

**Composition génétique des truites des Alpes Maritimes
Cinquième campagne - 2012
Gordolasque, Lane, Estéron, Bévéra et Madone des Fenestres**

**Projet AM5
Rapport de novembre 2012**

La Lane



© Christophe Barla – Fédé06

Analyses statistiques, interprétation, rédaction: **Patrick Berrebi ***
Données historiques, écologiques et cartographiques: **Christophe Barla ****
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

**FDAPPMA des Alpes Maritimes, 455, promenade des Anglais "Le Quadra" 06299 NICE CEDEX 3
tel: 04 93 72 55 77, c.barla@peche-cote-azur.com

1. Introduction

Ce rapport aborde la cinquième série d'analyses génétiques réalisées sur le réseau hydrographique des Alpes Maritimes à la demande de la Fédération des Alpes-Maritimes pour la Pêche et la Protection du Milieu Aquatique (FD06). Cette campagne d'échantillonnage de 2012 a réuni 5 échantillons de 20 truites dont les clips de nageoires ont été livrés au laboratoire de Montpellier (ISEM) le 15 octobre 2012.

2. Echantillonnage

Afin d'assurer la compréhension des résultats, l'adjonction d'échantillons de référence issus d'analyses antérieures est essentielle. Leur choix (Tableau 1) est une partie délicate de l'analyse. Toute analyse, toute estimation des pourcentages de chaque lignée, dépend des échantillons de référence choisis. Un trop grand nombre de références est également préjudiciable.

N° loc.	station	bassin	nombre	date	N° ISEM	N° terrain
01	Gordolasque (Véséou inf.)	Vésubie/Var	20	juin-12	T24001-T24020	FD06-2012-001 à 020
02	Lane (amont lac Thorenc)	Verdon/Rhône	20	juin-12	T24021-T24040	FD06-2012-021 à 040
03	Estéron (St Auban)	Var	20	juin-12	T24041-T24060	FD06-2012-041 à 060
04	Bévéra (Rouscoun)	Roya	20	juillet-12	T24061-T24080	FD06-2012-061 à 080
05	Madone des Fenestres (point 355: la pointe)	Vésubie/Var	20	juillet-12	T24081-T24100	FD06-2012-081 à 100
06	Loup (pont de Cipièrre)	Loup	20	juillet-09	T16126-T16145	Fédé06-001 à 020
07	Tinée (amont St Sauveur)	Var	20	juillet-09	T16206-T16225	Fédé06-110 à 129
08	Gordolasque (aval prise eau EDF)	Vésubie/Var	20	juillet-11	T21021-T21040	fédé06-2011-061 à 080
09	Molières aval (Pierre Blanche)	Tinée/Var	20	juillet-11	T21001-T21020	fédé06-2011-041 à 060
10	Fontan (aval)	Roya	20	août-07	T11617-T11637	A1 à A21
11	Pisciculture de Roquebillière	Doubs	20	février-08	T13061-T13080	G0108-0341 à 0360
12	Cians (Petites clues)	Var	20	juillet-09	T16146-T16165	Fédé06-030 à 049
13	Gordolasque (Vallon de la Valette)	Vésubie/Var	20	juillet-10	T18058-T18077	231 à 250
14	4 piscicultures françaises	-	20	2008	T16926...T17020	108-101...108-405

Tableau 1 : Liste des échantillons analysés dans cette étude. **En jaune** les échantillons de 2012; **en saumon** les échantillons de références des lignées naturelles connues des Alpes Maritimes; **en vert** la souche majoritairement méditerranéenne (Doubs) de la pisciculture de Roquebillière; **en rose** les populations de rivière de type atlantique; **en mauve** la souche domestique atlantique commerciale.

La distribution géographique des échantillons de la campagne 2012 est détaillée dans la Figure 1. L'Annexe donne la topographie détaillée des stations d'échantillonnage.



Figure 1 : Localisation des 5 stations d'échantillonnage de la campagne 2012.

3. Méthodes moléculaires

Cet échantillonnage a été analysé au niveau de 5 locus microsatellites qui ont déjà fait leur preuve dans ce cas de figure: Omm1105, Omy21Dias, Oneμ9, SsoSL311 et Ssa197.

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 délimitée par les amorces) 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 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 quatre lots de 10 truites provenant de piscicultures élevant la souche domestique INRA-SEMII, la plus répandue en France, sert de base aux calculs.

Dans le but de répondre aux questions posées, deux 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 résultats.

- Une méthode plutôt quantitative consiste à rechercher les meilleurs regroupements de truites (**assignment**) au moyen du logiciel STRUCTURE. Le logiciel découpe l'ensemble des truites analysées (ici 280) en autant de sous-groupes que la valeur du paramètre k. Pour cela, la qualité des différents découpages automatiquement produits est estimée à chaque itération (statistiques bayésiennes) en fonction des équilibres populationnels des sous-groupes engendrés. Ici, 50.000 burn'in (recherche grossière) suivis de 160.000 itérations (recherche fine) permettent de proposer les meilleurs découpages en k sous-groupes. 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

