

Analyse génétique des truites du lac d'Espingo et de son ruisseau afférent

Projet ESP1
Rapport de novembre 2012



©<http://netia59a.ac-lille.fr/av-fourmies/SOUFOU/ressour/claspupi/contrib/geograph/paysages>

Analyses statistiques, interprétation, rédaction: **Patrick Berrebi**
Analyses moléculaires: **Zhaojun Shao**

* 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

1. Introduction

A l'occasion d'une pêche effectuée par un BE (SAGE Environnement) pour le compte d'EDF dans le cadre du renouvellement de la concession de la centrale du Portillon, un inventaire au filet a été effectué et des échantillons récupérés par la Fédération de Pêche 31 pour analyse génétique. La nature et l'origine de ce peuplement de lac ne sont pas bien connus mais il a potentiellement une forte valeur patrimoniale : la population de truites s'y maintient sans alevinages grâce aux frayères des tributaires, ce qui est un cas unique pour un lac de montagne de Haute Garonne.

Les truites étant sacrifiées (méthode d'inventaire aux filets maillants), les estomacs ont également été prélevés pour analyse du régime alimentaire comptage des caeca pyloriques.

La question qui se pose est de savoir si les truites du lac d'Espingo sont un isolat génétique proche de celles de la Garonne amont, étant donné que la population est considérée comme « sanctuaire génétique » car supposée n'avoir jamais été aleviné et hors d'atteinte des truites du reste aval du bassin de la Garonne en raison de la cascade du lac d'Oô (Figure 2), située juste en aval du lac d'Espingo.

La population du lac n'a jamais été analysée par les outils de la génétique moléculaire, c'est une vérification nécessaire.

2. Echantillonnage

La capture et les prélèvements pour la génétique ont été effectués sur le lac d'Espingo le 4 juillet 2012. L'efficacité de pêche ayant été faible sur le lac (14 truites), une pêche électrique complémentaire a été effectuée début août dans le ruisseau d'Espingo alimentant le lac. A cette occasion, 16 truites ont pu être échantillonnées.

Les échantillons de nageoire sont parvenus au laboratoire de Montpellier (ISEM) le 24 août 2012.

Station	Nombre	Année	N° ISEM
Lac d'Espingo	13	2012	T23220-T23233
Ru d'Espingo	16	2012	T23234-T23249
Garonne (Caubous)	10	2010	T19113-T19122
Garbet (Garbetou)	10	2008	T15123-T15132
Pisciculture Haute-Garonne	5	2011	T22251-T22255
Pisciculture Ariège	5	2011	T19962-T19966
Pisciculture Lot	5	2010	T19346-T19350
Pisciculture Isère	5	2008	T16926-T16930
Pisciculture Seine Maritime	5	2008	T16956-T16960
Pisciculture Pas de Calais	5	2008	T16986-T16990
Pisciculture Ain	5	2008	T17016-T17020

Tableau 1 : listing des échantillons d'Espingo (en jaune), des échantillons sauvages de référence (en vert) et des 7 échantillons de truite de diverses piscicultures françaises.

3. Méthode moléculaire

Cet échantillonnage a été analysé au niveau de 6 locus microsatellites qui ont déjà fait leur preuve dans ce cas de figure: Oneµ9, Mst85, SsoSL-311, Omy21DIAS, MST543 et SsoSL438.

Pour cela, les échantillons de nageoire sont traités à la protéinase K (destruction des tissus et libération de l'ADN) et au Chelex (élimination des enzymes et inhibiteurs qui détruiraient l'ADN ou empêcheraient la PCR).

Les PCR (amplifications artificielles à l'identique d'une courte partie de l'ADN) se font en thermocycleur et les molécules amplifiées sont mises à migrer dans des gels d'acrylamide dénaturant (brins d'ADN maintenus séparés les uns des autres) afin de séparer les molécules en fonction de leur taille.

Les migrations sont scannées (scanner FMBIO II) grâce aux radicaux fluorescents des amorces et interprétés en terme de génotypes avec l'aide d'un analyseur d'image FMBIO IMAGER 8. La matrice de génotypes obtenue est la base de tous les calculs statistiques.

4. Méthode statistique

La matrice des nouvelles données génotypiques, additionnée des génotypes de référence d'origine connue (liste en Tableau 1) sert à diagnostiquer la lignée génétique des truites du lac et de son ruisseau afférent. Ces échantillons de référence comprennent des truites sauvages de la Garonne amont (au niveau de Cambous) et de son affluent le Garbet (ruisseau du Garbetou) ainsi que des truites domestiques provenant de piscicultures de toute la France élevant essentiellement la souche domestique INRA-SEMII, la plus répandue en France.

