

Analyse génétique (microsatellites) des truites de l'aval du Guil Recherche des conséquences de la crue de 2008

Rapport de janvier 2010



Truite méditerranéenne (en haut, Ville-Vieille) et truite fortement hybridée (en bas, Pont de Simoust)
© Fédération de Pêche des Hautes-Alpes (2004)

Analyse statistique et rédaction: **Patrick Berrebi***
Analyse bio-moléculaire: **Corinne Cherbonnel****

- * Institut des Sciences de l'Evolution, UMR5554 CNRS/UM2, 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, ccherbonnel@genindexe.com

1. Introduction

Suite à la crue de 2008 qui a lessivé l'aval du Guil, la question de la modification par dévalaison de la structure génétique de la population en place à l'aval s'est posée, sur la base d'une apparente évolution de la proportion des phénotypes méditerranéens. Des analyses ont été mises en œuvre pour évaluer une éventuelle évolution génétique de la population, notamment par dévalaison, et également pour définir si une souche semble plus fonctionnelle qu'une autre sur ce secteur influencé.

Ce programme a été initié en 2007 par EDF avant reprise des éclusées. Les différents suivis mis en œuvre révèlent comme modification principale une activité de reproduction plus importante dans le tronçon court-circuité (TCC) et dans l'adoux (annexe hydraulique, située en marge de la rivière et alimentée par une résurgence) que dans la partie centrale soumise aux éclusées.

2. Echantillonnage

L'échantillonnage est composé de trois lots : 34 échantillons de nageoire (caudale inférieure) issues de truites du tronçon court-circuité amont (=TCC amont, voir figure 1), 21 de truites au niveau du Pont de Simoust (= station Guil 1 de la figure 1) et 30 de la station Aval restitution (= station Guil 2 de la figure 1). Ces trois stations se situent à l'aval du grand barrage de la Maison du Roy. Ces tissus sont parvenues à l'ISEM (Université Montpellier 2) le 23 septembre 2009.

3. Méthodes moléculaires

Cet échantillonnage a été analysé au niveau de 4 locus microsatellites qui ont déjà fait leur preuve dans la discrimination entre truites sauvages méditerranéennes et truites domestiques de type atlantique: **SsoSL-311**, **Omm1105**, **Ssa197** et **Sfo1**, afin de rendre compatible cette étude avec celle commandée en 2004 par la Fédération de Pêche des Hautes Alpes.

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 (amplification artificielle à l'identique de l'ADN) se font en thermocycleur et les produits amplifiés fluorescents sont mis à migrer dans des gels d'acrylamide dénaturant (brins d'ADN séparés les uns des autres).

Les gels sont scannés et interprétés en terme de génotypes avec l'aide d'un analyseur d'image. La matrice de génotypes (donnée en **annexe 2**) est la base de tous les calculs statistiques.

4. Méthodes statistiques

La matrice de données génotypiques (en **annexe 2**) additionnée des génotypes de référence d'origine connue (un lot de 49 truites provenant de 3 piscicultures élevant la souche domestique INRA-SEMII, la plus répandue en France, et les 6 échantillons du Guil de 2004: Ristolas à l'amont, Gouret, Aigue Agnelle, Ville-Vieille, les Veyers et Pont de Simoust à l'aval).

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 données.

- Une méthode plus quantitative consistant à rechercher les meilleurs regroupements de truites, l'**analyse d'assignation**, au moyen du logiciel STRUCTURE. Le nombre de partition testées (k) est de 2 (distinction entre truites domestiques et sauvages) avec 6 répétitions du test.

