

Analyse génétique de 30 truites de la Lyonne (26) Conséquences de la fragmentation du milieu

Projet SAG2

Rapport de novembre 2012



© <http://www.bivouak.net>

Analyses statistiques, interprétation, rédaction: **Patrick Berrebi** *
Analyses moléculaires: **Genindexe** **

* 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

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

1. Introduction

Le barrage de Bouvante, sur la Lyonne (coulant vers le Vernaison puis l'Isère puis le Rhône ; département de la Drôme), a été construit en 1925 pour produire de l'électricité dans une usine située à six kilomètres en aval, sur le cours du torrent. Une conduite forcée de plus de 5 km amène l'eau depuis le barrage jusqu'à la centrale.

Outre ce barrage, de nombreux obstacles naturels et artificiels jalonnent ce cours d'eau.

Mandaté par EDF CIH (le Bourget du Lac), SAGE Environnement (à Annecy le Vieux) a commandé à l'Institut des Sciences de l'Evolution (Université Montpellier 2) une étude génétique afin d'évaluer l'impact du barrage et des divers obstacles sur la continuité génétique des peuplements de truite commune.

2. Echantillonnage

Pour cela, la capture de 30 truites, réparties en 5 stations en amont et en aval du barrage, a permis le prélèvement inoffensif de morceaux de nageoire caudale pour analyse. Les échantillons sont parvenus au laboratoire de Montpellier le 20 août 2012.

	station	n° ISEM	n° terrain	N	date
1	Lyonne le Haut amont barrage (station 1)	T22943 à T22952	BO1-1 à BO10-1	10	19/07/2012
2	Lyonne PK1000 aval barrage (station 2)	T22953 à T22962	BO1-1 à BO10-2	10	20/07/2012
3	Lyonne PK2000 aval barrage (station 3)	T22963 à T22972	BO1-1 à BO10-3	10	21/07/2012
4	Lyonne amont confl. Léoncel (station 4)	T22973 à T22978	BO1-1 à BO10-4	6	22/07/2012
5	Lyonne aval confl. Léoncel (station 5)	T22979 à T22985	BO1-1 à BO10-5	7	23/07/2012
6	Genesalm-11 Véore	T16765 à T16776	str530 à str565	12	2008
7	Genesalm-09 Drôme	T16795 à T16806	str560 à str571	12	2008
8	Genesalm-37 Pisciculture (Isère)	T16950 à T16961	108-125 à 108-226	12	2008
	Genesalm-36 Pisciculture (Seine Maritime)				

Tableau 1 : Liste des échantillons analysés (échantillons de la Lyonne, références sauvages, références domestiques)

3. Méthode moléculaire

Cet échantillonnage a été analysé au niveau de 6 locus microsatellites: Oneµ9, Mst85, Ss0SL-311, Omy21DIAS, MST543 et Ss0sL438.

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 produits amplifiés sont mis à migrer dans des gels d'acrylamide dénaturant (brins d'ADN séparés les uns des autres).

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 produite est la base de tous les calculs statistiques.

4. Méthode statistiques

La matrice de données génotypiques additionnée des génotypes de référence d'origine connue (liste en Tableau 1) dont 12 truites provenant de deux piscicultures élevant la souche domestique INRA-SEMII, la plus répandue en France, sert de base aux calculs comparatifs.

Dans le but de répondre aux questions posées, trois méthodes complémentaires sont 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 données.

- Une méthode plus quantitative consiste à rechercher les meilleurs regroupements de truites (**assignment**) 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.

- Enfin, dans la mesure où une des conséquences importantes de la discontinuité des rivières est la perte de polymorphisme, une estimation de l'**hétérozygotie** (ou « diversité génétique » : paramètre H) a été faite, bien que ce paramètre soit très sensible à la taille de l'échantillon. Les échantillons de la présente étude allant de 6 à 10 truites, il est certain que ces faibles tailles vont influencer ce paramètre.