Dans le but de répondre aux questions posées, deux méthodes statistiques ont été employées :

- Une méthode plutôt qualitative est l'analyse multidimensionnelle (ici l'AFC). Elle permet de visualiser chaque truite dans un hyper-espace qui favorise le regroupement des truites génétiquement semblables et sépare celles qui sont dissemblables. Il s'agit d'un défrichage des résultats.

- Une méthode plutôt quantitative consiste à rechercher les meilleurs regroupements de truites (assignation) au moyen du logiciel STRUCTURE. Le nombre de partitions testées (k) doit aboutir à la définition des lignées génétiques différenciées. Ces assignations permettent de proposer des pourcentages de chaque échantillon aux k types génétiques reconnus.

5. Résultats

5.1. Analyse multidimensionnelle

La Figure 1 organise clairement la diversité des truites analysées selon l'axe 1 (horizontal) le plus informatif : domestique à gauche et sauvage-Garonne à droite. L'axe 2 (vertical), moins informatif, décrit la diversité à l'intérieur des deux groupes précédents. De la même façon que Garonne amont et Garbet sont légèrement différents (deux parties importantes de l'amont du bassin), on voit un décalage entre truites de pisciculture (à gauche en haut) et du lac d'Espingo (à gauche en bas). Il y a aussi un léger décalage entre truites du lac (en rouge) et du ruisseau (en vert). Cette analyse montre que les truites du lac d'Espingo sont toutes d'origine domestique.

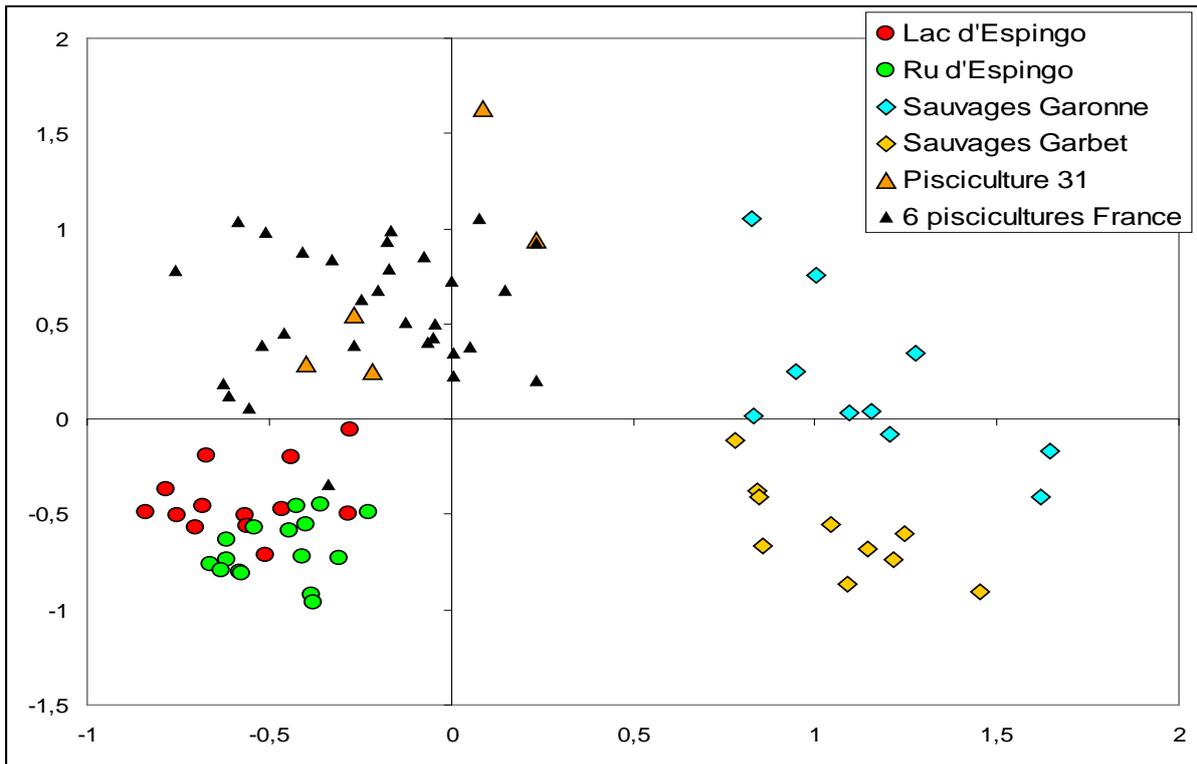


Figure 1 : représentation graphique des diverses truites analysées.