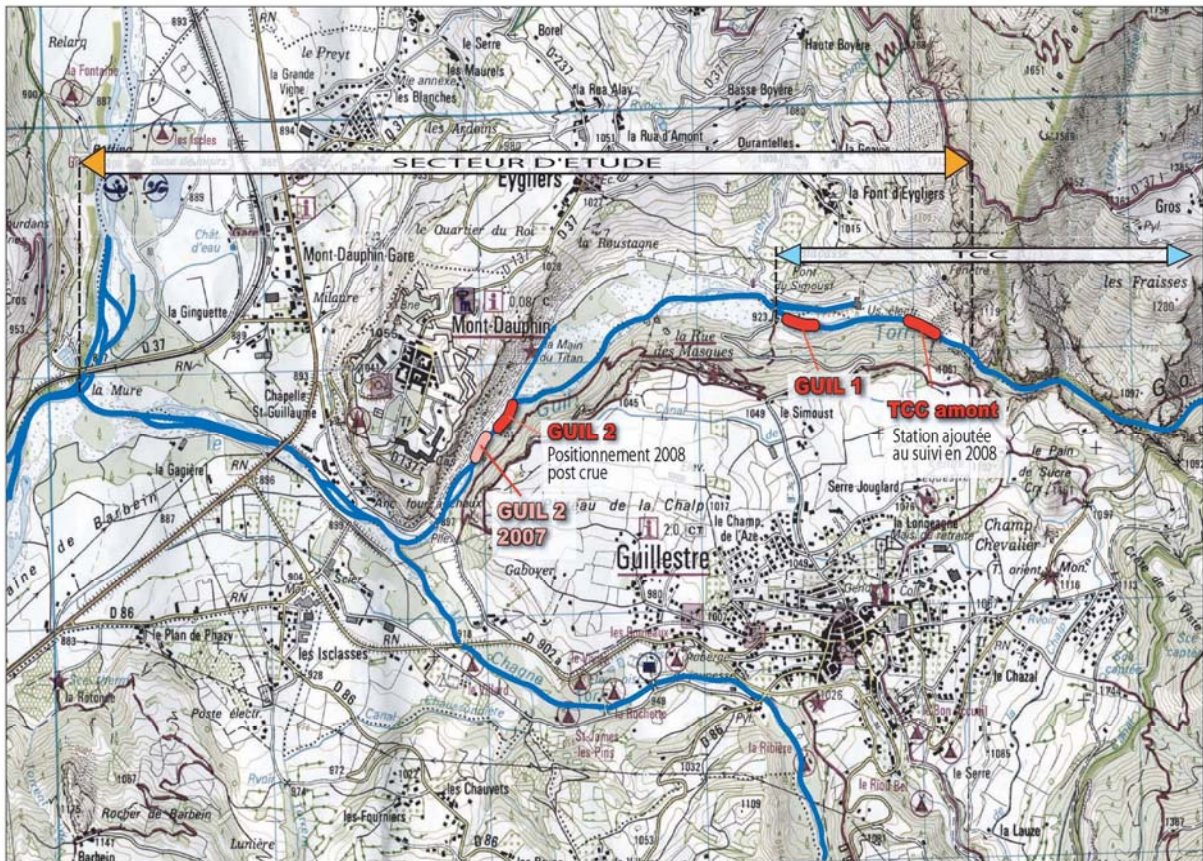


Figure 1: localisation des échantillons de 2009

5. Résultats

- La structure obtenue par analyse multidimensionnelle est assez simple, regroupant les truites domestiques à droite du diagramme et les truites méditerranéennes à gauche (**figure 2**).

