

**Etude génétique des populations de truites communes
(*Salmo trutta* L.)
du bassin versant de la Bave
(sous-bassin de la Dordogne, département du Lot)
Rapport de novembre 2011**



Statistiques, interprétation, rédaction: **Patrick Berrebi***
Données écologiques et historiques: **Laurent Fridrick****
Analyses moléculaires: **Corinne Cherbonnel*****

* Institut des Sciences de l'Evolution, UMR5554 UM2/CNRS/IRD, Université Montpellier 2, CC065,
place E. Bataillon, 34095 Montpellier cedex, tel: 04 67 14 37 32, patrick.berrebi@univ-montp2.fr

** Fédération du Lot pour la Pêche et la Protection du Milieu Aquatique, 182 quai Cavaignac, 46000 Cahors,
tel: 05 65 35 50 22, laurent.fd@wanadoo.fr

*** Genindexe, 6 rue des Sports, 17000 La Rochelle, tel: 05 46 30 69 66, ccherbonnel@genindexe.com

1. Introduction

Les échantillons de nageoires de truites constitués par la Fédération de Pêche du Lot sont parvenus au laboratoire de génétique de l'Université Montpellier 2 (ISEM) le 24 mars 2011. Ce rapport donne les résultats de l'analyse de 204 truites sur 209 fournies car lors des analyses moléculaires effectuées par le laboratoire Genindexe (La Rochelle), 5 truites n'ont pas donné de résultat.

2. Echantillonnage

Les truites analysées comprennent 7 échantillons capturés dans la nature (voir carte) et un échantillon de pisciculture le plus représentatif des repeuplements effectués dans la Bave. A titre de comparaison, pour la compréhension, un échantillon mixte de 4 piscicultures françaises (provenant de tout le territoire français) a été rajouté. Un échantillon de truites purement sauvages de la Cère et de la Maronne, rivières voisines permettront de juger de l'originalité génétique des truites de la Bave.

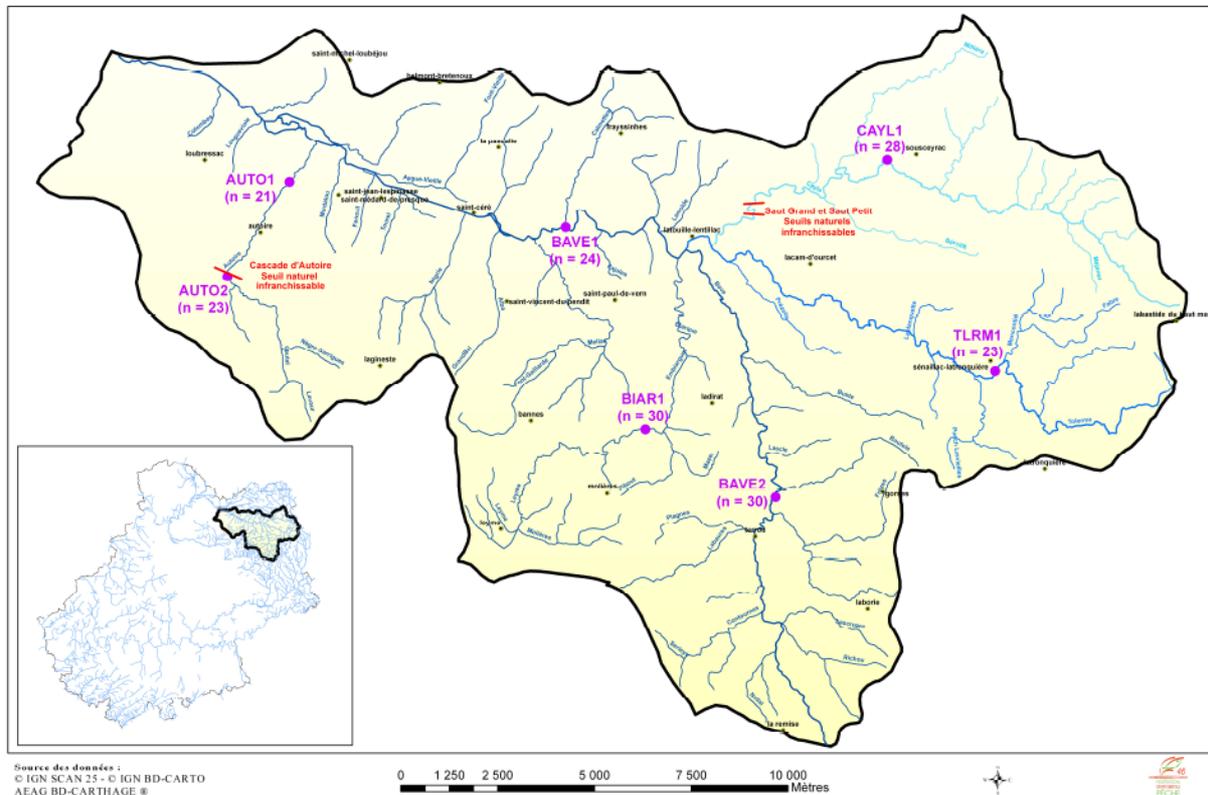


Figure 1 : position des 7 stations d'échantillonnage détaillées dans le tableau 1.

sigle	n° terrain	n° ISEM	rivière	date de pêche	N analysés/N capturés
BAVE1	BAVE1-01 à 24	T19292-T19315	Bave	26/07/2010	22/24
BAVE2	BAVE2-01 à 30	T19316-T19345	Bave	26/07/2010	30/30
AUTO1	AUTO1-01 à 21	T19271-T19291	Autoire	26/04/2010	21/21
AUTO2	AUTO2-01 à 23	T19248-T19270	Autoire	03/05/2010	23/23
BIAR1	BIAR1-01 à 30	T19167-T19196	Biarque	03/05/2010	29/30
CAYL1	CAYL1-01 à 28	T19197-T19224	Cayla	10/05/2010	27/28
TLRM	TRML1-01 à 23	T19226-T19247	Tolorme	10/05/2010	22/23
Cère	0510-0031 à 60	T18654-T18683	Cère	juin-10	30
Maronne	str1257 à 1286	T18383-T18412	Maronne	15/06/2009	26
PISCI46	PISCI46-01 à 30	T19346-T19375	-	16/03/2010	30/30
piscic. FR	108-101 à 410	T16926-T17025	-	2008	40

Tableau 1 : Liste des échantillons pris en compte dans la présente étude.

3. Méthode moléculaire

Les morceaux de nageoires conservés dans l'alcool sont digérés dans la protéinase K (pour ouvrir les cellules) et mis dans une solution Chelex (qui inhibe les DNAses qui détruiraient l'ADN).