5.2. Analyse d'assignation

Cette méthode permet de partitionner l'échantillon global en K sous-groupes ayant des caractéristiques génétiques proches d'une population hypothétique (équilibres panmictique et de liaison). En augmentant K, on demande au logiciel si il y a possibilité logique de définir de plus en plus de sous-groupes... jusqu'au moment où le forçage du logiciel aboutit à un résultat absurde (ici en Figure 5).

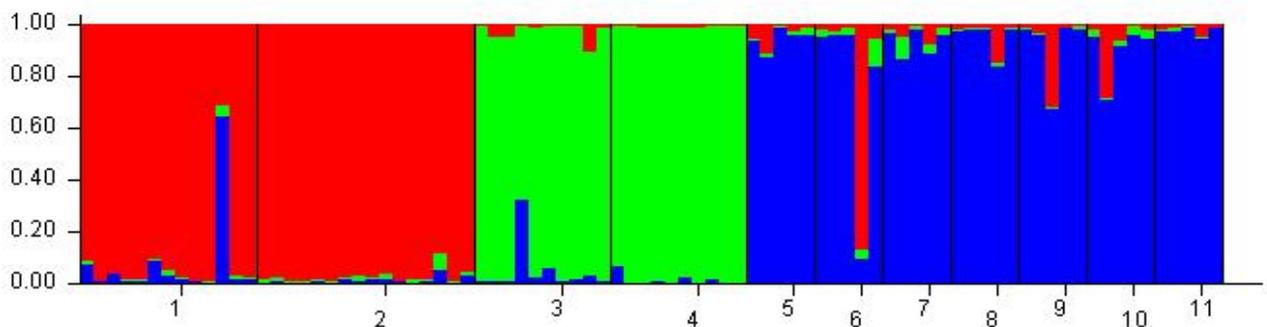


Figure 2 : Ici, K=3. Ces trois entités sont Espingo **en rouge**, Haute Garonne et Garbet sauvages **en vert** et domestiques des départements respectifs 31 (Soueich), 09 (Fontanès), 46 (Bervezou) ainsi que 38, 76, 62 et 01 **en bleu**.

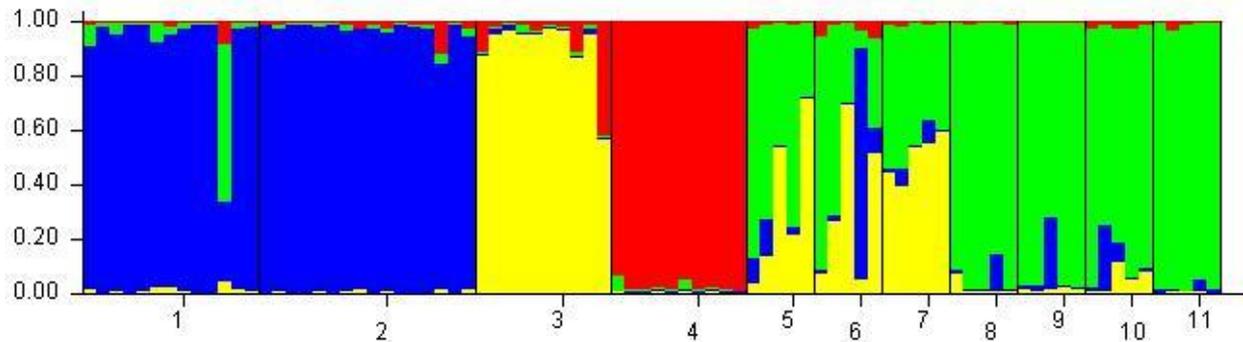


Figure 3 : Ici $k=4$. Les couleurs sont distribuées au hasard par le logiciel Structure. Ici Espingo est en bleu, les piscicultures commerciales en vert (8 à 11), la Garonne amont en jaune, l'Ariège en rouge, les piscicultures locales (échantillons 5 à 7 provenant des départements 31, 09 et 46) sont composées de commerciales + de sauvages Garonne.