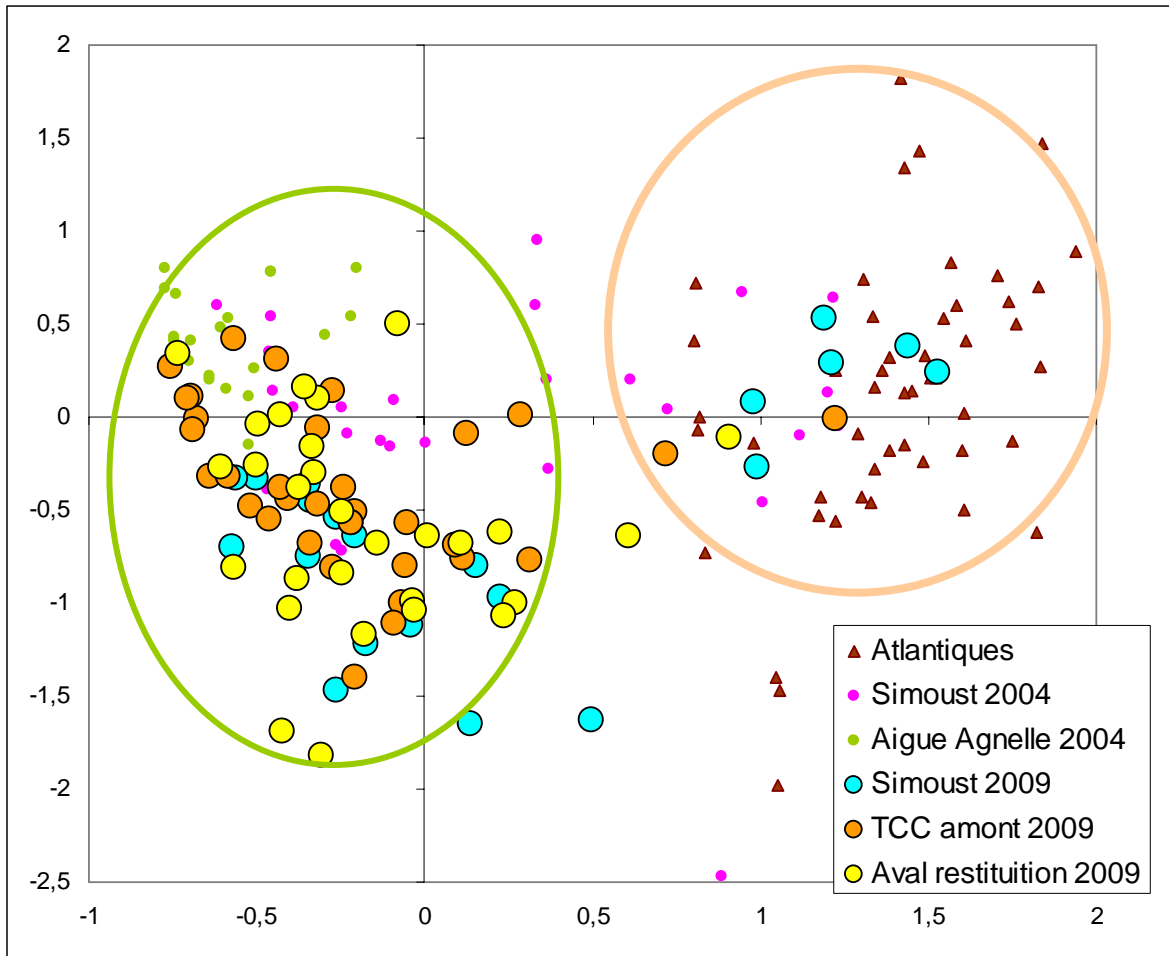


Figure 2: Cette analyse multidimensionnelle (3 échantillons de 2009, 2 échantillons de 2004 et des truites de pisciculture) permet de séparer les truites méditerranéennes (ellipse verte à gauche) des truites atlantiques (ellipse brune à droite). L'incertitude de détermination réside dans les points entre les ellipses ou en bordure. Une méthode plus précises doit être employée.