Les extraits d'ADN ainsi obtenus sont amplifiés au niveau de zones bien précises (les locus) où l'ADN est répété en général par paires de bases (les microsatellites). Les variants des microsatellites (ou mutants ou allèles) ont un nombre de répétition souvent différent d'une truite à l'autre. Ce nombre de répétitions est héréditaire et marque donc les différents types (lignées) de truites.

L'amplification (ou PCR) fabrique donc des morceaux d'ADN artificiels dont la longueur constitue le caractère héréditaire recherché. Il reste à déterminer quelle est la longueur des microsatellites légués par les parents de la truite (2 allèles pour chaque locus).

Pour cela, les solutions de molécules amplifiées sont mises à migrer sur gel plat d'acrylamide sous tension électrique. La vitesse de migration dans le champ électrique est fonction de la longueur de la molécule. Plus une molécule migre vite (loin) et plus elle est petite (c'est dû à son plus faible encombrement dans le gel).

Ici nous analysons 6 locus sur chaque truite. Chaque truite est donc génotypée, c'est à dire que 2 allèles sont déterminés par locus (ici 12 allèles constituent la base de tous les calculs statistiques qui suivent).

4. Méthodes statistiques

Les génotypes sont rangés dans une matrice. Chaque allèle est désigné par sa longueur, ici entre 86 et 211 paires de bases (la "paire de base" est la brique de construction de l'ADN, l'ordre dans lequel les bases A, T, C et G sont assemblées constitue le code génétique de toutes les espèces vivantes). Chaque génotype élémentaire est enregistré sous forme conventionnelle par un nombre à 6 chiffres (les deux allèles de 3 chiffres) tel que donné en annexe.

4.1. Analyse multidimensionnelles

Cette matrice de génotype est traitée par analyse multidimensionnelle (ici l'Analyse Factorielle des Correspondances ou AFC effectuée avec le logiciel GENETIX) produisant des graphes où chaque truite est positionnée en fonction de ses 6 génotypes élémentaires (= de ses 12 allèles). Plus deux truites sont génétiquement semblables (donc apparentées) plus elles

seront rapprochées sur les graphes, plus elles sont dissemblables, plus elle y seront éloignées. La constitution de "nuages" multidimensionnels est la base du diagnostic. Cette méthode est non supervisée (les calculs n'intègrent pas l'information d'appartenance à un échantillon).

4.2. Analyses d'assignation

Cette analyse consiste à rechercher dans la totalité de l'échantillonnage le meilleur découpage en K sous-groupes, chaque sous-groupe ayant des caractéristiques génétiques les plus proches de populations en équilibre de panmixie (reproduction au hasard de tous ses membres du groupe) et de liaison (répartition au hasard des allèles dans le génome). Cette méthode est non supervisée et quand l'analyse "retrouve" les échantillons, c'est qu'ils sont constitués de truites génétiquement apparentées. Le logiciel STRUCTURE est utilisé, il fonctionne par essais multiples successifs (ici 100000 essais dits de chauffe ou *burn-in* puis 200000 répétitions), pour chaque K (ici de 2 à 7) 3 essais sont effectués et comparés.

5. Résultats

5.1. Analyse multidimensionnelle

L'AFC ci dessous nous fournit plusieurs informations:

- il n'y a pas d'isolement (en nuages distincts) entre les points correspondant aux truites naturelles et aux truites domestiques, c'est déjà la marque d'hybridations entre ces deux types génétiques;
- les truites domestiques sont situées à gauche, les truites du bas à droite sont de la Bave, celles du haut à droite viennent de la Maronne, celles du centre haut (en vert) sont celles de la Cère. On en déduit donc une nette différenciation génétique entre Cère, Maronne et Bave (respectivement haut, droite haut et droite bas); il n'y a pas de différence entre truites domestiques de la pisciculture du Lot et des 4 autres piscicultures commerciales françaises;
- certains échantillons de la Bave sont quasiment superposés aux truites domestiques, démontrant l'impact important des repeuplements.

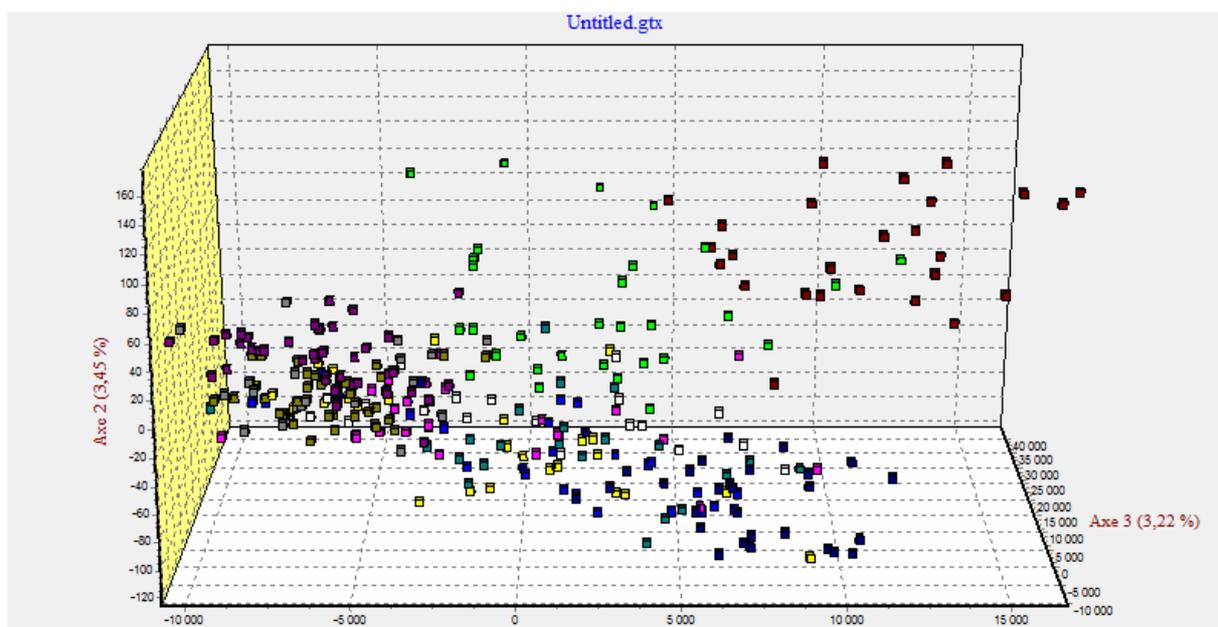


Figure 2 : organisation générale des truites analysées: domestiques à gauche, Bave sauvages en bas à droite, Maronne en haut à droite, Cère au centre haut (en vert).

