

Etude génétique de l'origine des truites de l'Eyne, rivière des Pyrénées Orientales, dans la Réserve Naturelle d'Eyne

- Rapport de février 2011 -



© Réserve Naturelle d'Eyne, station amont de l'Eyne

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

Les analyses décrites dans ce rapport ont pour but d'établir les génotypes de 60 truites de l'Eyne des Pyrénées Orientale (Réserve Naturelle d'Eyne) au niveau de 6 locus microsatellites. Ces données moléculaires doivent permettre de distinguer les truites méditerranéennes sauvages de cette région des truites domestiques potentiellement de quatre origines: (i) les truites atlantiques domestiques issues de piscicultures classiques et servant au repeuplement sous forme de truitelles, mais aussi (ii) les truites de la pisciculture de Cauterets qui, bien que théoriquement du même type que le précédent, peuvent receler quelques formes de l'Ebre, (iii) celles issues de la pisciculture de Sahorre (souche de la Carança, affluent de la Têt) qui a fourni la région en alevins de repeuplement et (iv) les truites de la pisciculture de Roquebillière, située dans les Alpes Maritimes mais élevant une souche du Doubs. La recherche de ces origines potentielles est basé sur l'histoire locale des repeuplements que nous a fourni le Service Technique de la FDPPMA 66.

2. Méthodes

2.1. Echantillonnage

Un échantillonnage effectué sur 2 sites de la Réserve Naturelle d'Eyne a été remis pour analyse à l'Institut des Sciences de l'Evolution de Montpellier le 1er septembre 2010.