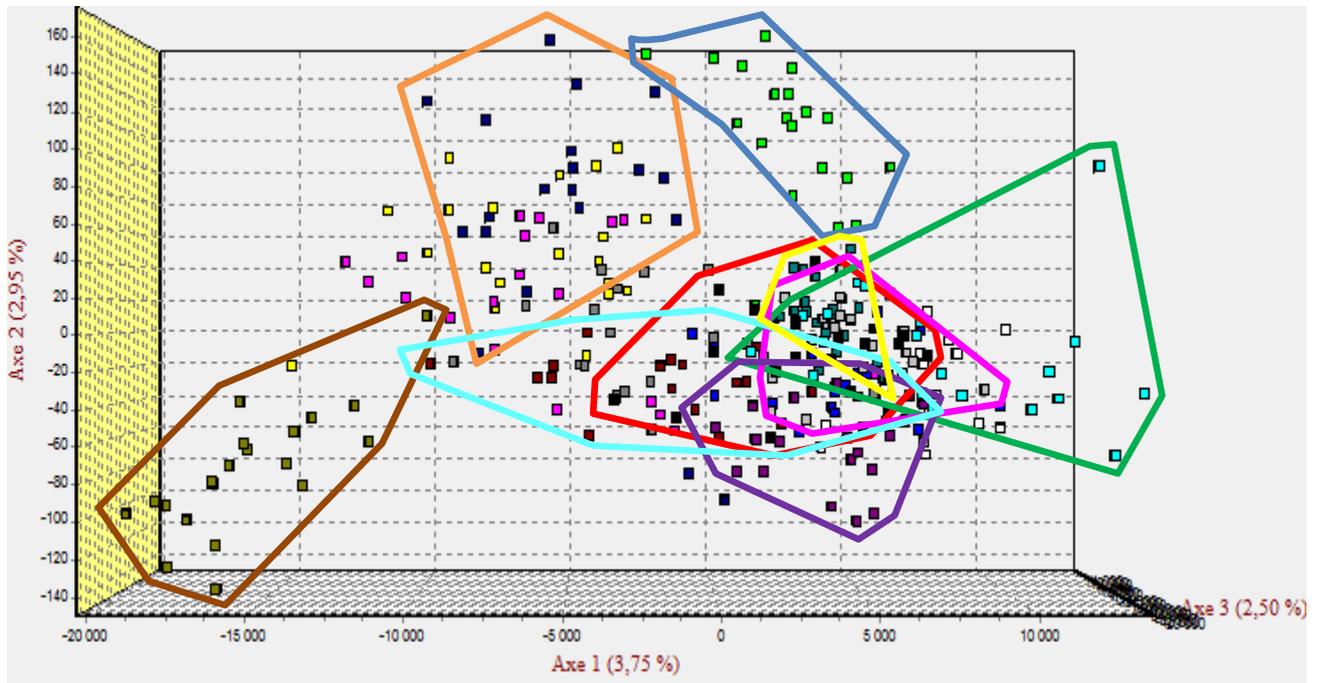


Figure 2 : Ceci est le « fond de carte » de l'analyse qui suit (Figures 3 à 7). En périphérie, nous trouvons la Roya (**brun** bas gauche), la Tinée (**orange** haut centre), Molières (**bleu** haut droite), Gordolasque atlantique (droite **vert**), Gordolasque à 78 sauvage (**bleu** clair) et Roquebillière (**violet** centre bas). En plein centre nous trouvons les truites commerciales atlantiques (**rouge**) et Cians (**rose**). La petite enveloppe **jaune** centrale est la population du Loup qui se distingue sur l'axe 3