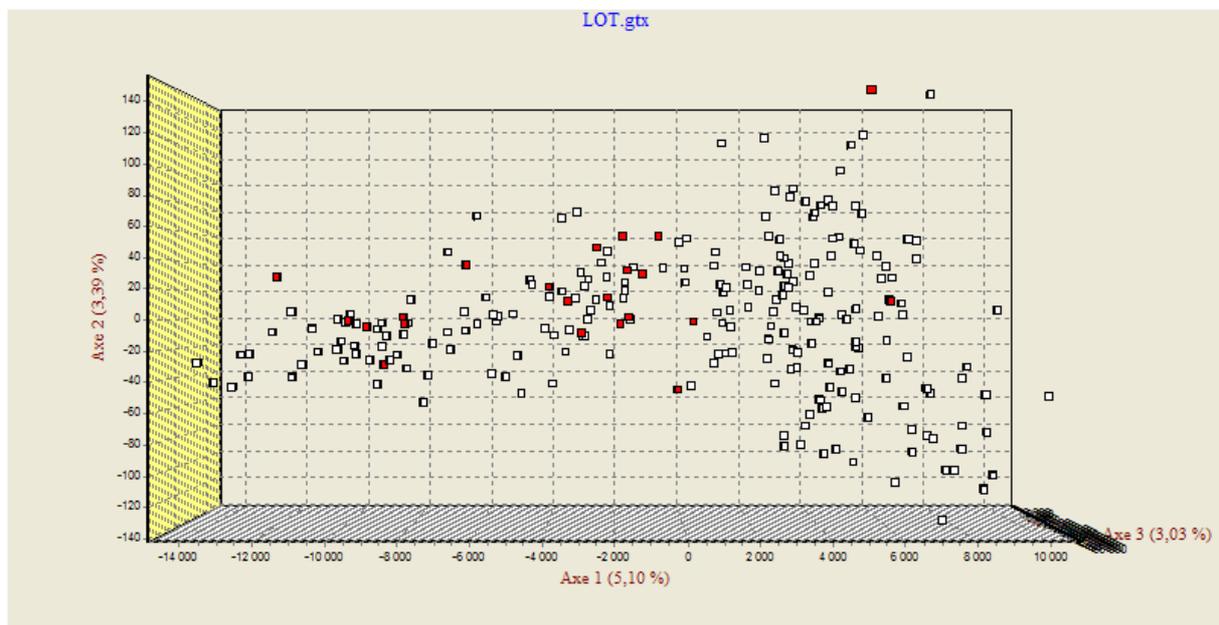


Figure 3 : Pour améliorer la lisibilité, les truites de la Cère et de la Maronne, bien distinctes de celles de la Bave, ont été retirées de l'analyse. Cette simplification permet d'avoir globalement les truites sauvages à gauche et domestiques à droite. Ici, les truites de la **BAVE1** (aval) s'étalent de gauche à droite, marque de présence domestique. Les points rouges bien à droite correspondent à des truites nées en pisciculture, les points rouge au centre à des hybrides. Ces principes d'interprétation sont à appliquer à chacune des figures 3 à 11.