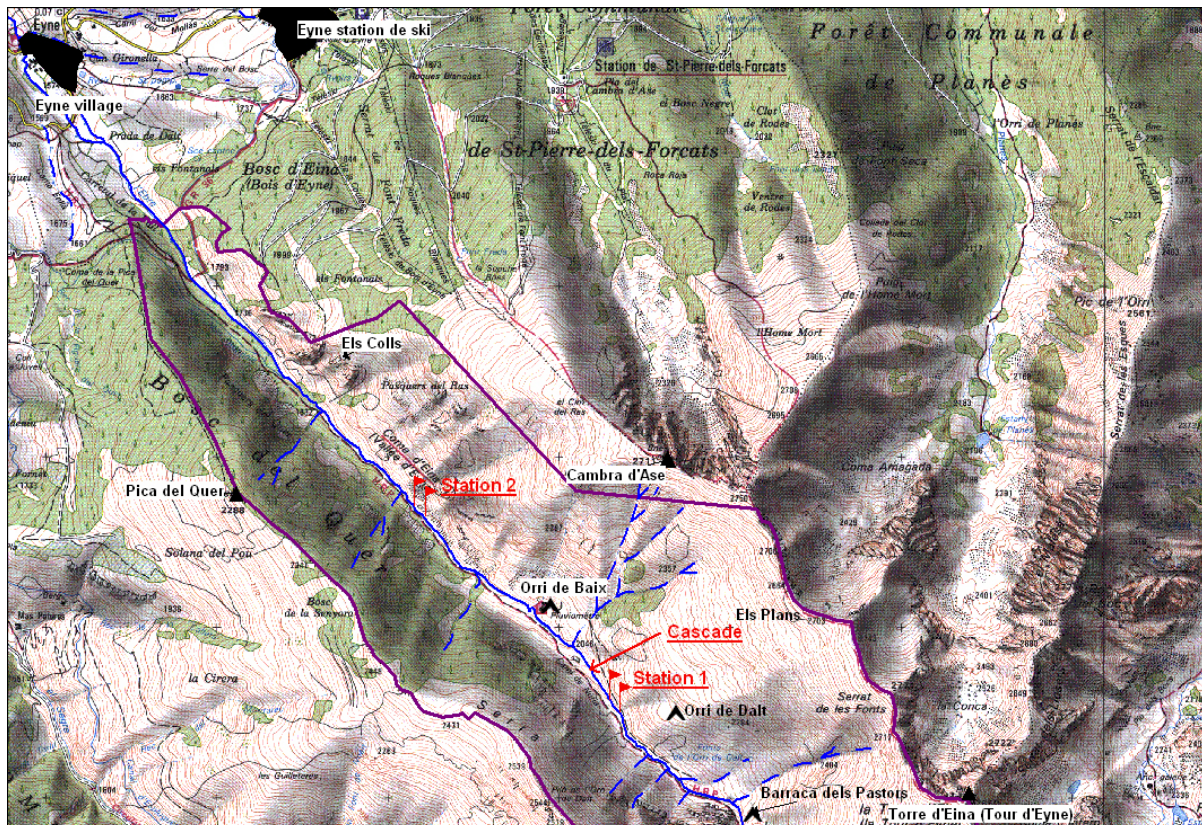


Figure 1: localisation des deux stations analysées, séparées par des cascades infranchissables. La rivière coule dans la direction du nord-est pour rejoindre le Sègre, lui même affluent de l'Ebre, grand fleuve méditerranéen du sud des Pyrénées.

Cet échantillonnage est constitué de biopsies de nageoires de truites dans l'éthanol à 96°. Il comprend 30 truites amont et de 30 truites aval de cascades infranchissables séparant les deux stations. La localisation des stations est donnée à la figure 1.

2.2. Méthodes moléculaires

Ces nageoires de truites ont été analysées au niveau de 6 locus microsatellites: Mst85, SsoSL-311, Oneu9, Omy21DIAS, MST 543 et SsosL438.

Pour cela, les échantillons de nageoires sont traitées 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 se font en thermocycleur et les produits amplifiés sont mis à migrer dans des capillaires d'acrylamide dénaturant (technologies ABI Prisme) afin d'obtenir les génotypes.

La matrice de génotypes donnée en **Annexe 2** est la base de tous les calculs statistiques.

2.3. Méthodes statistiques

La matrice de données génotypiques additionnée des génotypes de référence d'origine connue, sert de base aux calculs. Les truites de références, issues des collections de l'Institut des Sciences de l'Evolution de Montpellier comprennent:

- des truites de **pisciculture commerciales** de souche INRA-SEMII provenant de 4 piscicultures commerciales de tout le territoire français (4 x 10 truites de 2008);
- des truites de la **pisciculture de Sahorre** élevant la souche sauvage de la Carança (7 truites de 1993);
- des truites sauvages d'un affluent français de l'**Ebre** (l'Harlando, dans le Pays Basque, 18 truites de 1993)
- des truites de la souche méditerranéenne (Doubs) de **Roquebillière** (29 truites)
- un échantillon d'une souche locale élevée à **Cauterets** et représentant la lignée atlantique du sud, pouvant avoir "pollué" la souche atlantique nord domestique de cette même pisciculture (30 truites).

Dans le but de répondre aux questions posées, deux méthodes complémentaires sont employées:

2.3.1. 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.

2.3.2. Une méthode plutôt quantitative consiste à rechercher les meilleurs regroupements de truites (assignation) selon une logique populationnelle (les regroupements doivent avoir une panmixie maximum et un déséquilibre de liaison minimum) au moyen du logiciel STRUCTURE basé sur les statistiques bayésiennes, l'exploration Monte-Carlo MCMC, les chaînes de Markov et le suivi de la vraisemblance des partitions proposées. Ici la période de recherche (burnin) est de 100000 itérations et la finition de 200000 itérations. Le nombre de partition testées (k) est de 2 à 6 avec 3 répétitions de chaque test.

3. Résultats

3.1. L'analyse multidimensionnelle montre clairement une influence des truites commerciales atlantiques dans l'échantillon Eyne amont (figure 2). La position de certaines truites de cette station (en orange) parmi les truites domestiques (en rose) signifie que ces individus sont nés en pisciculture commerciale atlantique et sont issus d'introductions récentes (moins de 3 ans).