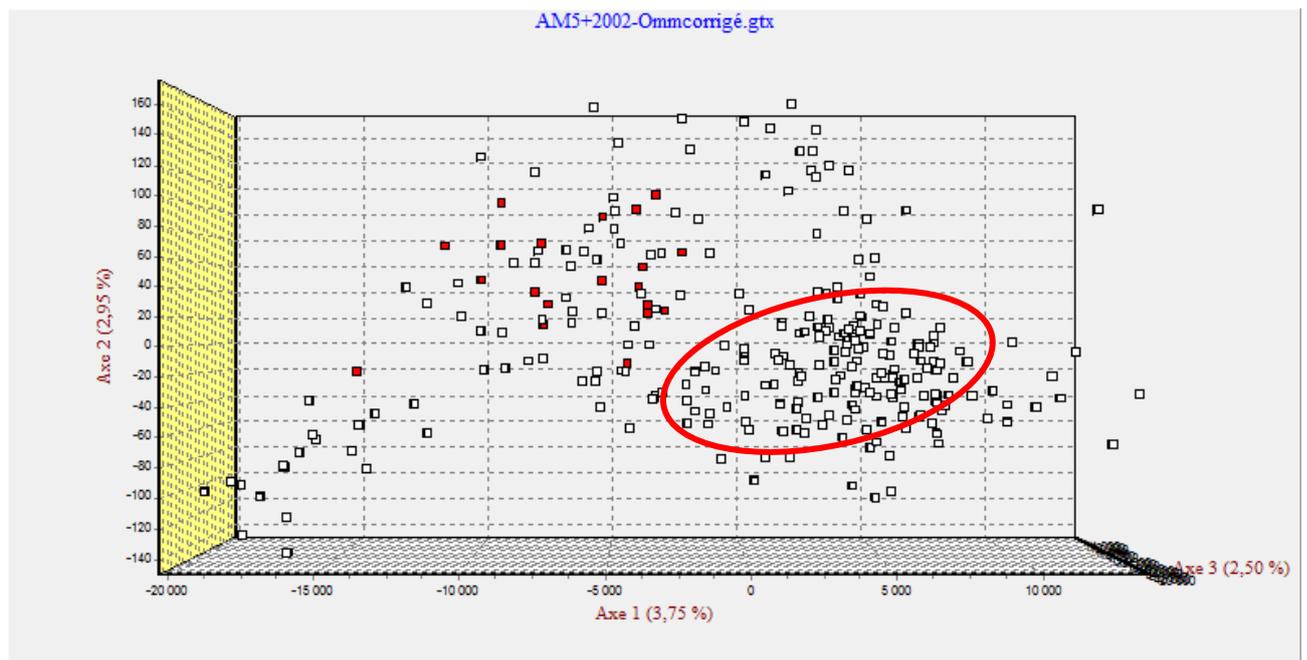


Figure 3 : L'échantillon de la Gordolasque 2012 (Véséou inférieur) se positionne plutôt du côté du type Tinée, mais surtout loin de la zone atlantique (ellipse rouge).

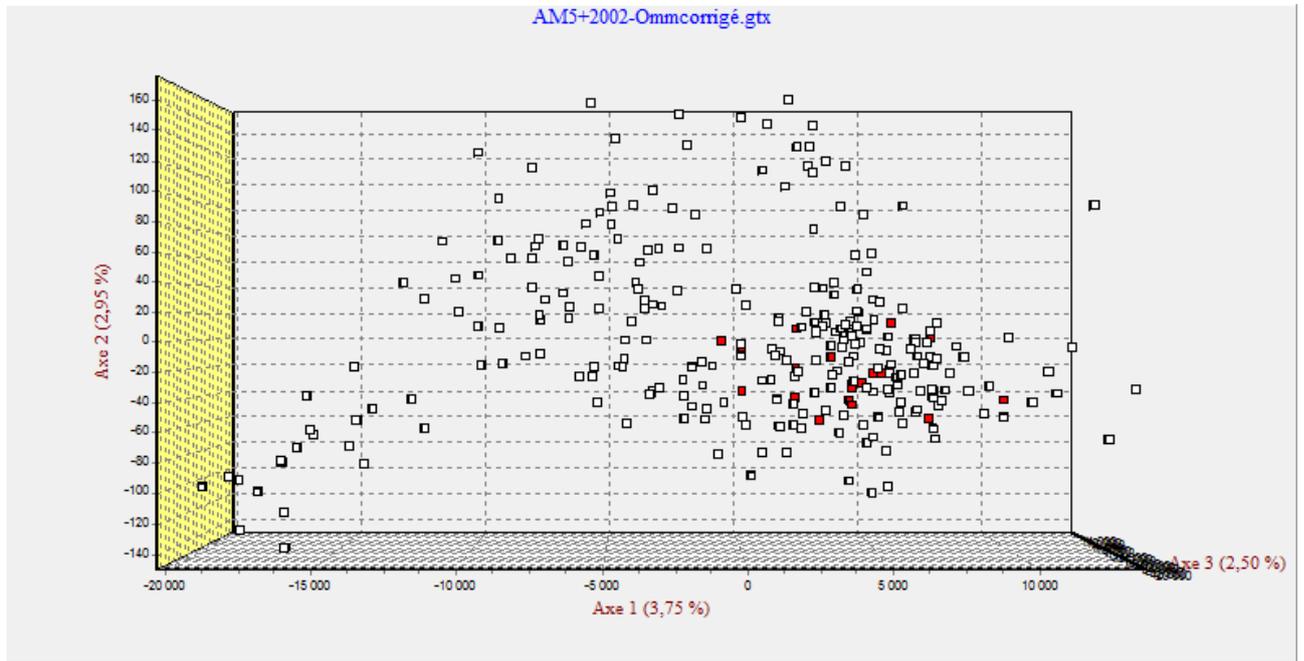


Figure 4 : A l'opposé, la Lane est exactement posée dans la zone atlantique. L'analyse d'assignation devra confirmer cette interprétation.