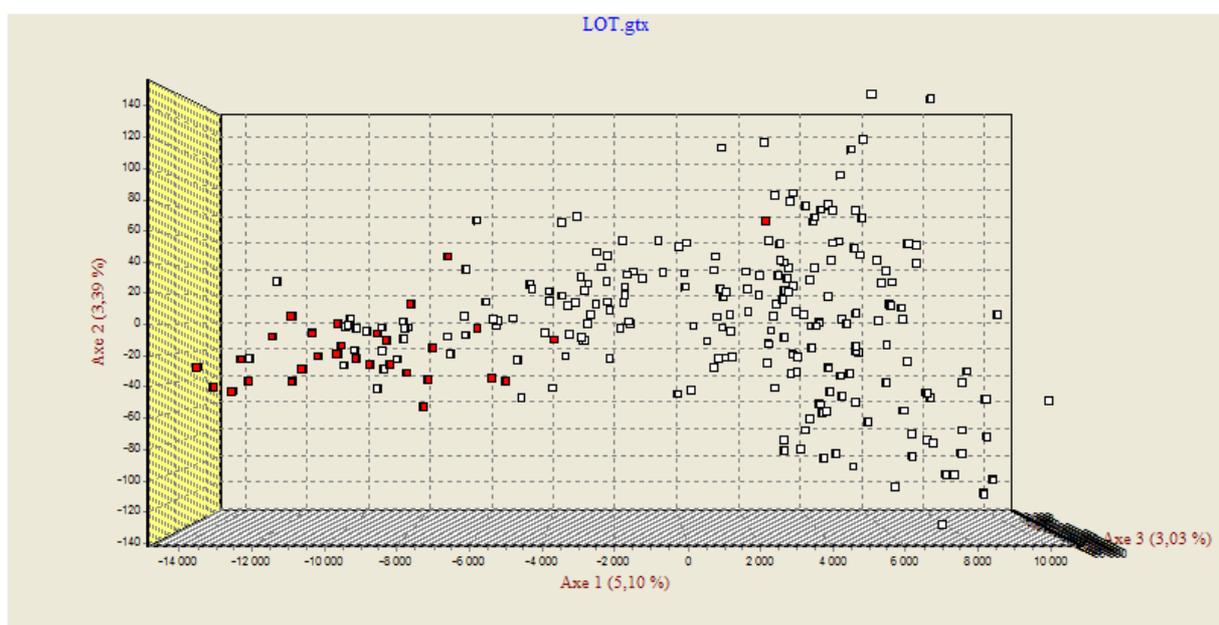
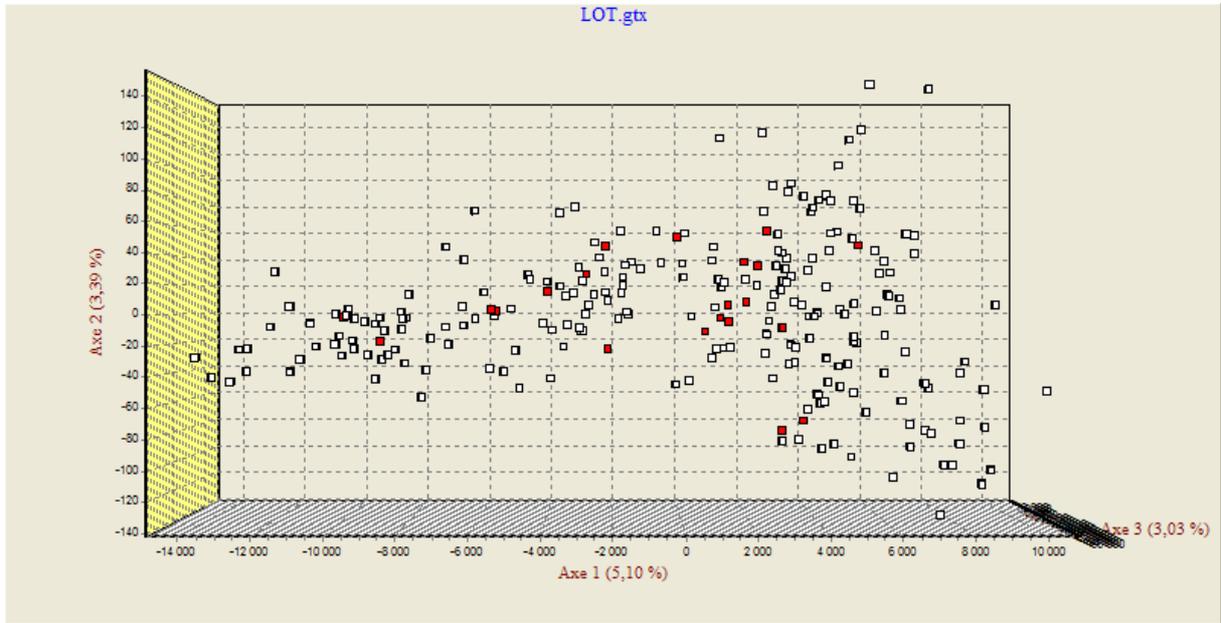
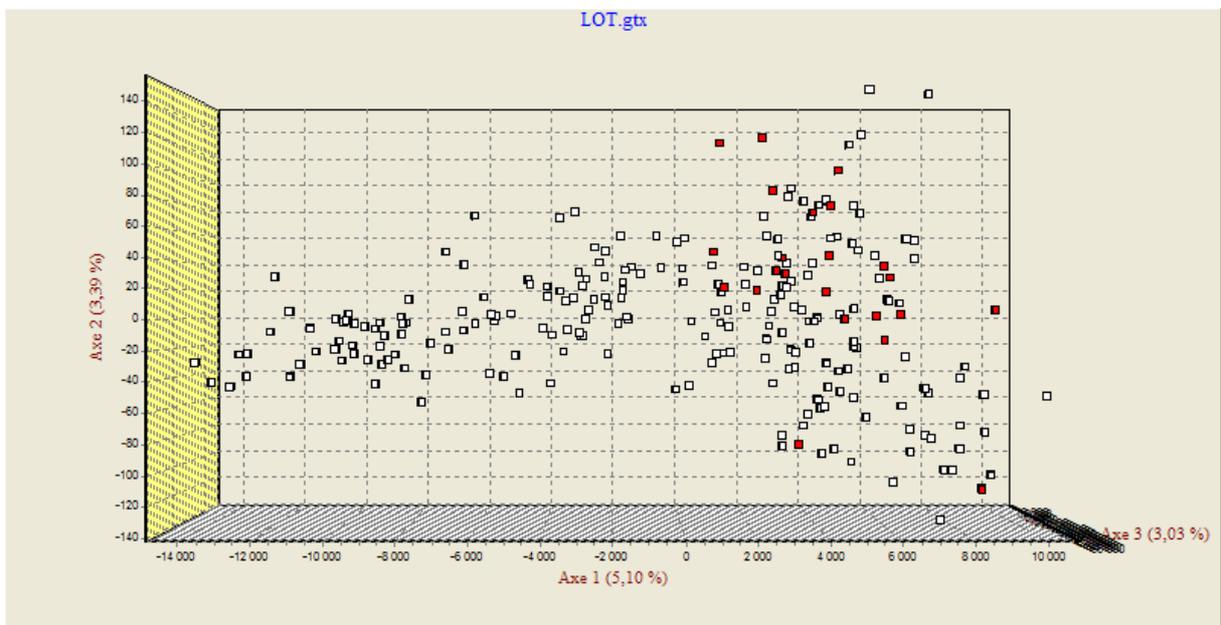


Figure 4 : Par contre, la **BAVE2** (amont) est presque entièrement sauvage (présence d'une truite domestique) comme l'indiquent aussi les figures 13 à 15.



*Figure 5 : Les truites **AUTO 1** (aval) sont bien mélangées.*



*Figure 6 : Les truites **AUTO2** (amont) sont quasiment entièrement domestiques.*

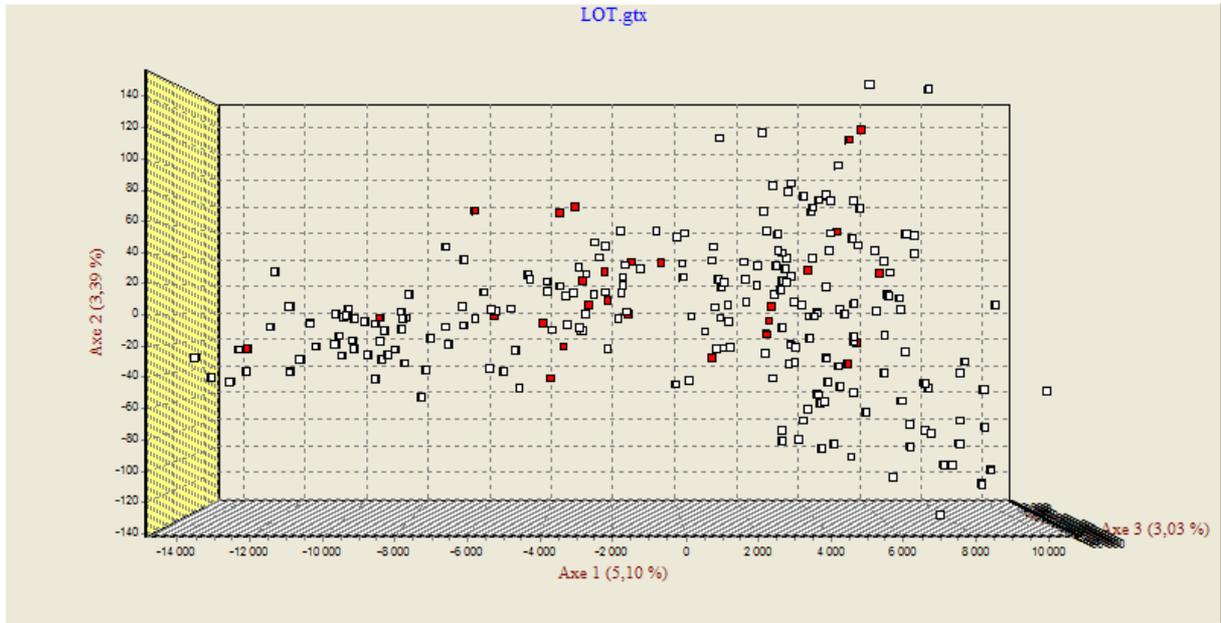


Figure 7 : Les truites **BIARI** (aval) sont également bien mélangées.