Les deux enveloppes des truites de l'Eyne (en orange et en bleu) montrent aussi des relations avec toutes les truites de référence. A ce niveau de complexité, cette analyse n'est pas suffisante pour détailler les origines. La détermination exacte de ces influences est estimée par assignation (paragraphe suivant).

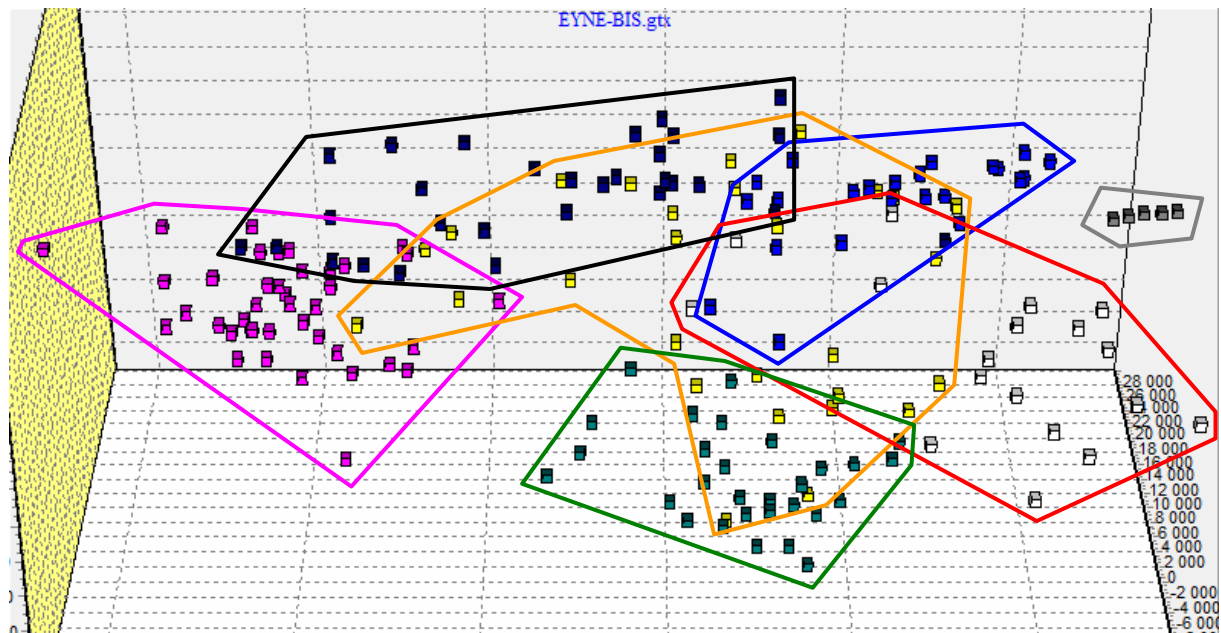


Figure 2 : Analyse multidimensionnelle montrant les "regroupements" sous forme de "nuages". Ainsi les truites de référence forment des nuages homogènes entourés d'enveloppes colorées: **en rose** sont représentées les truites atlantiques commerciales. Les truites de la Carança sont **en gris** à droite et celles de l'Ebre **en rouge**. Cauterets (souche locale atlantique du sud) est entouré de **noir** et Roquebillière (truites méditerranéennes du Doubs) de **vert**. Les truites de l'Eyne sont soit nettement influencées par la truite domestique (Eyne amont **en orange**) soit peu ou pas (Eyne aval **en bleu**).

3.2. L'analyse d'assignation au moyen du logiciel STRUCTURE, présentée figure 3, correspond à $k=6$. Cela signifie qu'on a demandé au logiciel de découper l'ensemble de l'échantillonnage (182 truites) en 6 sous-unités ressemblant le plus à des populations en équilibre (panmixie = reproduction au hasard attendue à l'intérieur de sous unités et faible déséquilibre de liaison, ce déséquilibre apparaît lors d'immigrations de truites différenciées).

Ici, pour $k=6$, nous voyons que chaque échantillon de référence présente une couleur distincte. De plus, la couleur verte est propre à la souche naturelle de l'Eyne.

