Huda Grapa, Trebuscica, Zadlascica et Lipovscek;
- l'enveloppe de l'échantillon de la rivière Icja est fortement allongé vers les deux autres pôles (18% de *fario* méditerranéenne et 12% de *fario* atlantique selon l'estimation du tableau 3);
- le petit échantillon italien est certes majoritairement *marmoratus* (confirmant la ressemblance entre marbrées de Slovénie et d'Italie) mais son enveloppe s'allonge légèrement vers le pôle *fario* méditerranéen montrant par là une introgression;
- l'échantillon danubien de Slovénie (Bistrica) est très nettement de type *fario* méditerranéen puisque l'échantillon français de la Sorgue lui est totalement superposé. L'introgression, provenant essentiellement de truites *fario* atlantique, est certainement artificielle. Les truites du Danube sont analysées pour la première fois ici par des marqueurs allozymiques. Bien que se jetant en Mer Noire, le Danube serait donc peuplé de truites proches des *fario* méditerranéennes, la seule différence notable étant l'allèle *AAT-4*80* en fréquence modérée, non observé ailleurs;



NOMBRE DE POINTS REPRESENTES 158
 NOMBRE DE POINTS SUPERPOSES NON REPRESENTES: 234

Figure 2 : analyse factorielle des correspondances de l'ensemble des truites prises en compte (392 individus). Les enveloppes d'équiprobabilité s'allongent selon trois directions : le taxon *marmoratus* en haut, le taxon *fario* méditerranéen à droite, le taxon *fario* atlantique en bas à gauche. Ainsi, chaque échantillon (enveloppes de couleur) se partage entre ses différentes composantes.

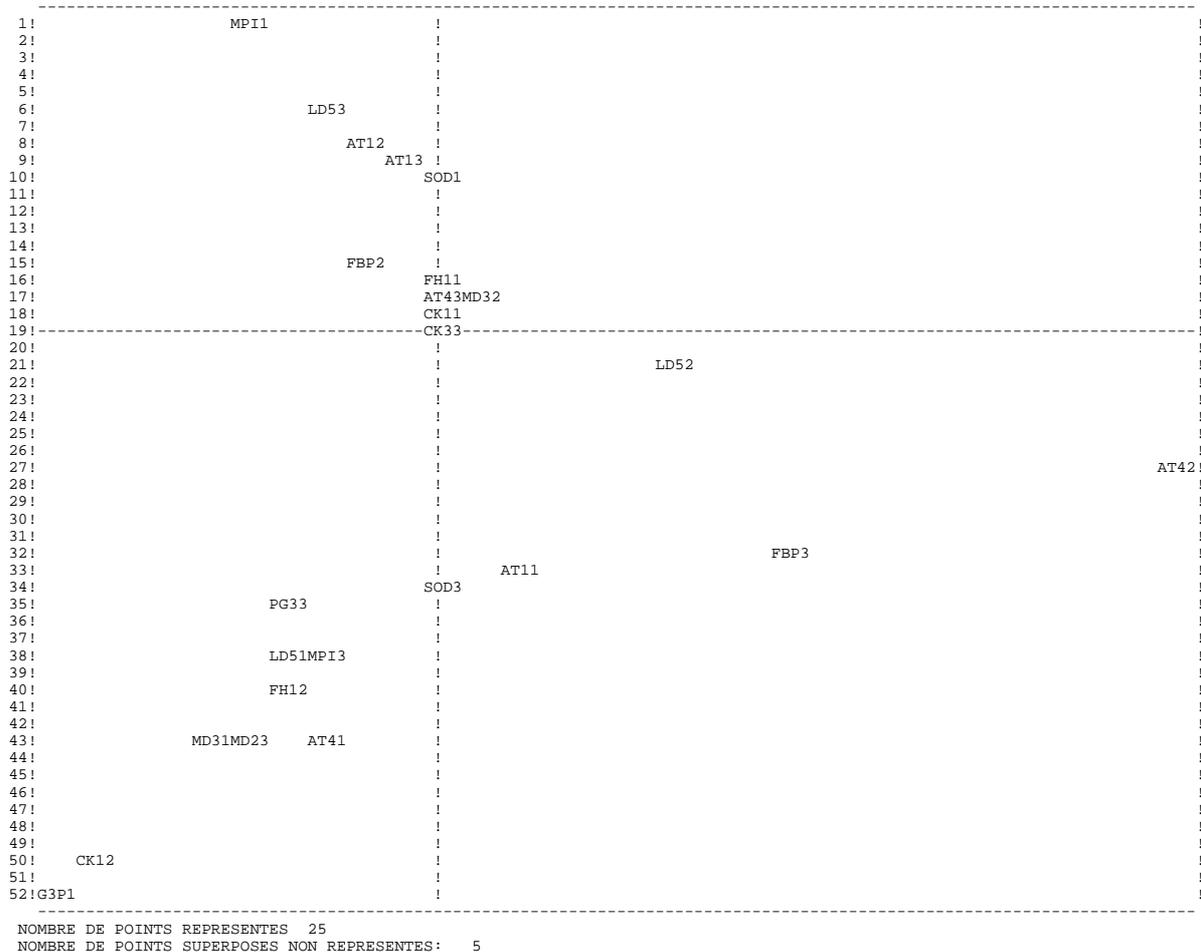


Figure 3 : projection des variables (allèles) responsables de la discrimination des enveloppes de la figure précédente (même analyse).