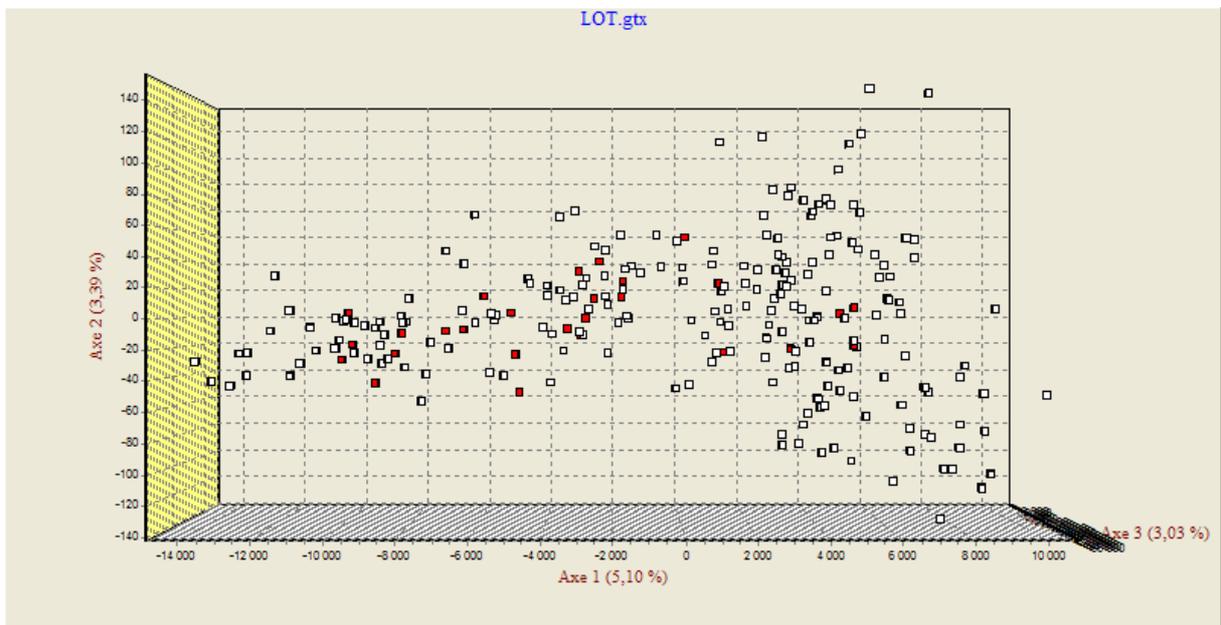


Figure 8 : Les truites **CAYL1** s'étalent de la zone sauvage à la zone domestique.

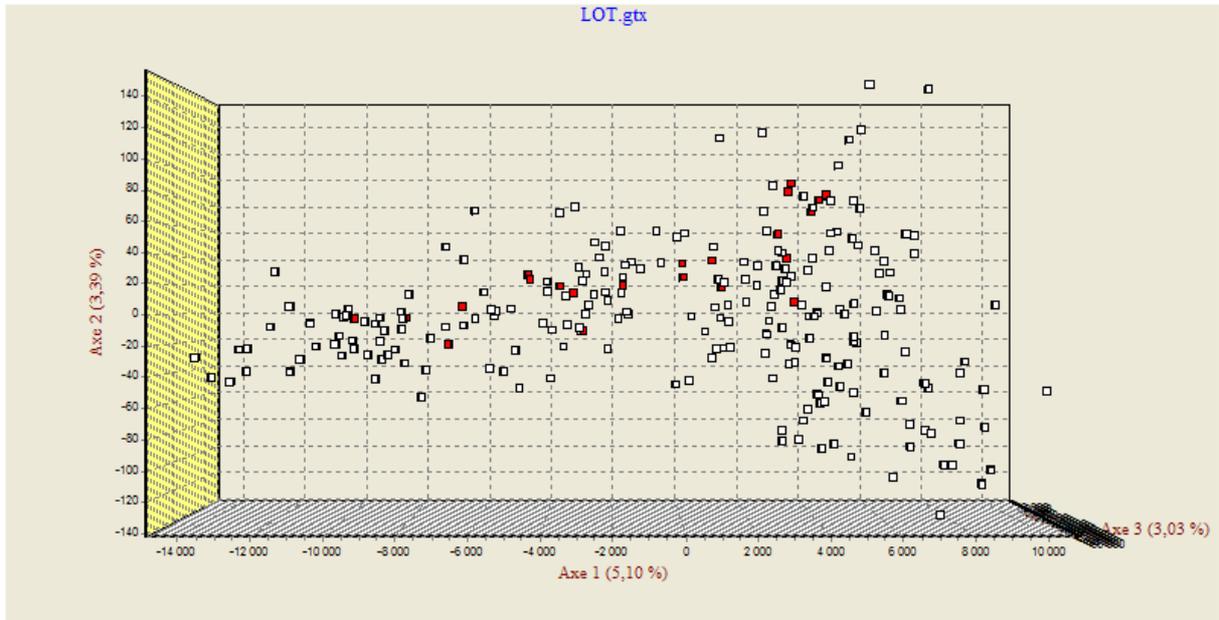


Figure 9 : Les truites **TLRMI** s'étalent aussi de la zone sauvage à la zone domestique.