Les estimations de la composition de chaque échantillon sont données au tableau 1.

Les estimations de chaque truite en pourcentages sont données en Annexe 1. Si on considère un pourcentage égal ou supérieur à 90% comme marquant un type pur, on remarque que l'amont est beaucoup plus perturbé que l'aval:

- les truites 3, 22 et peut-être 23 sont nées en pisciculture atlantique;

- les truites 19 à 22 sont nées à Roquebillière
- les truites 12, 13 et 16 de l'amont sont nées à Sahorre alors qu'on en trouve beaucoup plus à l'aval (17, 37, 48, 49, 52 à 55)
- le type local, nommé ici type Eyne, se retrouve à l'état pur dans 4 truites amont et 11 truites aval.

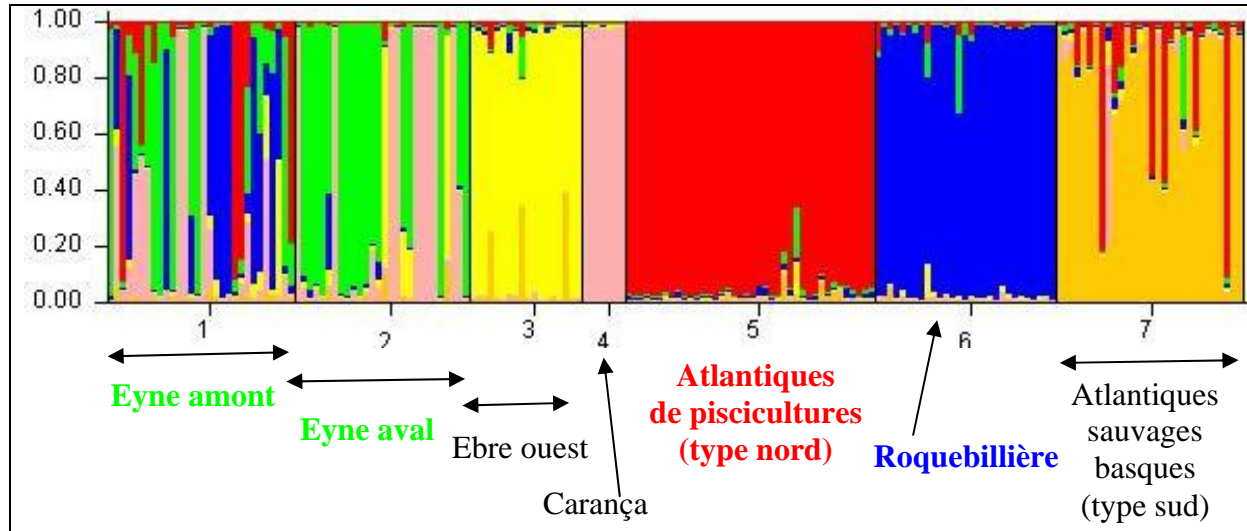


Figure 3 : Représentation graphique de l'analyse d'assignation faite par le logiciel STRUCTURE. Chaque truite est représentée par une barre verticale de l'histogramme. Les cinq groupes de droite représentent les truites de référence. Le **vert** représente la souche de l'Eyne.

	N	Eyne	Carança	Roquebillière	Domestiques	Ebre	Cauterets
Eyne amont	30	29	21	29	16	4	1
Eyne aval	28	53	34	2	1	8	2
Carança	7	1	97	1	0	1	1
Roquebillière	29	2	1	93	2	1	1
Domestiques	40	1	1	1	95	1	1
Harlando	18	2	1	1	2	89	6
Cauterets	30	2	4	1	15	2	77

Tableau 1 : Pourcentages de truites appartenant à chacun des 4 sous-groupes définis à la figure 3 mesurés dans les deux échantillons de l'Eyne. L'amont est beaucoup plus impacté par les truites domestiques atlantiques (18% contre 1% assimilable à zéro). Par contre l'introgressions estimée par la souche de Sahorre est plus importante. Voir la discussion.