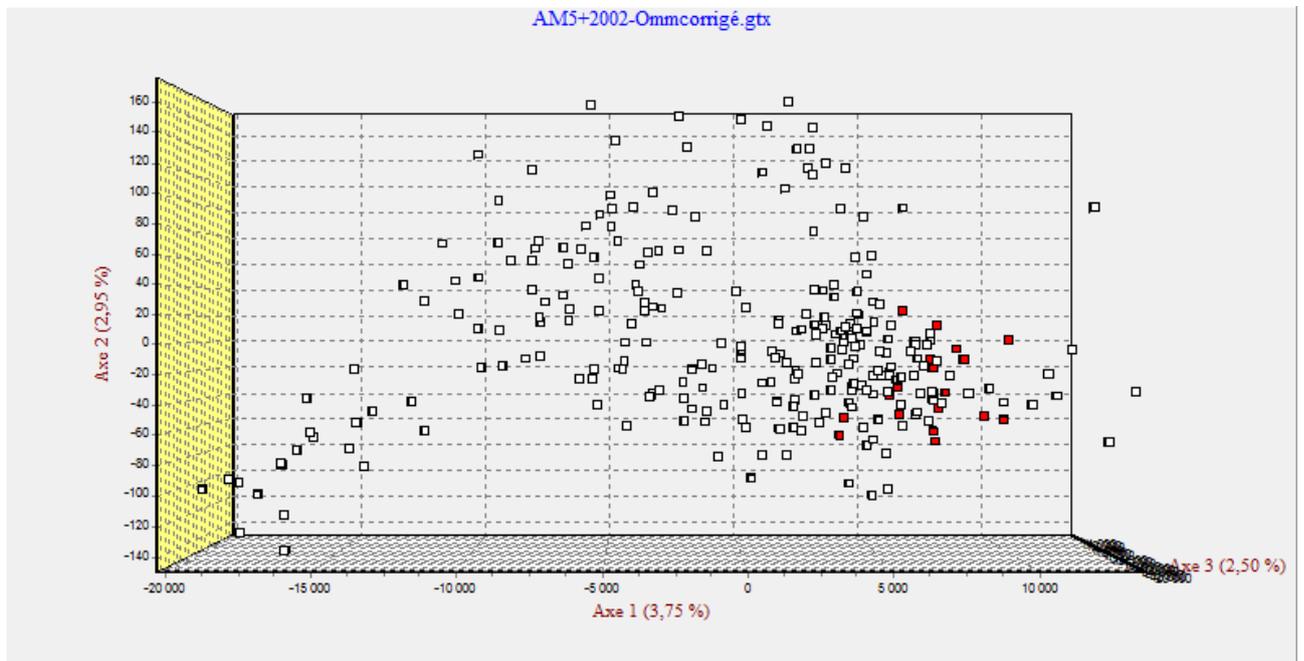


Figure 5 : De la même façon, l'échantillon Estéron 2012 (St Auban) est positionné dans la zone atlantique du graphique, mais déborde vers la droite qui a été nommée "Gordolasque atlantique" à la Figure 2.

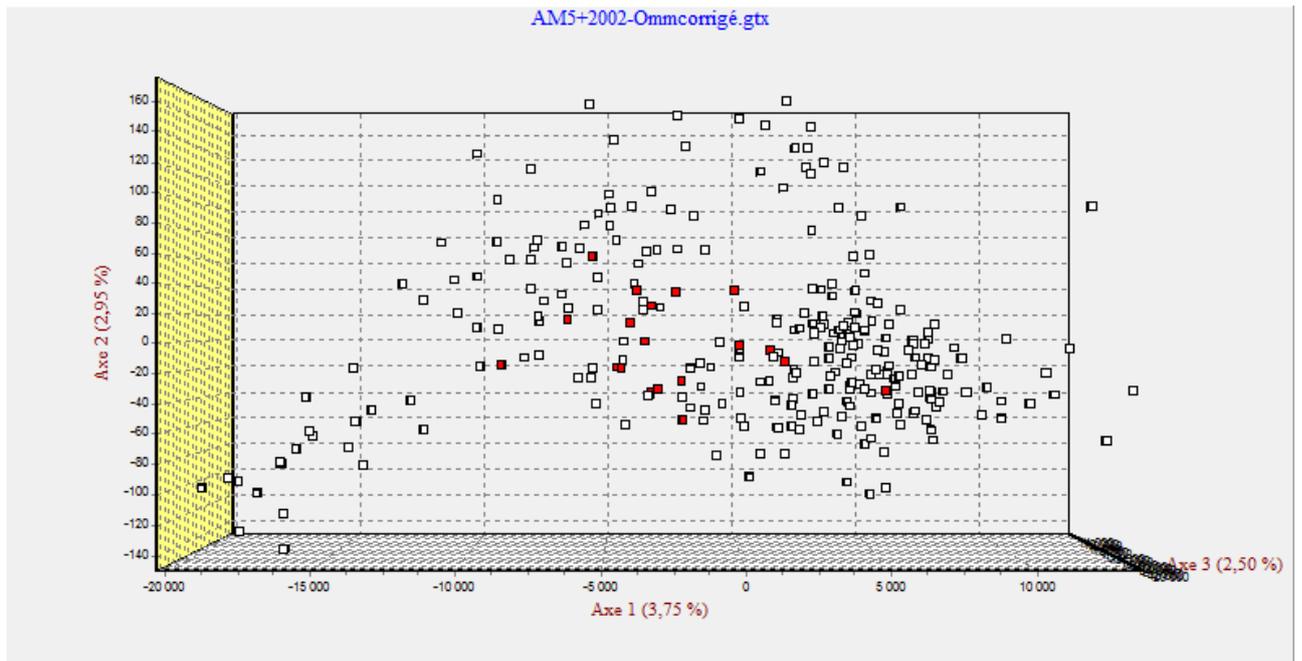


Figure 6 : *La Bévéra 2012 (Rouscoun) est fortement influencée par la zone atlantique, mais s'échappe vers le haut-gauche (Tinée).*