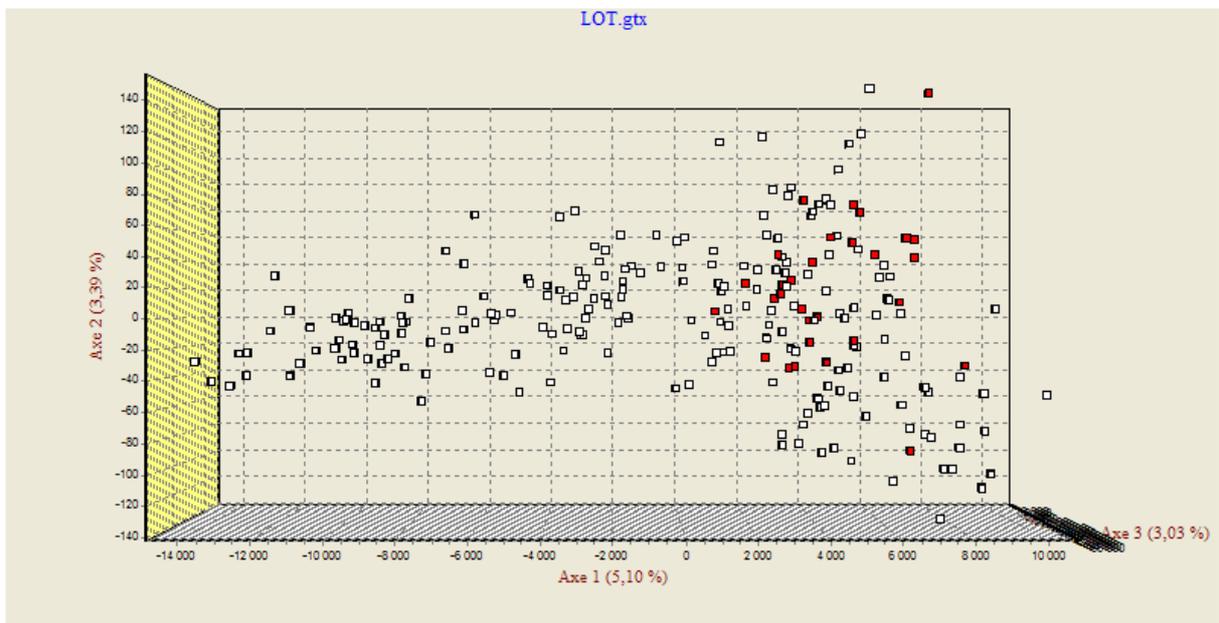


Figure 10 : Les truites **PISC46** occupent la partie droite du graphique.

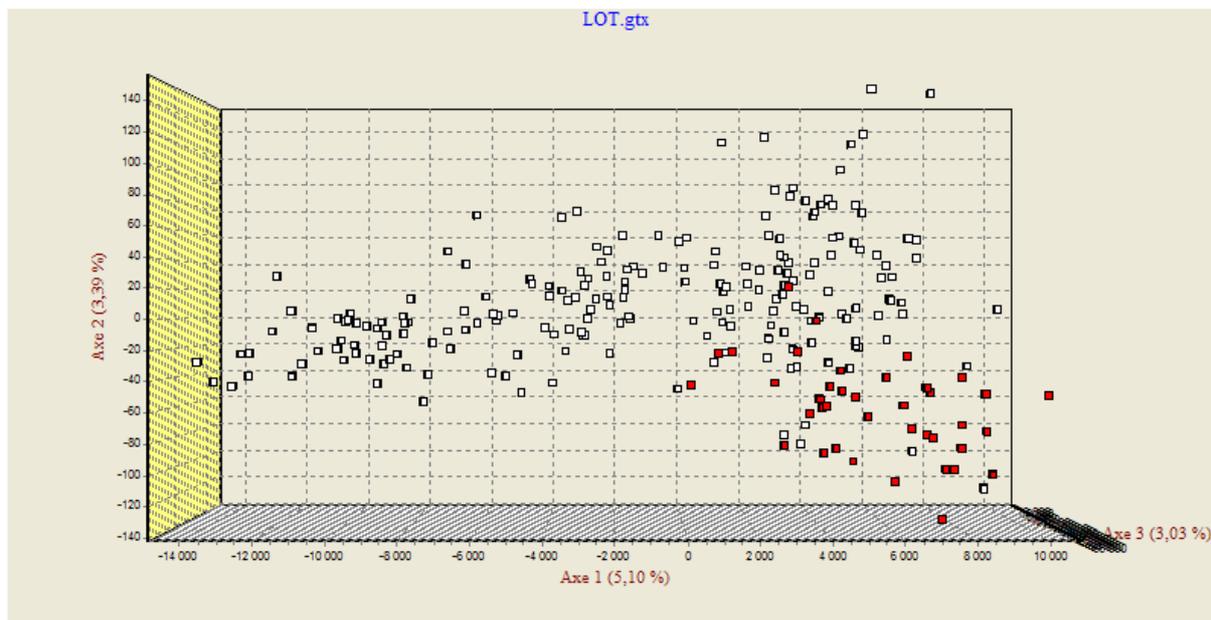


Figure 11 : Les truites *Piscicultures françaises* occupent aussi la partie droite du graphique, en dessous de celles de la pisciculture locale (analogue à la figure 15).

5.2. Analyses d'assignation

L'analyse a consisté à faire de 2 à 7 partitions (K) de l'échantillonnage total, comprenant, outre les truites de la Bave, les truites de la pisciculture 46, de 4 piscicultures françaises et les truites sauvages de la Cère et de la Maronne.

Les résultats sont présentés sous forme d'histogrammes de couleur dans lesquels chaque petite barre verticale est une truite, les échantillons restent dans l'ordre donné ci-dessous, chaque couleur correspond à l'assignation des truites à un sous-groupe. A cause des hybridations, une même truite peut appartenir à plusieurs sous-groupes.

1 = BAVE1	7 = TLRM
2 = BAVE2	8 = Cère
3 = AUTO1	9 = Maronne
4 = AUTO2	10 = PISCI46
5 = BIAR1	11 = 4 piscicultures françaises
6 = CAYL1	

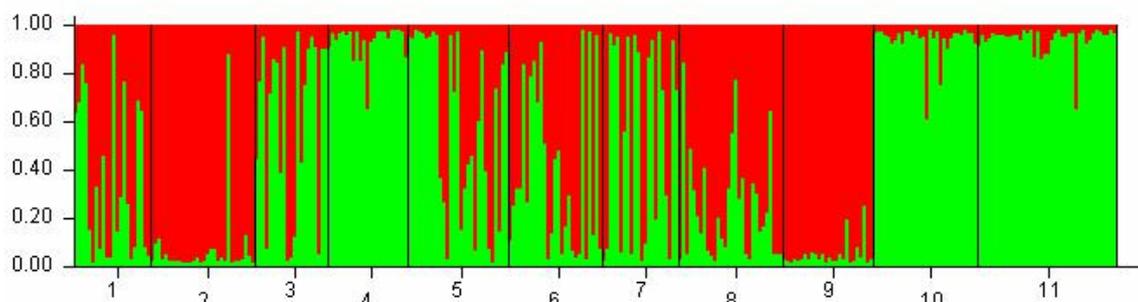


Figure 12 : Pour $K=2$, les piscicultures (10 et 11) sont en vert, toutes les truites "Dordogne" en rouge. Nous voyons déjà que l'échantillon 4 (AUTO2) est quasiment domestique et que les échantillons 1, 3, 5, 6 et 7 sont fortement impactés.