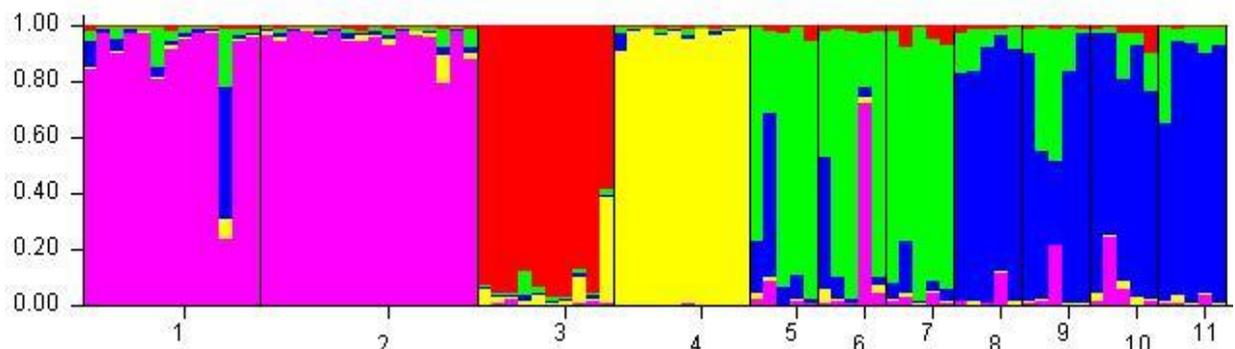


Figure 4 : Quand $k=5$, on retrouve les mêmes groupes (avec des couleurs différentes), la différence est la distinction entre piscicultures nationales commerciales en bleu et piscicultures artisanales plus locales en vert.

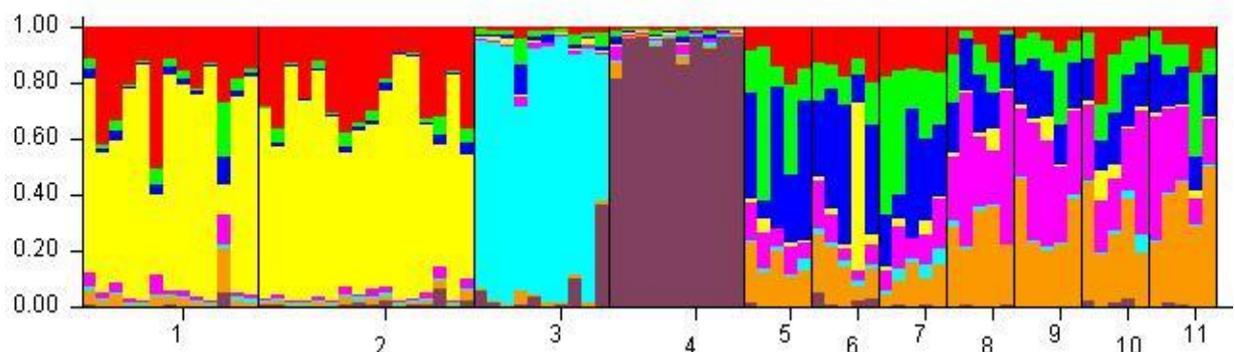


Figure 5 : Pour $k=6$, et jusqu'à 10 (ici $k=8$), le logiciel ne trouve plus d'entité logique et commence à découper chaque truite en plusieurs entités, preuve que $k=5$ est la meilleure partition

6. Interprétation et discussion

Les résultats nous montrent que les truites du lac d'Espingo sont proches des truites domestiques commerciales actuelles (Figure 1). Cependant il est probable que pas ou peu

d'introduction ont eu lieu ces dernières années, ce qui explique la différence entre « la truite domestique française moyenne » (triangles de la Figure 1 et couleur bleu marine à la Figure 4) et le peuplement du lac et de son ruisseau. Cette introduction ancienne (peut-être par des particuliers) ne peut pas être totalement comprise dans cette étude: il est probable que la souche d'origine n'a pas été maintenue dans sa pisciculture ancienne, et d'autre part le milieu peut avoir sélectionné certains gènes, bien que les microsatellites sont réputés neutres, c'est-à-dire peu sensibles à la sélection; mais il y a d'autres modes d'évolution, comme la dérive génétique. Une analyse complémentaire par un autre marqueur (ADN mitochondrial) pourrait peut-être apporter un élément nouveau.