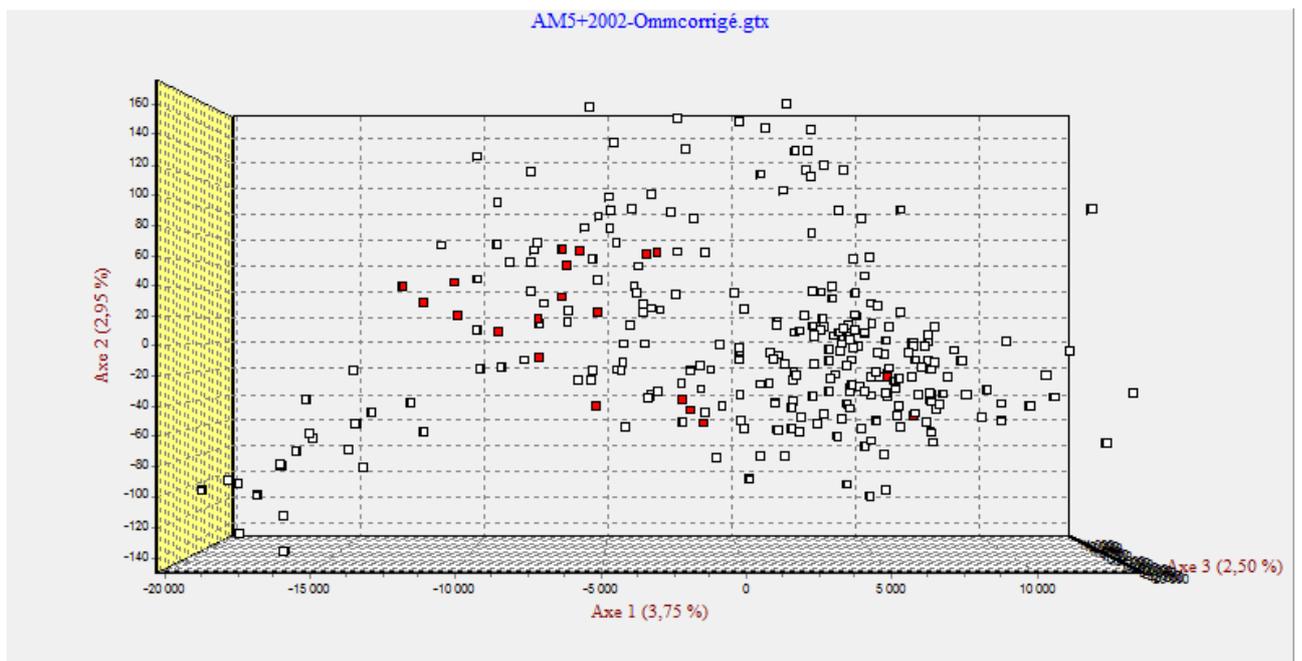


Figure 7 : *L'échantillon de la Madone des Fenestres relie aussi la zone atlantique à droite à la zone Tinée en haut à gauche, mais semble majoritairement de ce dernier type.*

5.2 - Analyse d'assignation

Les analyses d'assignation permettent de confirmer et de chiffrer les proportions des lignées génétiques de truites reconnues dans les Alpes Maritimes (analyses génétiques depuis 2008). La meilleure partition est obtenue avec $k=7$ (Figure 8).

La répétition du test 6 fois a permis de proposer les proportions moyennes indiquées au Tableau 2.

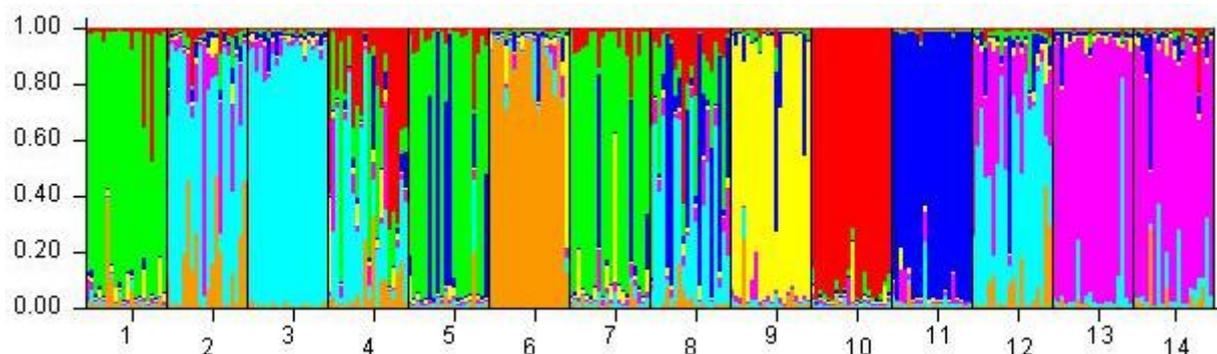


Figure 8 : Cette analyse d'assignation confirme les résultats de l'analyse multidimensionnelle tout en les précisant. Chaque fine ligne verticale correspond à une truite. Les zones délimitées par des traits noirs sont les 14 échantillons décrits au Tableau 1. Sept lignées de référence sont considérées comme significatives par l'analyse d'assignation: quatre lignées naturelles (Loup, Tinée, Molières et Roya) et trois lignées domestiques (Roquebillière, Cians atlantique et souche commerciale atlantique).

n°	station	Loup	Tinée	Mo- lières	Roya	Roque- billière	Cians	Domes- tiques
1	Gordolasque (Véséou inf.)	4	83	3	6	1	1	1
2	Lane (amont lac Thorenc)	16	3	2	3	3	60	14
3	Estéron (St Auban)	1	1	1	1	3	90	4
4	Bévéra (Rouscoun)	7	20	5	27	4	31	7
5	Madone des Fenestres (point 355: la pointe)	2	68	2	4	20	2	1
6	Loup (pont de Cipièrè)	84	1	6	1	3	3	2
7	Tinée (amont St Sauveur)	2	75	6	5	8	2	2
8	Gordolasque (aval prise eau EDF)	3	18	2	12	27	31	6
9	Molières aval (Pierre Blanche)	3	2	83	1	8	2	3
10	Fontan (aval)	1	2	2	92	1	1	1
11	Pisciculture de Roquebillière	1	1	1	1	90	2	3
12	Cians (Petites clues)	8	3	3	1	8	51	27
13	Gordolasque (Vallon de la Valette)	1	1	2	1	3	7	85
14	4 piscicultures françaises	4	1	2	2	6	7	78

Tableau 2 : Traduction des données contenues dans la Figure 8 en pourcentages. Les cinq nouvelles stations sont caractérisées selon les 7 lignées de référence considérées comme significatives par l'analyse d'assignation.