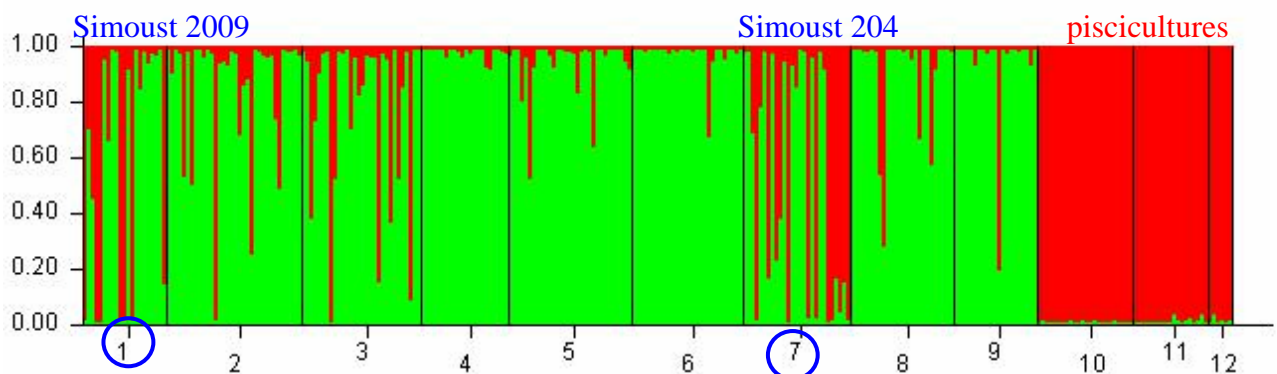


Figure 3: Analyse d'assignation où chaque barre d'histogramme représente une truite. Plus la barre est rouge, plus la truite est de type domestique. Une truite sauvage doit être essentiellement en vert. Les trois derniers échantillons sont ceux des piscicultures (10 à 12). La station 1 est Simoust 2009 suivie de TCC (2) et de la restitution aval (3). Suivent les échantillons de 2004: Aigue Agnelle, Gouret, Ristolas, Pont de Simoust (7), les Veyers et

Ville-Vieille. Les échantillons de Simoust sont les plus introgressés par les truites domestiques, que ce soit en 2004 ou en 2009.

- L'analyse d'assignation effectuée avec STRUCTURE a consisté à pratiquer le meilleur découpage en deux de l'ensemble de truites analysées. La réussite de ce découpage peut s'observer par le parfait classement des truites de pisciculture atlantiques (échantillons 10 à 12) à la couleur rouge (**figure 3**).

6. Interprétation et discussion

6.1. Le taux d'introgression par la truite domestique

Estimer le taux de mélange d'origine naturel (méditerranéen) ou domestique (atlantique) est une première question importante. Plusieurs méthodes existent, dont les calculs sont détaillés au **tableau 1**:

	N	allèles AFC 2005	PartitionML	Individus AFC 2009	% Structure
TCC amont	34			6	14
Simoust	21			31	41
aval restitution	30			8	22
Ristolas	28	2	0	0	3
Gouret	31	3	3	0	6
Aigue Agnelle	22	0	0	0	2
Ville-Vieille	21	1	0	0	6
Veyers	26	4	4	0	9
Simoust	27	15	30	30	47

Tableau 1: Estimation du taux d'introgression de la forme domestique atlantique dans les échantillons de truites analysées en 2004 (stations en vert: analyses effectuées pour la Fédération de Pêche des Hautes Alpes en 2005) et en 2009 (en jaune). Différentes méthodes ont été explorées (voir texte), celle employant le logiciel STRUCTURE étant considérée comme la plus sûre.

- la première méthode (allèles AFC) consiste à sélectionner les variants (allèles) caractéristiques de chaque type de truite. Cette méthode a le défaut de ne pas utiliser toute l'information disponible;

- la seconde méthode (PARTITIONML) est une méthode d'assignation comparable à celle de STRUCTURE, mais chaque truite est classée dans un type ou l'autre sans tenir compte des hybrides;

- la troisième méthode, appliquée sur les échantillons de 2009, consiste à compter (sur la figure 2) le nombre de truites de chaque type. L'imprécision réside dans les points intermédiaires entre les ellipses ou en bordure;

- la méthode d'assignation la plus sophistiquée (STRUCTURE), tient compte des hybrides de tout type pour calculer un pourcentage de présence domestique. Les valeurs obtenues sont systématiquement supérieures à celle des autres méthodes. Toutefois, la littérature internationale considère cette méthode comme la plus sûre.

6.2. Comparaison d'hybridation à 5 ans d'intervalle

La station Pont de Simoust, à l'aval du Guil, peu avant sa confluence avec la Durance, est la seule analysée en 2004 et en 2009. Le passage de 47 à 41% d'introgression semble à peine significatif compte tenu de l'incertitude de l'estimation. Toutefois, cette différence irait

dans le sens d'une dévalaison de truites amont, puisque les analyses des stations plus amont (Veyers, Ville-Vieille, Gouret et Ristolas en remontant le cours de la rivière) sont de moins en moins introgressées.