5. Résultats

5.1 - Analyse multidimensionnelle

Les deux analyses (Figures 1 et 2, respectivement globale et limitée à la Lyonne) nous apportent quelques informations qualitatives:

- l'impact des repeuplements en truitelles ou truites domestiques atlantiques est négligeable (Figure 1);

- les populations de truites sauvages du même bassin (le Rhône) mais situés dans des sous-bassins proches mais distincts (Véore et Drôme) sont génétiquement distincts des truites de la Lyonne (Figure 1);

- il y a une rupture qualitative de la génétique des échantillons amont (Lyonne 1, 2 et 3) et aval (4 et 5). Le barrage de Bouvante n'apparaît pas comme un obstacle décisif (entre Lyonne 1 et 2). L'obstacle entre les échantillons 3 et 4 semble beaucoup plus important (Figure 2).

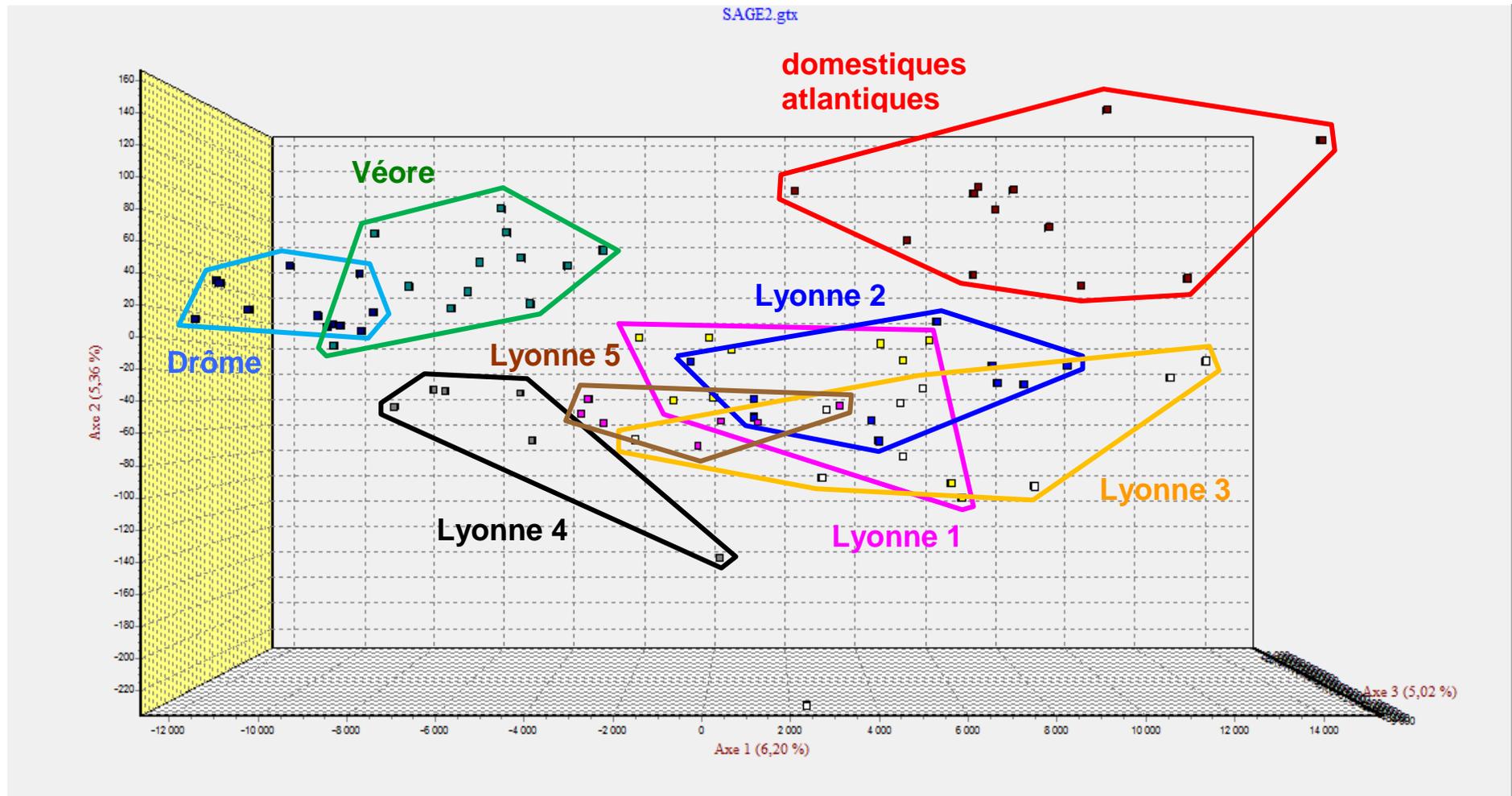


Figure 1 : Analyse multidimensionnelle basée sur les caractéristiques génétiques des 8 échantillons décrits au Tableau 1. Le jeu de couleurs choisi a été maintenu dans la figure suivante. Les points représentent les truites et les enveloppes les échantillons. Plus deux points sont proches sur le graphique et plus les deux truites qu'ils représentent sont génétiquement similaires.