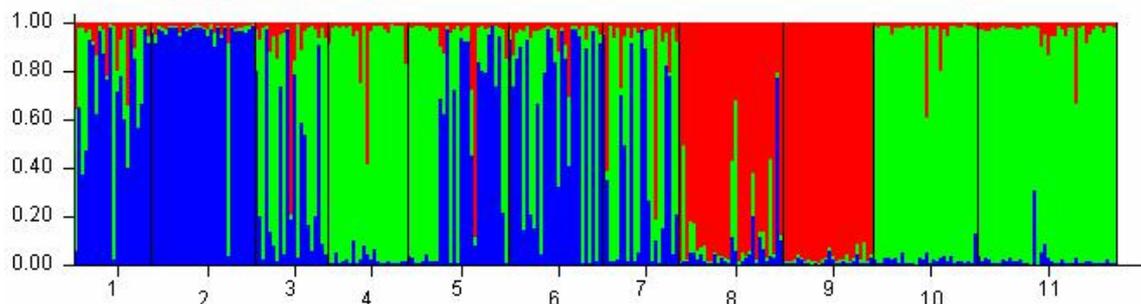


Figure 13 : Pour $K=3$, le type Bave (bleu) se distingue du type Cère-Maronne (rouge). Ce bleu nous permet déjà de classer les échantillons ayant le plus de truites de type sauvage-Bave: 2 (BAVE2), 1 (BAVE1), 5 (BIAR1) et 6 (CAYL1). Ne pas tenir compte des couleurs qui sont attribuées au hasard par le logiciel.

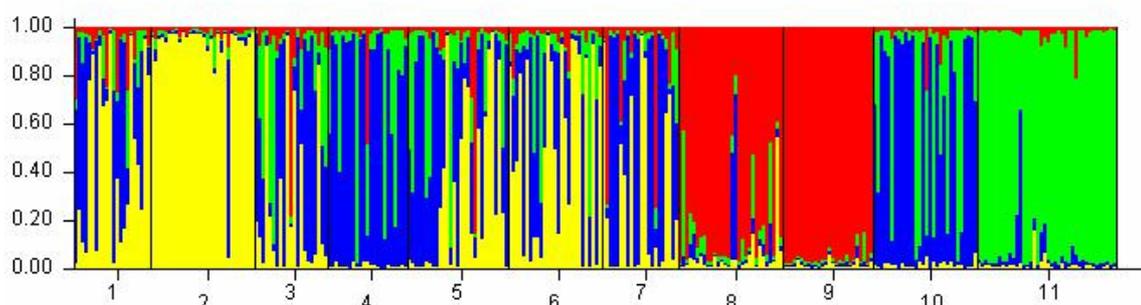


Figure 14 : Pour $K=4$, la pisciculture du Lot (bleu) se distingue des piscicultures nationales (vert). L'analyse confirme que c'est la pisciculture du Lot qui a eu le principal impact sur les populations de truites de la Bave

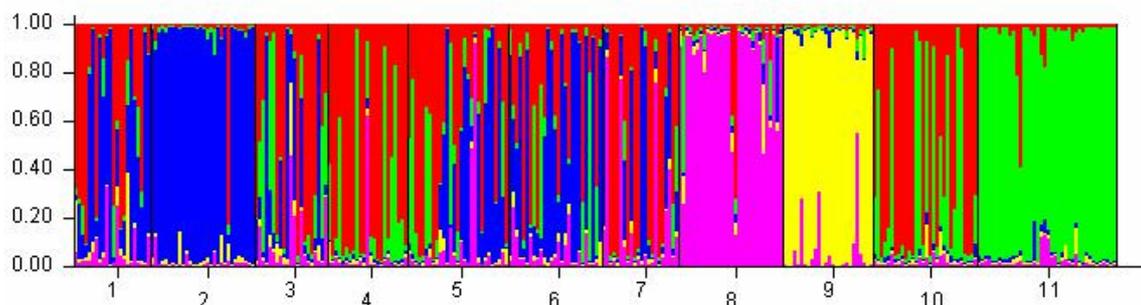


Figure 15 : Pour $K=5$, les truites de la Cère (rose) se distinguent de celles de la Maronne (jaune). Pour $K = 6$ et 7 , aucun sous-groupe nouveau n'apparaît. Le meilleur K est donc de 5 sous-groupes : pisciculture nationale (ici en vert), pisciculture locale (rouge), Maronne (jaune), Cère (rose) et Bave (bleu). L'annexe, en fin de rapport, détaille l'appartenance de chaque truite aux 5 sous-groupes.

6. Interprétation

6.1. Apport de la génétique

La pisciculture du Lot a bien eu un impact prépondérant sur les populations de truites de la Bave aval (mais peu dans la Bave amont où nous trouvons une seule truite née dans cette pisciculture). Cette pisciculture locale entretient une souche légèrement différente (visible, en test d'assignation, à partir de seulement $k=4$) de la souche commerciale (INRA-SEMII) distribuée dans toute la France.

- la Bave dans son ensemble est naturellement peuplée de truites nettement distinctes de celles des populations voisines de la Cère ou de la Maronne. Seule une étude biogéographique au moins départementale permettrait de dire si cette lignée est limitée à la Bave ou bien occupe plusieurs rivières.

	type BAVE	type Maronne	Type Cère	type piscic. FR	type PISCI46
BAVE1	45	4	6	5	39
BAVE2	91	2	2	2	4
AUTO1	25	4	8	18	45
AUTO2	1	1	4	22	71
BIAR1	30	2	8	16	44
CAYL1	51	2	5	12	30
TLRM	24	2	17	5	53
Cère	3	3	83	5	6
Maronne	1	90	6	2	1
PISCI46	2	2	2	31	64
piscic. FR	2	1	2	90	5

Tableau 2 : Ce tableau chiffre les assignations pour $K=5$ (moyenne de 9 essais).

- Les valeurs inférieures à 10 ne sont pas sûres (en gris): il y a un bruit de fond important dû à des convergences de tailles d'allèles (homoplasie).

- Les valeurs supérieures à 20% sont en jaune, supérieures à 50% en orange

- La pisciculture du Lot aurait 28% de la forme domestique nationale (1/3), il faut donc augmenter d'1/3 environ l'estimation de l'impact de cette pisciculture dans la Bave.