6.3. Comparaison du taux d'hybridation par cohorte

Une autre façon de tester l'évolution récente du taux d'introgression, avant et après la crue de 2008, est de comparer la composition génétique des truites jeunes, de moins de 2 ans, avec celle des plus de 2 ans.

Les truites analysées n'ont pas été traitées par scalimétrie pour en estimer l'âge. Il convient donc d'extrapoler les estimations faites en 2007 sur d'autres truites. Etant donné la difficulté de déterminer la limite de taille entre les moins de 2 ans et les adultes (chevauchement des histogrammes de tailles des cohortes), les limites de 140mm et 200mm ont été testées. Le tableau en **annexe 1** donne le détail des résultats.

Ces résultats nous montrent que les grandes truites sont moins introgressées en amont, plus introgressées en aval de la zone d'étude, mais fortement plus introgressées à Pont de Simoust (17 contre 52%), ce qui constitue l'observation la plus remarquable (**Tableau 2**). Quand la limite de taille est portée à 200mm, ces valeurs sont comparable (**annexe 1**), mais sont accentuées à Pont de Simoust (12 contre 65%).

station	taille	% atlantique
TCC	<140mm	22
	>140mm	12
Pont de Simoust	<140mm	17
	>140mm	52
aval restitution	<140mm	13
	>140mm	28

Tableau 2: Le taux d'hybridation (méthode d'assignation par STRUCTURE) atlantique domestique dans les 3 stations analysées est différent entre le petites et le grandes truites (ici la limite a été fixée à 140mm, les mêmes différences apparaissent quand on fixe la limite à 200mm, voir annexe 1).

Ces observations permettent de proposer l'hypothèse suivante: il est apparu dans les premiers calculs que, du moins à la station Pont de Simoust, il y avait une nette différence d'hybridation entre les truites de moins de 2 ans (12 à 17% selon le critère de taille retenu) et de plus de 2 ans (52 à 65%). Cette différence est imperceptible à l'aval (13/16% contre 17/19% respectivement) et s'inverse à l'amont (TCC: 16/22% contre 9%). Cette irrégularité le long du cours d'eau (maximum du phénomène à la station intermédiaire, réduction ou inversion de part et d'autre) fait penser à une intervention humaine. Sous cette hypothèse, si les truites de grande taille sont plus hybridées, il est possible que ce soit l'effet de la présence de truites surdensitaires (relâchées à plus de 20cm). Le calcul de l'hybridation a donc été refait en retirant les truites hybridées à 90% et plus.

Nous constatons que lorsqu'on retire les truites supposées domestiques, la différence d'introgression domestique est nulle avec la limite + ou - de 2 ans à 140mm (17 contre 16% d'hybridation) et elle se maintient mais avec une différence beaucoup plus faible (13 contre 25) avec la limite 200mm (**annexe 1**). Ces résultats vont dans le sens d'une présence de grandes truites domestiques à Pont de Simoust essentiellement.

Cette forte présence de truites de grande taille et de forte hybridation (90 à 100%) probablement domestiques peut être confirmée en calculant la taille moyenne des truites en fonction du taux d'hybridation atlantique. Ici encore, c'est à la station Pont de Simoust que le nombre et la taille moyenne des truites fortement hybridées sont les plus forts.

hybridation	3 stations	TCC	Simoust	Aval R.
0 à 5%	189 (47)	218 (22)	162 (8)	165 (17)
5 à 25%	162 (12)	201 (5)	108 (3)	154 (4)
25 à 50%	219 (9)	230 (3)	238 (2)	203 (4)
50 à 90%	184 (8)	200 (3)	185 (2)	167 (3)
90 à 100%	234 (9)	210 (1)	243 (6)	218 (2)

Tableau 3: Taille moyenne des truites en fonction de leur taux d'hybridation avec la lignée atlantique (les valeurs basées sur moins de 5 truites sont jugées peu sûres et indiquées en gris) La présence significative de grandes truites non hybridées à la seule station amont (TCC) suggère qu'il s'agit de truites sauvages adultes..