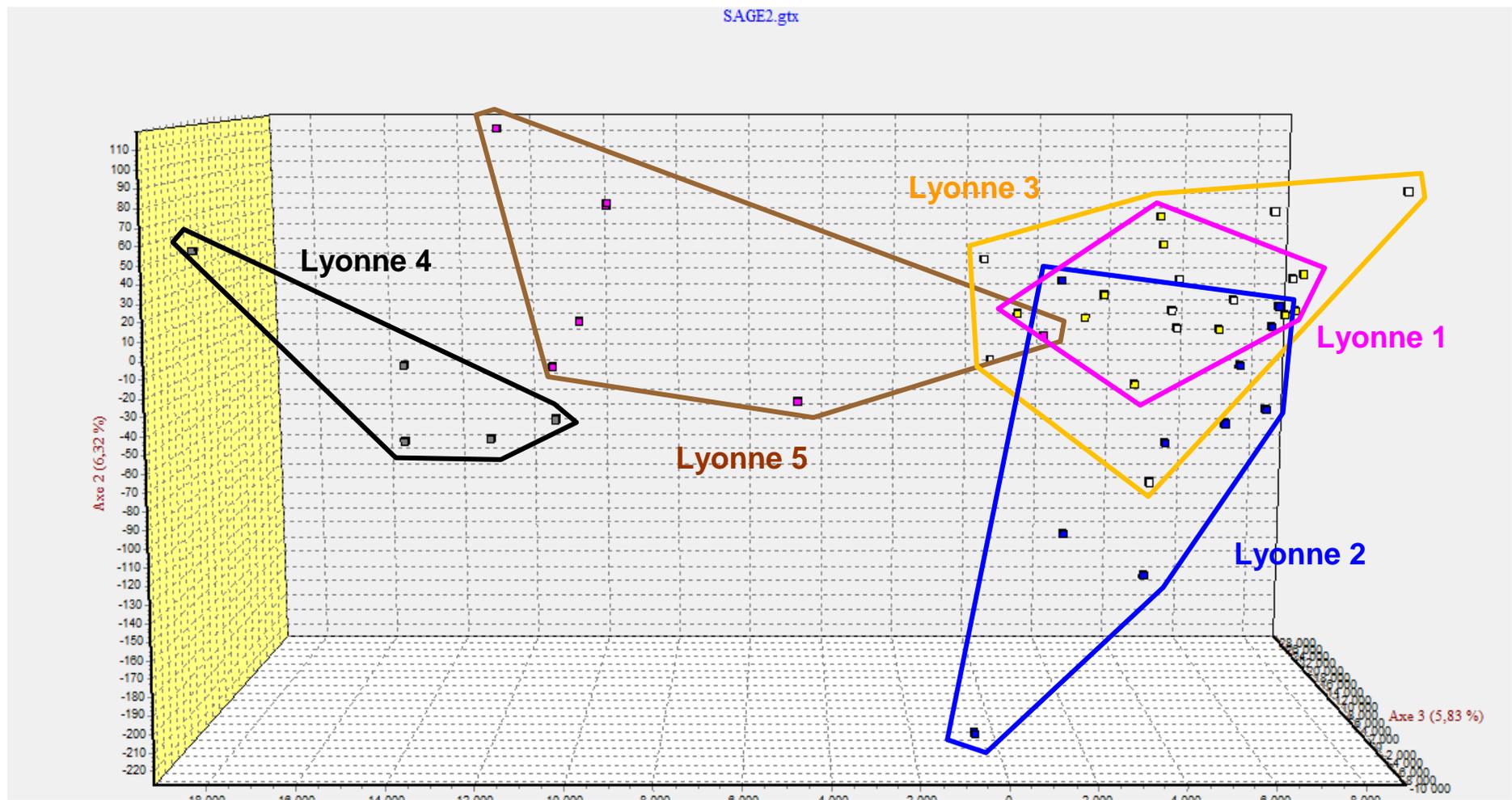


Figure 3 : Analyse multidimensionnelle similaire à celle de la figure précédente, mais en ne considérant que les échantillons de la Lyonne. Le groupe d'échantillons à droite (amont) s'oppose le long de l'axe 1 (horizontal, le plus informatif) aux deux échantillons plus aval (à gauche).