6. Interprétation et discussion

6.1. Les lignées de référence

Il est important, à chaque campagne d'analyses, de tester et vérifier l'existence de lignées génétiques sauvages ou domestiques dans le département des Alpes Maritimes. Ce département étant parcouru par des fleuves côtiers, il est plus riche que d'autres départements de plaine, en souches endémiques dues à l'isolement. Le fait que la plupart des fleuves ont montré des lignées génétiques distinctes (donc endémiques) est une belle démonstration:

Suggérées par les analyses multidimensionnelles (Figure 2 et suivantes), le logiciel STRUCTURE reconnaît quatre lignées sauvages: **Loup** et **Molières** ne sont pas retrouvées dans les échantillons de 2012. Par contre **Tinée** se retrouve en abondance dans la Gordolasque et la Madone des Fenestres, deux rivières du bassin du Var. Le type **Roya** se retrouve seulement à 27% dans la Bévéra alors qu'ils font partie du même bassin.

L'analyse d'assignation reconnaît trois lignées domestiques: **Roquebillière** ne se retrouve que dans la Madone des Fenestres à environ 20%; la **souche domestique** nationale, d'origine atlantique a eu peu d'impact: 14% dans la Lane et 7% dans la Bévéra.

La souche dominante du **Cians** n'a été considérée comme domestique que dans la mesure où l'analyse mitochondriale a clairement montré qu'elle était d'origine atlantique (Berrebi, Shao, Reynaud & Barla, 2010). Ici nous en avons une autre preuve puisque la Bévéra, logiquement de type **Roya**, n'est qu'à 27% de son type naturel et à 31% de type **Cians**. Il en est de même de la Lane et surtout de l'Estéron, montrant par là la distribution transversale et donc artificielle de cette lignée.

Lane, Haut Esteron et Cians ont été largement alevinée avec des souches atlantiques italiennes. Notre problème est que nous n'avons pas d'échantillons de cette souche domestique ancienne pour confirmer cette hypothèse.

6.1. Que peut-on savoir sur les 5 stations de la campagne 2012?

Station 1 :

Cette station de la **Gordolasque** (en connexion directe avec la Vésubie) présente une population purement de type **Tinée**, donc sauvage. La Vésubie a déjà été analysée (Berrebi, Shao, Reynaud & Barla, 2010). Elle a présenté majoritairement la souche **Tinée** (ou "Var").

Ce secteur possède une population et une densité surprenante. La présence importante de caches et la forte végétation rivulaire sont des atouts qui assurent un milieu favorable pour cette espèce.

Station 2 :

La **Lane** présente essentiellement le type atlantique **Cians**, mais aussi 16% de gènes de type **Loup** et 14% de type domestique commercial.

C'est un cours d'eau particulier, car elle coule en amont sur un plateau, formant ainsi un chevelu très ramifié, qui assure des micro caches pour la truite et les écrevisses à pieds blancs. On note une absence d'alevinage dans ce secteur depuis plus de 10 ans. Il n'y a pas d'infranchissable entre ces deux cours d'eau et l'Artuby analysée lors de la dernière campagne (Berrebi, Shao & Barla, 2012) en dehors d'un lac construit dans les années 50 qui a depuis cloisonné ce cours d'eau. La comparaison Lane/Artuby n'a pas été faite dans ce rapport, mais le type **Cians** est considéré comme atlantique domestique ancien possiblement d'origine italienne. En l'absence d'alevinage "moderne", le cloisonnement de 1950 a pu maintenir cette souche ancienne en amont.

La population de truite est conforme à l'attendu aussi bien en nombre qu'en classe de taille. On note sur ce cours d'eau des périodes d'assecs assez sévère qui rendent la vie piscicole difficile et une connaissance du milieu délicate en ce qui concerne le suivie de la reproduction.

Station 3 :

L'**Estéron** (à St Auban) est entièrement de type Cians. Ici encore, il s'agirait de la survie (sans compétition) d'une souche domestique italienne ancienne, étant donné que cette partie du cours d'eau n'a pas été impactée par des alevinages depuis au moins 10 ans.

Cette station est en tête de cours d'eau et est un secteur conforme pour la vie piscicole. On note une population importante de truites, aussi bien en densité qu'en classe de taille, sans doute en rapport avec l'absence de pratique de pêche et de pression anthropique. La diversité des caches liées à la végétation rivulaire offre effectivement un milieu très favorable pour la vie salmonicole ainsi que pour la reproduction.

A noter que la bas Estéron possède une population composée à 55% du type Tinée (Berrebi, Cherbonnel & Barla, 2011), cantonnée aux parties basse et intermédiaire, car le cours d'eau est naturellement cloisonné.