La pénétration des truites domestiques dans de nombreuses rivières échantillonnées a provoqué des hybridations (continuum domestique-sauvage en AFC, tout type de proportion sauvage/domestique dans les histogrammes d'assignation). On parle là d'introgression génétique, ce qui est en principe irréversible. Les pourcentages estimés de cette introgression sont donnés dans le tableau 2.

Seule la station BAVE2 (amont) est à peu près indemne d'introgression: on y trouve une seule truite, probablement née dans la pisciculture du Lot (94% domestique). Si on la retire, BAVE2 passe de 90,5% à 93,7% de truite sauvage. C'est la population la plus préservée... et donc à préserver.

6.2. Recoupement avec les données historiques.

Que nous enseigne les quelques données historiques sur la gestion des truites de la Bave (données historiques sous toute réserve car basées sur les souvenirs des gestionnaires locaux):

La seule station presque indemne d'introgression domestique (BAVE2, à l'amont) n'a pas subi de déversements sur le cours principal depuis 1990, mais quelques alevins déversés en 2008 et 2009 sur 4 de ses petits affluents.

La station BAVE1 (aval) subit tous les ans des dépôts de boîtes Vibert et des déversements d'alevins. Plus en aval, il y a des déversements réguliers d'adultes à l'ouverture, ainsi que des alevinages en truitelles d'automne, alevins et œufs.

Toutes les autres stations, BIAR1, TLRM1, CAYL1, AUTO1 et AUTO2 subissent des déversements d'alevins tous les ans.

Les trois paragraphes précédents expliquent bien le taux d'hybridation observées dans ces stations: 6% à BAVE2, mais dû à la présence d'une truite domestique; 40 à 60% dans la plupart des stations, 90% à AUTO2.

Les participations relatives de la souche locale et de la souche nationale sont variables, mais l'influence de la souche domestique locale est toujours très largement dominante: entre 70 et 90 % de la pénétration domestique. Si on tient compte du fait que le test d'assignation a reconnu 28% des gènes de la souche locale comme provenant de la souche nationale, la part domestique locale s'élève à 90 à 100%.

La reconstitution historique des diverses souches domestiques utilisées (voir encadré ci dessous) montre qu'à partir de 1968, les souches variées mais intra-Lot de la pisciculture fédérale sont à l'origine de la modification génétique des populations: la lignée sauvage locale dite "Bave" a été introgressée de façon probablement irréversible par 40 à 60% de formes domestiques.

↳ 1954 > 1958: TRF d'origines autrichienne et danoise
↳ 1958 > 1968: TRF d'origines pyrénéenne et alpine
↳ 1968 > 2000: TRF de la pisciculture fédérale aux origines diverses et variées dont reprises locales (mais du Lot)
↳ 2000 > 2005: pisciculture locale avec TRF d'origine locale (femelles Bave et mâles Cère)
↳ 2005 > 2010: TRF de la pisciculture fédérale aux origines diverses et variées dont reprises locales (mais du Lot)

Il y a deux exceptions notoires:

- La station BAVE2 présente seulement 6% d'introgression, mais cette introgression est surtout due à la présence d'une truite domestique (dont la participation à la prochaine reproduction est considérée comme très improbable). Cette station pouvant être considérée comme la seule totalement sauvage dans notre échantillonnage, elle mérite protection dans un esprit de gestion patrimoniale. Il est surprenant de constater que cette station est totalement sauvage malgré une pression d'alevinage forte pendant 35 ans (jusqu'en 1990). Soit cette station n'a pas permis la survie des truites déversées (conditions particulières de l'amont), soit celles ci ont disparu 20 ans après l'arrêt de cette gestion.

- La station AUTO2 présentant plus de 90% de formes domestiques est la plus modifiée, les tests ne retrouvant plus trace du type "Bave". Ce secteur (en amont de la cascade d'Autoire) est soumis à des étiages annuels très sévères avec des assèchements quasi-annuels de certaines portions. Ceci pourrait expliquer que l'implantation des truites déversées soit la plus forte du secteur de l'étude : si la truite sauvage ne peut pas se maintenir de façon pérenne, la truite domestique occupe toute la place... jusqu'au prochain assèchement!

Un phénomène similaire a été observé (et interprété ainsi) en tête de bassin de la Roya (fleuve méditerranéen limitrophe France-Italie): les ruisseaux amont sont modérément repeuplés par la souche commerciale atlantique; ils sont isolés par des cascades, et les parties amont gèlent certains hivers : les truites qu'on y trouve sont purement domestiques.

Cette présence domestique est le fait le plus marquant de cette étude. Les divers seuils et barrages indiqués ci-dessous ne semblent pas avoir d'influence car les repeuplements se font le plus souvent en amont et en aval de ces obstacles:

- deux cascades naturelles infranchissables à la montaison sur le Cayla (dévalaison hypothétique);
- une cascade naturelle de 80 mètres, infranchissable à la montaison et à la dévalaison sur l'Autoire;
- présence de barrages artificiels et de seuils de moulins en de nombreux endroits.

Du point de vue structuration naturelle, il est clair que la Bave contient encore des truites sauvages particulières, différentes des truites sauvages voisines, du moins dans la Cère et la Maronne.

On ne distingue par contre pas de variation génétique des truites sauvages entre stations. L'absence de différences entre truites sauvages du Cayla et truites sauvages des autres stations du BV peut surprendre puisque les truites du Cayla sont isolées de l'aval par deux cascades empêchant la montaison depuis l'aval. Compte tenu de l'ancienneté des deux cascades, pourquoi aucune différenciation génétique n'a été observée?

On peut proposer deux explications qui ne s'excluent pas: (i) la méthode employée (6 microsattellites) est capable de distinguer aisément entre truites sauvages de la Bave, de la Cère ou de la Maronne. Distinguer entre population du même sous-bassin nécessite des analyses plus précises, avec peut-être 16 locus comme pour les projets Genesalm et Gentrutta. (ii) la présence domestique, souvent massive, réduit les capacités discriminantes des marqueurs.

Fait à Montpellier le 15 novembre 2011

Annexe : Représentation détaillée de la figure 15, truite par truite, montrant leur appartenance aux 5 sous-groupes détectés par STRUCTURE: piscicultures nationales (en vert), pisciculture locale (rouge), Maronne (jaune), Cère (rose) et Bave (bleu). Sous chaque barre d'histogramme se trouve le numéro d'ordre de chaque truite, suivi du numéro de station entre parenthèses.