L'Annexe donne les proportions de gènes appartenant à chacune des 5 lignées génétiques visualisées à la figure 4. Une seule truite du lac est bien différentes des autres (Lac11), fortement « domestique moderne » et quelques-unes présentent des traces de pisciculture locale, mais à la limite du bruit de fond. Les truites du lac et du ruisseau sont remarquablement homogènes et distinctes de toutes les références utilisées..

La cascade du lac d'Oô, juste sous le lac d'Espingo, l'a toujours isolé de l'aval (Figure 6).



Figure 6 : cascade d'Oô empêchant toute remontée naturelle de truites depuis le lac d'Oô (en bas de l'image) vers le lac d'Espingo (non visible, en amont de la cascade).

Selon Olivier Plasseraud (FD31), le lac d'Espingo présente l'une des plus hautes populations fonctionnelles connues de truites communes du versant Nord des Pyrénées centrales.

Il est fort probable que, comme dans beaucoup de lacs d'altitude, il n'y avait là aucune truite naturelle avant

(i) soit une (des) introduction par translocation de poissons sauvages de l'aval proche, de la vallée d'Oô ou de la Pique, par exemple, mais les analyses ne montrent aucun lien génétique avec la Garonne

(ii) soit une (des) introduction plus récente encore (quelques décennies tout de même car nous savons qu'au moins 30 ans se sont écoulés sans alevinages) de poissons domestiques.

Les analyses génétiques démontrent la seconde hypothèse.

Cette population étant en gestion patrimoniale, elle est la preuve qu'une souche de truites domestiques possède les capacités de fonder durablement une population fonctionnelle, même dans un milieu hostile, en limite de répartition altitudinale de l'espèce (cela a aussi été observé aux îles Kerguelen!).

On peut en déduire que le faible succès des truites domestiques dans les rivières naturellement peuplées sont davantage le fait de leur inaptitude à la compétition avec les sauvages que la conséquence d'une inadaptation intrinsèque des domestiques aux biotopes naturels.

Ce phénomène a été observé à plusieurs reprises, même sans lac: les affluents d'altitude de la Roya (Alpes Maritimes), généralement isolés de l'aval par des cascades, présentent aussi 95 à 99% de formes domestiques (Vallon des Près, Céva, Mérim, Grana...) ce qui a été interprété comme provoqué par des repeuplements en zones vierges de truites.

Annexe : proportion génétique de chaque lignée détectée dans chaque truite du lac et du ru. Seules les valeurs colorées peuvent être considérées comme au-dessus du bruit de fond de la technique.

	Garonne amont	Ariège sauvages	Domestiques locales	Type Espingo	Domestiques commerciales
Lac01	0,01	0,01	0,04	0,85	0,09
Lac02	0,00	0,00	0,01	0,98	0,01
Lac03	0,01	0,00	0,04	0,91	0,04
Lac04	0,01	0,00	0,01	0,98	0,01
Lac05	0,01	0,00	0,01	0,98	0,01
Lac06	0,01	0,01	0,15	0,81	0,03
Lac07	0,02	0,02	0,04	0,91	0,02
Lac08	0,01	0,01	0,02	0,95	0,02
Lac09	0,01	0,00	0,01	0,97	0,01
Lac10	0,01	0,01	0,01	0,98	0,01
Lac11	0,01	0,07	0,23	0,25	0,44
Lac12	0,01	0,01	0,03	0,94	0,02
Lac13	0,01	0,01	0,02	0,96	0,01
Ru01	0,01	0,01	0,01	0,97	0,01
Ru02	0,01	0,01	0,02	0,95	0,01
Ru03	0,01	0,00	0,01	0,98	0,01
Ru04	0,00	0,01	0,01	0,98	0,01
Ru05	0,01	0,01	0,01	0,97	0,01
Ru06	0,01	0,01	0,00	0,98	0,01
Ru07	0,01	0,01	0,01	0,95	0,02
Ru08	0,01	0,02	0,01	0,95	0,01
Ru09	0,01	0,01	0,01	0,96	0,02
Ru10	0,01	0,02	0,02	0,93	0,01
Ru11	0,01	0,01	0,01	0,98	0,01
Ru12	0,01	0,01	0,01	0,97	0,01
Ru13	0,01	0,01	0,01	0,97	0,01
Ru14	0,01	0,10	0,05	0,81	0,03
Ru15	0,01	0,01	0,01	0,98	0,01
Ru16	0,01	0,02	0,05	0,90	0,02

Fait à Montpellier le 14 novembre 2012