4. Interprétation et discussion

Les analyses présentées ici ainsi que les estimations qui en découlent rendent compte de ressemblances génétiques entre truites analysées et truites de références, souvent issues d'échantillons lointains. Il faut interpréter ces données de façon nuancée.

La connaissance des pratiques de gestion des rivières est d'un grand secours.

Sans avoir une information parfaitement localisée dans l'espace et dans le temps, nous savons que:

- depuis 2003, la FDPPMA 66 met en charge l'écloserie de Fontrabieuse pour aleviner la Cerdagne et le Capcir à l'aide d'oeufs en provenance de la pisciculture de **Roquebillière**;
- lorsque des aléas variés limitent la production de l'écloserie, la pisciculture de **Sahorre** complète les manques, avec des alevins de truites de souche "Carança";
- avant 2003, les oeufs mis en incubation à Fontrabieuse provenaient de différents endroits, mais le type génétique de ces oeufs étaient **atlantique-nord**;
- à cette époque, des oeufs en provenance de la pisciculture de **Cauterets** (65) ont également été mis en incubation dans cette écloserie (Cauterets, actuellement propriété de la FDPPMA 65, héberge depuis longtemps des souches méditerranéenne de l'**Ebre** et des souches locales basques, c'est à dire de type **atlantique-sud**).

Cette histoire des repeuplements a justifié le rajout des 5 échantillons de référence connus.

Les ressemblances (traduites en pourcentages) entre deux affluents lointains de l'**Ebre** (Eyne et Harlando) ne doivent pas être interprétées comme des déplacements artificiels de truites (translocations) mais comme des ressemblances dues à la vie dans le même bassin. Il faut donc cumuler les pourcentages de truite des types Ebre et Eyne pour connaître le pourcentage de truite strictement locales.

A l'inverse, les pourcentages estimés de **truites domestiques atlantiques** doivent être pris au pied de la lettre: il s'agit bien d'introductions, dont certaines sont très récentes puisqu'à l'amont, nous trouvons 3 truites probablement nées en pisciculture. Certaines introductions sont plus anciennes et ont produit des hybrides.

A l'aval, la population est presque purement méditerranéenne (à 97%) mais d'origine variée avec 61% de formes Eyne et 34% Carança.

5. Conclusion.

- Les deux stations analysées dans la Réserve Naturelle d'Eyne sont peuplées de truites différentes, isolées par des cascades infranchissables.
- La population amont présente environ 83% de truites méditerranéennes et la population aval 97%, mais ces truites peuvent être de trois origines: locale (Eyne) Carança et Roquebillière (voir tableau 1).
- La présence de truites de la pisciculture de Sahorre est plus forte à l'aval. Il s'agit d'une truite méditerranéenne, mais cette souche aurait été utilisée à mauvais escient puisque déversée dans un bassin distinct, coulant essentiellement en Espagne.
- Représentée par la couleur verte (à laquelle il faut certainement ajouter la couleur jaune) de la figure 3, il semble bien qu'un type génétique local propre à l'Eyne subsiste dans ce cours d'eau, avec une fréquence de 29 à 33% en amont des cascades, et de 53 à 61% à l'aval.

Fait à Montpellier le 24 février 2011

Annexe 1 : Les biotopes.



L'Eyne à l'amont des cascades infranchissables (voir figure 1), peuplée par des truites hybridées à environ 30% Eyne, 30% Roquebillière, 20% Carança et 15% domestique atlantique.



L'Eyne à l'aval des cascades infranchissables, habitée par des truites exclusivement méditerranéennes dont environ 60% de locales de l'Eyne et 35% d'origine Carança.