7. Conclusion

Nous savons depuis près de 5 ans (date des premières analyses génétiques) que le Guil amont est peuplé de truites quasiment purement sauvages méditerranéennes, mais que, vers l'aval, elles s'avèrent progressivement introgressées par la truite domestique atlantique, pour atteindre le maximum d'environ 45% au Pont de Simoust (données 2004).

Il faut noter que cette zone aval du Guil n'est plus alevinée depuis près de 4 ans, à l'exception de surdensitaires (de plus de 230mm) qui ne survivent pas longtemps en général.

D'autre part, la Durance, réputée fortement alevinée, influence probablement l'aval du Guil (pénétration occasionnelles de truites jusqu'au premier grand barrage, celui de Maison du Roy). Les truites de Serre-Ponçon ont été analysées en 2008 et présentaient 50% de présence atlantique.

Il semble peu probable, en dehors des crues, qu'un nombre conséquent de jeunes truites méditerranéennes dévalent et se regroupent à l'aval du barrage (hypothèse de départ). En effet, soit les alevins dévalant passent par les turbines, soit ils passent par l'orifice de restitution du DR situé tout au fond de la retenue créée par le barrage (peu attractif pour les poissons).

Il y a par contre possibilité de dévalaison lors des vidanges du barrage par EDF (printemps). D'autre part, la crue de 2008 a certainement permis la dévalaison de 0+ et 1+, sans passage par les turbines (centrale arrêtée). Des études ont montré que les 0+ et 1+ vont dévaler surtout lors des phases de hautes eaux et de réchauffement, à savoir la fusion nivale printanière.

Compte tenu des ces influences potentielles de l'amont et de l'aval, auxquelles s'ajoute l'action de gestion par l'homme, il est apparu intéressant d'essayer de connaître le changement de profil de la population aval de truites, autour de la station Pont de Simoust, déjà analysée en 2004.

L'observation la plus marquante des résultats d'analyse exposés plus haut est le pic d'introgression à Pont de Simoust. D'un point de vue diachronique, cette introgression maximale semble avoir légèrement baissé en 5 ans à Pont de Simoust (de 47 à 41%), mais c'est à peine perceptible.

De part et d'autre de cette station, l'introgression baisse (14% à l'amont et 22% à l'aval). Cette introgression plus faible à l'aval ainsi que les statistiques reliées à la taille (tableaux 2 et 3, annexe 1) tendent à prouver que ce n'est pas la crue qui a structuré cette population ni les remontées de truites hybridées de la Durance. Ces statistiques montrent que ce sont probablement les truites surdensitaires, de taille supérieure à 200mm, relâchées généralement à l'ouverture de la pêche, et de type génétique atlantique domestique, qui expliquent ce pic à Pont de Simoust.

Ces résultats nous donnent une image d'une grande sédentarité des truites adultes relâchées dans la rivière, au niveau de Pont de Simoust. La population habitant le Guil aval est fondamentalement de type méditerranéen majoritaire, mêlée, dans ses cohortes adultes, par des truites surdensitaires domestiques. Cette population est aussi globalement introgressée à environ 15% par les alevinages anciens.

Il se pose donc la question de la gestion la plus appropriées dans ce secteur. Il est clair que les alevinages ne constituent pas un apport perceptible pour le pêcheur puisque ces 15% d'introgression sont le résultat de dizaines d'années d'alevinage et démontrent donc une introgression annuelle négligeable (dans ce cas on parle de "pollution génétique"). Par contre le déversement de truites adultes "surdensitaires" présente l'avantage de satisfaire les pêcheurs tout en réduisant au maximum les risque de pollution génétique, car elles ne survivent pas à la saison froide.

Patrick Berrebi, le 29 janvier 2010

Annexe 1: Taux d'hybridation (méthode d'assignation par STRUCTURE) atlantique domestique dans les 3 stations analysées ainsi que dans les sous groupes de taille (limite 140 puis 200mm); "sans 90%" présente le même calcul après avoir retiré les truites possiblement de repoissonnement surdensitaire ayant 90% et plus de gènes domestiques. N est le nombre de truites du sous échantillon considéré.