5.2 - Analyse d'assignation

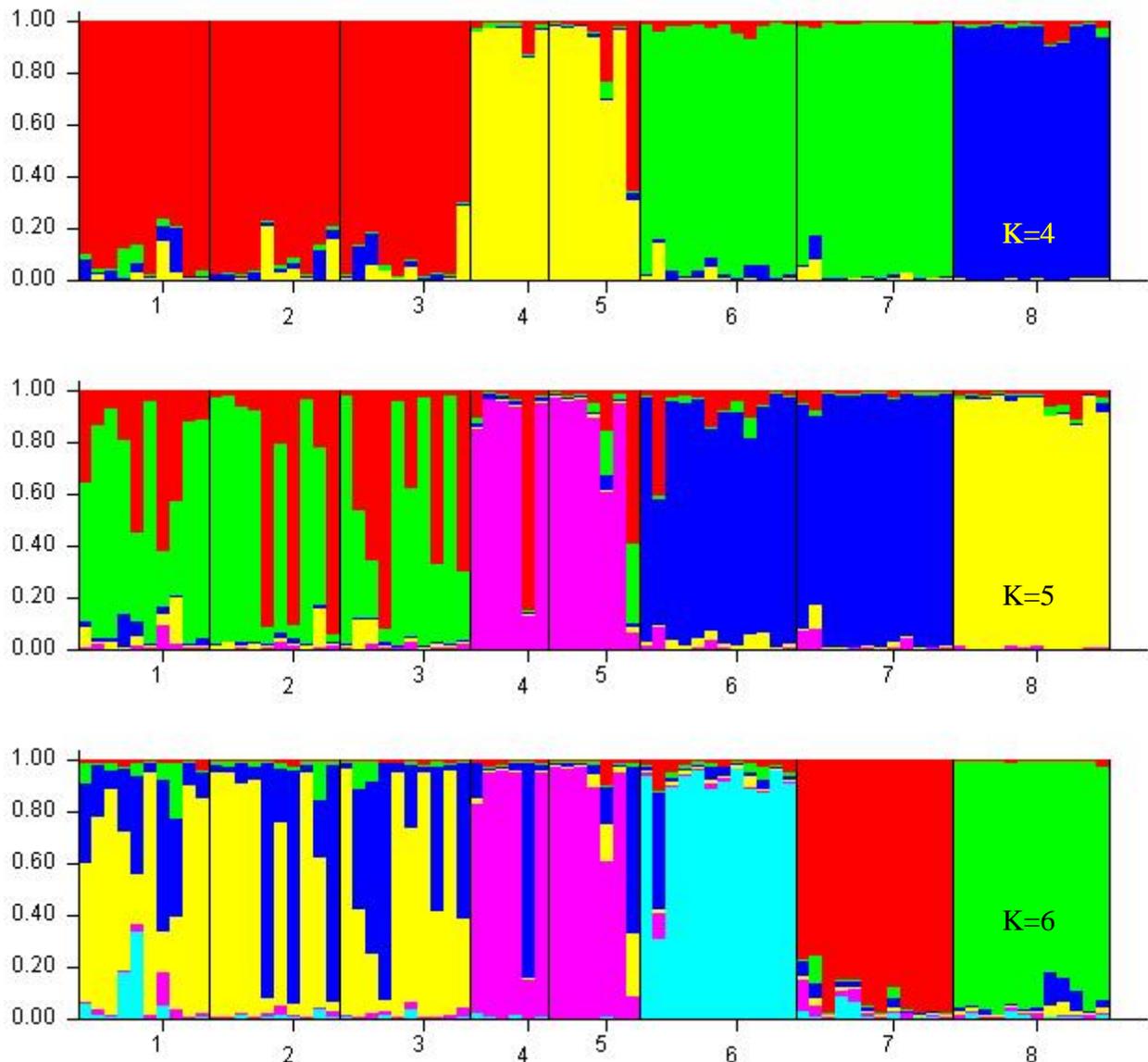


Figure 4 : Ces graphiques d'assignation donnent les meilleures partitions des 30 truites de la Lyonne et des références en 4, 5 ou 6 sous-groupes. Les couleurs sont attribuées au hasard par le logiciel STRUCTURE. Dès $k=4$, nous distinguons l'amont de la Lyonne (rouge), l'aval (jaune), les autres populations sauvages (vert) et les domestiques atlantiques (bleu). $K=5$ est sans intérêt et $K=6$ nous permet de voir que bien que très proches, les échantillons de la Véore et de la Drôme sont cependant discriminables.

5.3 – Diversité génétique

La mesure du paramètre H peut se faire de deux façons : une simple mesure du pourcentage de génotypes hétérozygotes dans chaque échantillon (H_o ou hétérozygotie observée) ou l'application de la formule d'équilibre de Hardy-Weinberg qui équivaut à estimer la diversité génétique si les fréquences alléliques étaient les mêmes mais si l'équilibre panmictique était parfait (H_e ou hétérozygotie théorique ou espérée). L'écart entre H_o et H_e permet de calculer le F_{is} de la population qui, si il est significatif, montre que la population d'où est tiré l'échantillon était en déséquilibre panmictique (chez la truite, c'est en général la

marque d'introductions récentes, bien que certaines populations soient en déséquilibre structurel).

station	N	Hnb	He	Fis	significativité
Lyonne le Haut amont barrage (station 1)	10	0,7763	0,7375	-0,03226	ns
Lyonne PK1000 aval barrage (station 2)	10	0,7819	0,7419	0,02306	ns
Lyonne PK2000 aval barrage (station 3)	10	0,7921	0,7525	0,01168	ns
Lyonne amont confl. Léoncel (station 4)	6	0,6338	0,581	0,18103	*
Lyonne aval confl. Léoncel (station 5)	7	0,7399	0,6871	-0,06739	ns
Genesalm-11 Véore	12	0,6739	0,6458	0,07563	ns
Genesalm-09 Drôme	12	0,4915	0,4711	-0,01799	ns
Genesalm-37 Pisciculture (Isère)	12	0,7307	0,7002	0,13058	*
Genesalm-36 Pisciculture (Seine Maritime)					

Tableau 2 : Analyse de la diversité génétique et de l'écart à la panmixie.