Annexe 2 : Géotypes et origine en % génétique de chaque truites analysée

N° labo	N° terrain	station	Mst85	SsoSL-311	Oneμ9	Omy21DIAS	MST 543	SsosL438	Taille	Ey.	Ca.	Pa.	Ro.	Eb.
T17784	Eyne-01	amont	159175	134140	201201	090106	148148	105107	195	95	1	3	1	1
T17785	Eyne-02	amont	171171	136136	197201	126136	132132	131131	215	2	52	1	35	6
T17786	Eyne-03	amont	157167	124124	201201	108108	126154	097099	234	2	4	92	1	1
T17787	Eyne-04	amont	161163	124134	201201	112120	132152	101101	210	14	11	5	66	3
T17788	Eyne-05	amont	163167	134136	197201	090110	132148	097105	194	41	43	12	1	1
T17789	Eyne-06	amont	167163	128140	197197	106108	132154	099105	221	2	52	44	1	1
T17790	Eyne-07	amont	163165	136136	197201	090110	132154	097105	178	50	47	1	1	1
T17791	Eyne-08	amont	147161	136150	197197	090128	148148	097099	161	81	1	15	1	1
T17792	Eyne-09	amont	161175	134136	197201	090128	154154	097105	172	97	1	1	1	1
T17793	Eyne-10	amont	171171	134134	199199	104106	132148	101101	162	9	4	1	85	1
T17794	Eyne-11	amont	159175	140188	201207	090118	148154	105107	211	91	1	5	1	1
T17795	Eyne-12	amont	157163	134136	193197	110110	126132	097097	182	1	96	1	1	1
T17796	Eyne-13	amont	157163	134136	193197	110110	126132	097097	186	1	96	1	1	1
T17797	Eyne-14	amont	147161	130134	201201	104106	128128	097101	167	67	1	3	27	1
T17798	Eyne-15	amont	163165	136152	197201	090128	148148	097105	174	96	1	1	1	1
T17799	Eyne-16	amont	163163	136136	197197	108108	132132	097097	224	1	97	1	1	1
T17801	Eyne-18	amont	163171	136136	201201	102130	132132	099101	178	3	22	2	63	5
T17802	Eyne-19	amont	161163	134136	199201	110112	156160	097101	192	1	2	0	90	6
T17803	Eyne-20	amont	171171	130134	199199	106106	158166	101101	167	1	1	1	97	1
T17804	Eyne-21	amont	163171	134136	199201	126112	152158	101101	182	1	2	1	96	1
T17805	Eyne-22	amont	147159	162162	201201	114116	148148	097105	171	5	1	91	1	1
T17806	Eyne-23	amont	167167	128134	199201	108118	126154	099105	163	5	4	85	2	2
T17807	Eyne-24	amont	159163	124124	197201	108108	128148	097097	228	36	29	24	7	3
T17808	Eyne-25	amont	159171	134136	199201	106132	160160	097101	288	4	1	1	88	5
T17809	Eyne-26	amont	163163	134134	197201	102102	148148	101101	215	39	3	1	49	7
T17810	Eyne-27	amont	163163	134134	197201	106118	132132	097101	190	13	48	3	11	23
T17811	Eyne-28	amont	171171	134136	201201	104102	148158	097099	172	15	1	3	77	1
T17812	Eyne-29	amont	161163	134134	201201	130110	160160	101101	159	2	2	1	46	50
T17813	Eyne-30	amont	161175	128136	197201	090110	154154	097105	174	81	9	5	3	1
T17814	Eyne-31	amont	165167	130140	199201	116118	148148	099105	196	15	1	79	3	1