Pour retrouver le nom des allèles à partir des sigles de cette figure, se reporter au tableau 1 : le dernier chiffre du sigle correspond au numéro d'ordre de l'allèle (exemple : **LD52** est le second allèle du locus *LDH-5** c'est à dire l'allèle 105)

Les allèles encadrés appartiennent à des locus diagnostiques; les allèles soulignés ne sont pas diagnostiques mais, étant caractéristiques d'un des trois type de truites, ils permettent de moduler l'étendue de chaque enveloppe.

- l'échantillon de la rivière Iscica, déjà analysé dans le rapport de 1994, confirme sa très forte introgression d'origine *fario* atlantique de pisciculture (estimé à 72%) comme l'indique la superposition des enveloppes Iscica et Fontanelles;

- comme attendu, les échantillons proches du bassin principal de la Soca (Volarja de 1993 et 1994, Baca) sont très centrés dans le graphique, montrant leur composition quasi équilibrée en gènes des trois origines. Le tableau 3 nous indique qu'ils sont composés en moyenne de 39% de *marmoratus*, 27% de *fario* méditerranéenne et 34% de *fario* atlantique).

DISCUSSION, CONCLUSION, PERSPECTIVES

Les principaux résultats sont les suivants :

1 - Les truites *fario* du Danube sont bien de type méditerranéen, proche de notre échantillon de référence de la Sorgue. Il est donc probable que, pour des raisons de proximité, l'introgression méditerranéenne détectée dans plusieurs populations de marbrées soit en fait d'origine danubienne.

2 - Les truites marbrées de Slovénie appartiennent à la même lignée que celles d'Italie. L'échantillon de référence italien, bien que très limité (6 truites) a montré qu'il était introgressé par 28% de gènes méditerranéen. Mais la situation des marbrées d'Italie est trop complexe pour être abordée ici.

3 - Nous confirmons, à 1 ou 2% près, l'excellente pureté génétique des échantillons de truites marbrées de la campagne de 1993 (Zadlascica et Trebuscica). Nous pouvons ajouter 3 populations supplémentaires : Studenc, Lipovscek et Huda Grapa, les deux dernières n'ayant pas montré la moindre trace d'introgression. Par contre, Icja est un mélange dû à l'introgression de 18% de truite du Danube et de 12% de truites de pisciculture occidentale.

4 - Le cours principal de la Soca, si on estime que les échantillons des rivières Volarja et Baca en sont le reflet, contient essentiellement des hybrides composés en moyenne de 39% de marbrée, de 27% de *fario* danubienne et de 34% de *fario* atlantique de pisciculture.

5 - Quand on calcule ces trois pourcentages à partir d'échantillons différents (Volarja 93 : 29 truites et Volarja 94 : 30 truites), les estimations sont comparables pour la part de gènes de marbrée, mais différent de quelques 10% pour les deux autres origines possibles. Ces variations, pouvant être dues à une hétérogénéité du peuplement, rend le suivi dans le temps problématique.

Cependant, grâce à son faible coût, un suivi de la *LDH-5** devrait se faire sur plusieurs années. Une telle analyse nécessite trois simples précautions :

- . traiter au moins 50 truites par échantillon
- . prélever et congeler très rapidement les yeux seulement
- . mesurer la taille des truites analysées.

Le coût actuel est d'environ 750 FF HT pour chaque lot de 50 truites, échantillons livrés au laboratoire.

6 - L'analyse de l'hétérozygotie (paramètre He du tableau 1) montre le faible polymorphisme enzymatique des populations de marbrées (entre 0 et 1%, au lieu de 5 à 7% pour une population de *fario* méditerranéenne de taille moyenne). Ceci est dû à la faible taille de ces populations.

Cette caractéristique est normale pour des peuplements de tête de bassin (l'échantillon français de la Sorgue est comparable), mais elle rend la mise en élevage problématique dans la mesure où les alevins produits tendront à appauvrir génétiquement les populations d'accueil.

Bien que nous ne connaissions pas précisément les conséquences d'un appauvrissement génétique, nous conseillons par prudence de prélever des géniteurs de plusieurs origines et de les croiser.

Il est possible d'imager cette notion : dans la mesure où les enveloppes d'AFC (voir figure 2) ont une étendue proportionnelle à la diversité génétique (pour un effectif égal), cela équivaut à éviter d'utiliser des populations aux enveloppes aussi réduite que celles de Huda Grapa ou Lipovscek, mais d'utiliser une population fictive dont l'enveloppe couvrirait celles de Huda Grapa, Lipovscek, Studenc, Trebuscica et Zadlascica réunies grâce au mélange des géniteurs.

Mais la figure nous indique aussi qu'à titre d'économie des moyens, les populations de Lipovscek et de Huda Grapa, bien que constitués de pures truites marbrées, ne sont pas indispensables. Leurs caractéristiques génétiques analysées ici sont toutes contenues dans les trois autres populations qui devraient suffire.

Patrick BERREBI,
fait à Montpellier, le 7 mars 1995