Station	Taille	N	% atlantique	
TCC	toutes tailles	34	14	
	échantillon complet	<140	7	22
		>140	27	12
		<200	10	16
		>200	24	13
	toutes tailles	33	11	
	sans 90%	<140	7	22
		>140	26	9
<200		10	16	
>200		23	9	
Pont de Simoust	toutes tailles	21	40	
	échantillon complet	<140	7	17
		>140	14	52
		<200	10	12
		>200	11	65
	toutes tailles	15	17	
	sans 90%	<140	7	17
		>140	8	16
<200		10	13	
>200		5	25	
Aval restitution	toutes tailles	30	22	
	échantillon complet	<140	12	13
		>140	18	28
		<200	17	13
		>200	13	28
	toutes tailles	28	15	
	sans 90%	<140	12	13
		>140	16	19
<200		16	16	
>200		12	17	

Annexe 2: géotypes individuels

n° labo.	n° terrain	station	OMM1105	Ssa 197	SsosL311	Sfo1
T15528	Guil-EDF-001	Pont de Simoust	242258	123131	130148	118128
T15529	Guil-EDF-002	Pont de Simoust	176176	127135	128128	152152
T15530	Guil-EDF-003	Pont de Simoust	168230	131139	130152	128152
T15531	Guil-EDF-004	Pont de Simoust	250290	127135	130138	118130
T15532	Guil-EDF-005	Pont de Simoust	250306	127135	130132	110128
T15533	Guil-EDF-006	Pont de Simoust	138176	131131	136136	122162
T15534	Guil-EDF-007	Pont de Simoust	154172	123139	128136	118152
T15535	Guil-EDF-008	Pont de Simoust	168206	131131	136136	152152
T15536	Guil-EDF-009	Pont de Simoust	150150	139139	130130	158162
T15537	Guil-EDF-010	Pont de Simoust	258282	123131	130142	122122
T15538	Guil-EDF-011	Pont de Simoust	242180	123131	128142	118176
T15539	Guil-EDF-012	Pont de Simoust	176176	127127	136136	152166
T15540	Guil-EDF-013	Pont de Simoust	258258	127131	130138	118132
T15541	Guil-EDF-014	Pont de Simoust	150160	127131	136136	146152
T15542	Guil-EDF-015	Pont de Simoust	138164	000000	136136	126130
T15543	Guil-EDF-016	Pont de Simoust	142150	131131	128128	152162
T15544	Guil-EDF-017	Pont de Simoust	176176	127127	128136	152152
T15545	Guil-EDF-018	Pont de Simoust	160164	139139	128136	152162
T15546	Guil-EDF-019	Pont de Simoust	000000	127131	000000	158172
T15547	Guil-EDF-020	Pont de Simoust	150172	131131	134134	152162
T15548	Guil-EDF-021	Pont de Simoust	168300	139151	130130	130152
T15549	Guil-EDF-022	TCC amont	154172	131131	134134	152162
T15550	Guil-EDF-023	TCC amont	138168	127127	136136	130152
T15551	Guil-EDF-024	TCC amont	150172	131131	136136	146172
T15552	Guil-EDF-025	TCC amont	164172	139139	128134	152158
T15553	Guil-EDF-026	TCC amont	160168	127131	134148	130152
T15554	Guil-EDF-027	TCC amont	160172	127131	130136	158162
T15555	Guil-EDF-028	TCC amont	160176	127135	132132	146152
T15556	Guil-EDF-029	TCC amont	146160	131131	136136	146146
T15557	Guil-EDF-030	TCC amont	146150	131131	136136	146172
T15558	Guil-EDF-031	TCC amont	176176	127127	128136	152158
T15559	Guil-EDF-032	TCC amont	150150	123131	136136	146154
T15560	Guil-EDF-033	TCC amont	138172	127127	130136	146146
T15561	Guil-EDF-034	TCC amont	172242	123123	128156	118118
T15562	Guil-EDF-035	TCC amont	150184	131131	136136	132158
T15563	Guil-EDF-036	TCC amont	168172	127127	130136	152152
T15564	Guil-EDF-037	TCC amont	160282	123131	136136	148158
T15565	Guil-EDF-038	TCC amont	154164	127127	136136	152158
T15566	Guil-EDF-039	TCC amont	160210	131131	134134	158158
T15567	Guil-EDF-040	TCC amont	150176	127131	136136	118136
T15568	Guil-EDF-041	TCC amont	150168	127131	130130	130162
T15569	Guil-EDF-042	TCC amont	168270	131131	130136	144146
T15570	Guil-EDF-043	TCC amont	154286	135135	136150	118162
T15571	Guil-EDF-044	TCC amont	150150	131131	136136	158158
T15572	Guil-EDF-045	TCC amont	154172	123131	136136	162162
T15573	Guil-EDF-046	TCC amont	154168	127127	130136	146146
T15574	Guil-EDF-047	TCC amont	176176	131135	136136	152152
T15575	Guil-EDF-048	TCC amont	176176	131135	136136	152152
T15576	Guil-EDF-049	TCC amont	176282	127127	136136	130152
T15577	Guil-EDF-050	TCC amont	154234	131131	136156	130152
T15578	Guil-EDF-051	TCC amont	164172	131131	134136	146172