N° labo	N° terrain	station	Mst85	SsoSL-311	Oneμ9	Omy21DIAS	MST 543	SsosL438	Taille	Ey.	Ca.	Pa.	Ro.	Eb.
T17800	Eyne-17	aval	159163	140140	197197	110128	132154	097097	265	1	98	0	1	0
T17815	Eyne-32	aval	161163	134134	197197	102128	140148	097097	174	90	4	0	2	2
T17816	Eyne-33	aval	147147	134134	197201	104104	148148	097101	202	93	1	2	3	1
T17817	Eyne-34	aval	161163	134136	197197	104128	148154	097101	196	93	4	0	1	1
T17818	Eyne-35	aval	161165	134134	197197	104128	148154	097101	206	97	1	0	1	1
T17819	Eyne-36	aval	147159	134136	197207	132132	148158	101103	189	58	1	1	29	6
T17820	Eyne-37	aval	159163	134134	197197	110128	132154	097097	287	1	97	0	0	1
T17821	Eyne-38	aval	159161	134134	197207	106120	120148	097097	250	96	1	1	1	1
T17822	Eyne-39	aval	161165	134134	197197	104128	140148	097101	155	97	1	0	1	1
T17823	Eyne-40	aval	155165	140140	197197	120120	148154	097101	205	94	4	1	1	1
T17826	Eyne-43	aval	159161	134152	197207	106120	120148	097097	250	97	1	1	1	1
T17827	Eyne-44	aval	163165	134134	197201	098104	146148	097101	206	92	1	1	2	2
T17828	Eyne-45	aval	159161	134134	195197	106120	132148	097097	200	78	18	1	1	2
T17829	Eyne-46	aval	161163	134134	197197	112128	146154	097101	206	85	4	0	7	2
T17830	Eyne-47	aval	163167	118124	197197	118118	126160	097101	150	1	2	8	1	77
T17831	Eyne-48	aval	159163	134134	197197	110120	132154	097097	225	1	97	0	0	1
T17832	Eyne-49	aval	159163	140140	197197	110128	132154	097097	250	1	97	0	1	0
T17833	Eyne-50	aval	147159	152152	197207	134134	148158	097103	217	70	1	2	1	24
T17834	Eyne-51	aval	161161	134152	195197	128130	120158	097101	188	79	1	0	1	17
T17835	Eyne-52	aval	159163	134134	197197	110128	132154	097097	255	1	97	0	0	1
T17836	Eyne-53	aval	159163	134134	197197	110120	132154	097097	235	1	97	0	0	1
T17837	Eyne-54	aval	159163	134134	197197	110120	132132	097097	245	1	97	0	0	1
T17838	Eyne-55	aval	159163	134134	197197	110128	132132	097097	240	1	97	0	0	1
T17839	Eyne-56	aval	161165	134134	197197	128104	140146	097101	195	97	1	0	1	1
T17840	Eyne-57	aval	163167	118134	195197	118118	126160	097097	145	2	2	3	1	78
T17841	Eyne-58	aval	159163	140140	197197	110128	132154	097097	230	1	98	0	0	0
T17842	Eyne-59	aval	159161	134134	197197	128104	132132	097101	185	58	39	0	1	1
T17843	Eyne-60	aval	161165	134134	197197	104128	140148	097101	190	97	1	0	1	1

Annexe 3 : Robe des truites

Truites type Eyne



Truite amont n° 9 : type Eyne à 97%



Truite aval n°35 : type Eyne à 97%



Truite aval n°60 : type Eyne à 97%

Descriptif: autant de taches moyennes rouges et noires, une dizaine de taches sur l'opercule, liserai blanc pelviennes et anale.

Truites type Carança



Truite amont n°16 : type Carança à 97%



Truite aval n°48 : type Carança à 97%



Truite aval n°58 : type Carança à 98%

Descriptif : Nombreuse moucheture (petites taches) noire, taches rouges moyennes moins nombreuses, une 20aine de petites taches noires sur l'opercule

Truite type Ebre (Harlando)



Truite aval n°47 : type Ebre à 77% et atlantique à 8%



Truite aval n°57 : type Ebre à 78%

Descriptif : Nombreuses taches rouge sur le flanc, taches moires surtout sur le dos, très peu de taches noires sur l'opercule, liserai blanc à l'anale.

Truite de type atlantique domestique



Truite amont n°3 : type atlantique à 92%



Truite amont n°22 : type atlantique à 91%



Truite amont n°23 : type atlantique à 85%

Descriptif : peu de grosses taches rouge-orange ocellées de blanc sur les flancs, 2 à 4 taches noires sur l'opercule, liserai blanc à l'anale.

Truite de type Roquebillière



Truite amont n° 19 : type Roquebillière à 90%



Truite amont n° 21 : type Roquebillière à 96%

Descriptif : nombreuses petites taches noires et rouges à égalité de nombre et de taille.