6. Interprétation et discussion

Les analyses moléculaires nous donnent une description assez claire des populations étagées le long de la Lyonne :

- bien que d'un type génétique propre à la Lyonne, les populations étudiées subissent un impact important suite à la fragmentation du linéaire;
- contrairement à l'attendu, le fractionnement a surtout un effet entre les stations 3 et 4 et non entre les 1 et 2 (barrage de Bouvante);
- les conséquences mesurables de ce fractionnement sont des différences génétiques nettes (Figures 3 et 4) et une baisse conséquente de la diversité (mais voir remarque ci-dessous);
- la diversité génétique est remarquable en amont de la Lyonne: en général, la diversité des populations sauvages est inférieure à celle des domestiques, issues de multiples mélanges;
- le déséquilibre de panmixie, dénonçant en général des manipulations par l'homme (repeuplement le plus souvent) n'est significatif qu'à l'échantillon 4 exempt de formes domestiques comme toutes les populations analysées (Figure 4).

Remarque concernant la diversité génétique: en général, la baisse de diversité dans un cours d'eau donné est liée à l'effectif des populations, lui-même souvent lié à la surface ou au volume du segment de rivière. Ici, il est possible que le segment correspondant à l'échantillon 4 soit le plus petit. Cette baisse peut être aussi un artéfact lorsque l'échantillon analysé est plus petit. C'est hélas le cas puisqu'il y a une sorte de parallélisme entre les colonnes N et H du tableau 2. Cette baisse de diversité génétique ne peut donc pas être certaine.

En conclusion, l'analyse des peuplements de truites de la Lyonne confirme une fragmentation populationnelles essentiellement entre les points de captures 3 et 4, peut-être à cause de l'influence du Léoncel. Cette rupture s'accompagne d'une baisse de diversité génétique, mais il n'est pas possible de l'affirmer.

Fait à Montpellier le 23 novembre 2012