n° labo.	n° terrain	station	OMM1105	Ssa 197	SsosL311	Sfo1
T15579	Guil-EDF-052	TCC amont	150164	131131	130130	158162
T15580	Guil-EDF-053	TCC amont	154176	127127	136136	156158
T15581	Guil-EDF-054	TCC amont	138146	131131	136136	152172
T15582	Guil-EDF-055	TCC amont	164312	131131	136136	152158
T15583	Guil-EDF-056	Aval restitution	176184	127131	128136	146154
T15584	Guil-EDF-057	Aval restitution	230286	131131	136136	152162
T15585	Guil-EDF-058	Aval restitution	168172	127127	128128	138146
T15586	Guil-EDF-059	Aval restitution	142168	127127	128128	144144
T15587	Guil-EDF-060	Aval restitution	164286	127131	136136	152174
T15588	Guil-EDF-061	Aval restitution	164230	131131	128136	160174
T15589	Guil-EDF-062	Aval restitution	206230	131131	134134	152152
T15590	Guil-EDF-063	Aval restitution	250266	135145	130156	128134
T15591	Guil-EDF-064	Aval restitution	146254	123127	128128	152152
T15592	Guil-EDF-065	Aval restitution	150184	123123	136136	146158
T15593	Guil-EDF-066	Aval restitution	154202	127127	130136	146158
T15594	Guil-EDF-067	Aval restitution	150150	131131	136136	146146
T15595	Guil-EDF-068	Aval restitution	164164	131131	140166	152174
T15596	Guil-EDF-069	Aval restitution	142168	127131	128128	158158
T15597	Guil-EDF-070	Aval restitution	154168	123123	128128	146152
T15598	Guil-EDF-071	Aval restitution	172230	127127	136136	122158
T15599	Guil-EDF-072	Aval restitution	142274	131131	136136	146152
T15600	Guil-EDF-073	Aval restitution	168230	000000	134134	152174
T15601	Guil-EDF-074	Aval restitution	160168	000000	136136	158178
T15602	Guil-EDF-075	Aval restitution	154176	127127	128128	118118
T15603	Guil-EDF-076	Aval restitution	142168	131131	128128	158164
T15604	Guil-EDF-077	Aval restitution	146122	127127	136136	146146
T15605	Guil-EDF-078	Aval restitution	150300	131131	136152	122122
T15606	Guil-EDF-079	Aval restitution	150176	131131	128136	146146
T15607	Guil-EDF-080	Aval restitution	142332	131131	136162	122148
T15608	Guil-EDF-081	Aval restitution	146312	131131	128152	152158
T15609	Guil-EDF-082	Aval restitution	150176	127131	130136	158158
T15610	Guil-EDF-083	Aval restitution	164306	123123	136142	118118
T15611	Guil-EDF-084	Aval restitution	142202	127131	136136	158160
T15612	Guil-EDF-085	Aval restitution	146154	131131	136136	152152