Station 4 :

Ce point d'analyse sur la **Bévéra** vient en complément de l'étude génétique réalisée en 2010 sur ce même cours d'eau (Berrebi, Shao & Barla, 2012). Cet échantillon de 2010, fait en mont de Sospel, présentait une composition très complexe avec une majorité de types domestiques (Roquebillière et atlantique commerciale) et une minorité de types naturels (Roya et Tinée).

	Loup	Tinée	Molières	Roya	Roquebillière	Cian	Domestique
B5-01			0,3	0,6			
B5-02		0,3				0,2	0,4
B5-03				0,2		0,7	
B5-04		0,9					
B5-05				0,2		0,7	
B5-06		0,1				0,8	
B5-07		0,1		0,4		0,4	0,1
B5-08	0,1	0,3	0,1	0,3		0,2	
B5-09				0,3		0,6	
B5-10	0,2					0,7	
B5-11		0,7		0,1		0,1	0,1
B5-12	0,3			0,1	0,3	0,1	0,1
B5-13		0,5		0,2		0,2	
B5-14	0,1	0,2	0,2	0,3		0,2	
B5-15	0,1	0,1		0,1	0,1	0,2	0,4
B5-16	0,1	0,2		0,7			
B5-17		0,2	0,1	0,7			
B5-18	0,1			0,7		0,1	
B5-19	0,2	0,1		0,4	0,1	0,3	
B5-20		0,1		0,4	0,1	0,4	

Tableau 3 : Proportion des 7 lignées génétiques du tableau 2 dans chaque truite de la Bévéra. Ces 20 truites sont toutes des hybrides, montrant que la composition complexe de cette population est ancienne.

L'échantillon de 2012, venant d'une population isolée en amont, présente plus de type sauvages (27% de type Roya et 20% de type Tinée). L'apport domestique est essentiellement du type ancien Cians, comme souvent en altitude dans le département.

La population analysée est isolée. On observe un arrêt des alevinages il y a 5 ans sur la zone et une dynamique de croissance de population marquée depuis cet arrêt. La zone de pêche se situe au dessus d'un infranchissable. Le milieu est conforme et est classé comme réservoir biologique dans le Sdage RM et C.

Station 5 :

Cette station a présenté une population de truite essentiellement de type Tinée (environ à 70%) mais est la seule à comprendre une proportion appréciable (20%) de la lignée domestique Roquebillière.

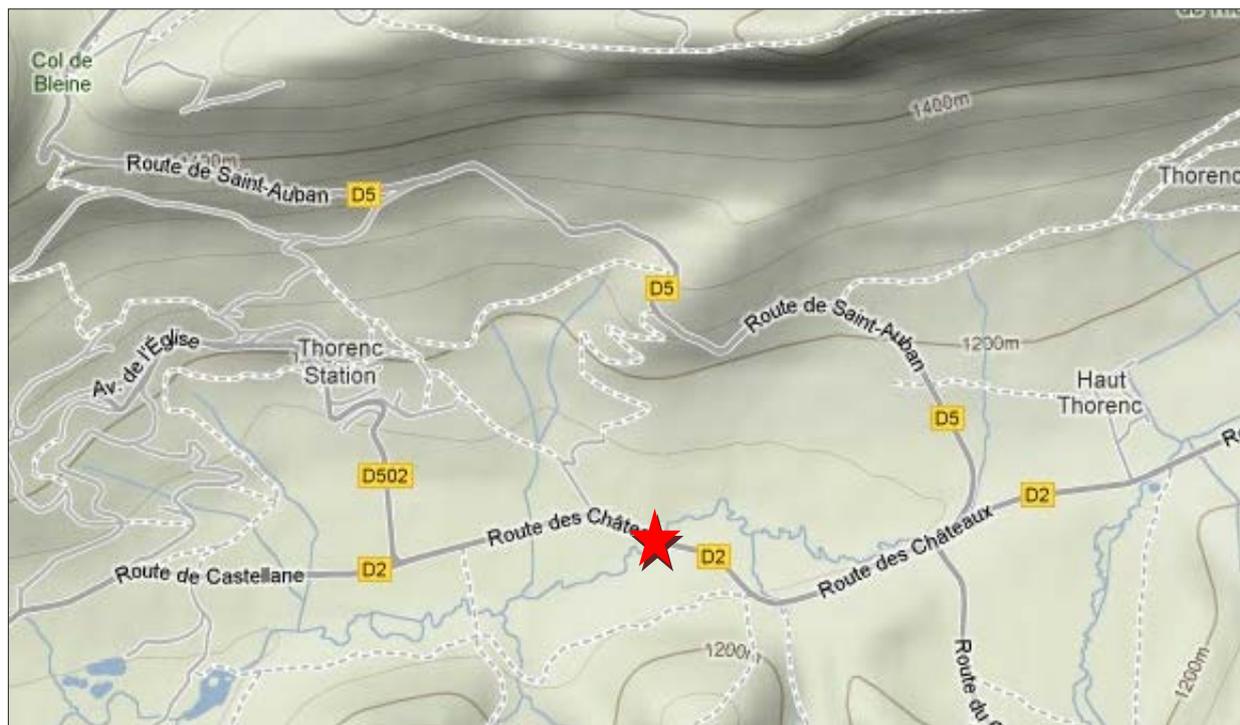
La **Madone des Fenestres** est un cours d'eau typique de montage et même de haute montagne. Son massif cristallin est très peu productif et l'on note des crues épouvantables, capables de dévaster totalement le cours d'eau. Pourtant la population « renaît » de ces crues et l'on observe une croissance importante de la population si les bouleversements climatiques n'impactent pas le milieu d'une manière très marquée. L'arrêt d'alevinage depuis 3 ans a été suivi d'un accroissement de la population comme c'est le cas sur la station étudiée de la Bévéra.

7. Références bibliographiques

- Berrebi P., Shao Z. 2009.** Etude génétique des truites de la Roya (AM1). Université Montpellier 2. 5p. ENL7731.
- Berrebi P., Shao Z., Reynaud N, Barla C. 2010.** Composition génétique des truites du Haut Var et du Loup (Alpes Maritimes) - microsatellites et ADNmt (AM2). Rapport de décembre 2010: Université Montpellier 2. 10p. ENL7928.
- Berrebi P., Cherbonnel C., Barla C. 2011.** Composition génétique des truites des Alpes Maritimes (Siagne, Cagne, Estéron, Gordolasque et Bévéra) - Mars 2011. Rapport d'analyses pour la Fédération de Pêche des Alpes Maritimes (AM3). Université Montpellier 2. 14p. ENL8147.
- Berrebi P., Shao Z., Barla C. 2012.** Caractérisation génétique des truites des Alpes Maritimes (Molières, Gordolasque, Bouyon et Artuby) - Janvier 2012 (AM4). Rapport d'analyse pour la Fédération 06. Université Montpellier 2. 11p. ENL4616.

Fait à Montpellier le 27 novembre 2012

Annexe : Détail des sites d'échantillonnage de 2012



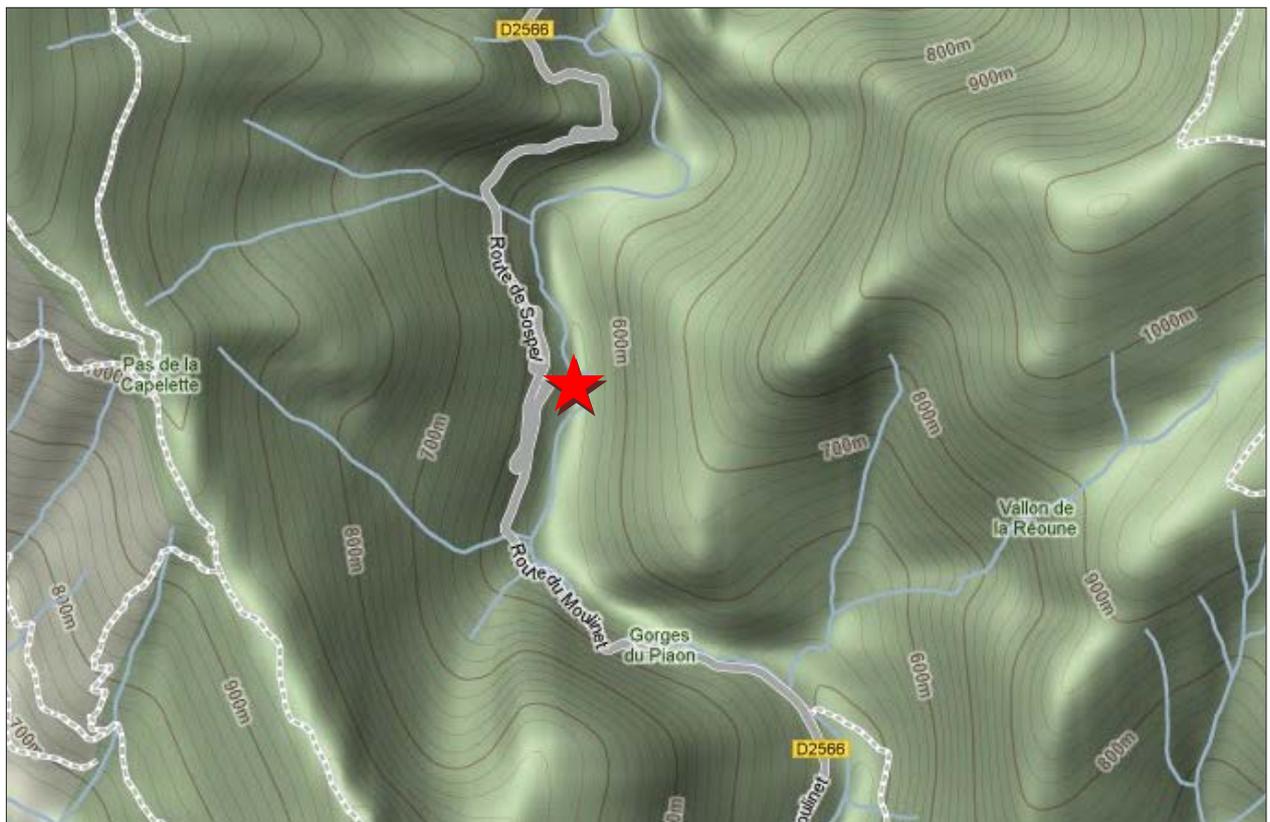
La Lane



Le haut Estéron



Madone des Fenestres



Moyenne Bévera



Basse Gordolasque