

Analyses génétiques des truites du bassin versant atlantique de la Dourbie

rapport d'octobre 2010



© AAPPMA Dourbie



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 - Motivations

La Fédération de Pêche du Gard désire entreprendre une série d'analyses génétiques des truites du département. Elle a déjà participé au projet national Genesalm en fournissant deux échantillons du Vidourle et du Linguas.

Afin de pouvoir affiner les connaissances sur les populations de truites en place, la Fédération a fait analyser deux nouvelles stations du versant atlantique du département (Dourbie et Trévezel), en collaboration avec le Parc National des Cévennes.

Du point de vue de la gestion, pour les trois secteurs de prélèvement, seules quelques boîtes Vibert sont encore déposées dans le milieu (souche atlantique en provenance de la pisciculture de Roquebillière).

D'autre part certaines zones sont alevinées dans le bassin de la Dourbie, mais hors secteur central du Parc National qui interdit clairement ces déversements.

Le but de ces analyses est d'estimer l'intérêt de ces alevinages qui ont été intensifs ces dernières années. Ces connaissances sont importantes pour passer éventuellement en gestion patrimoniale, changement nécessitant justification compte tenu de l'ancienneté de cette pratique dans le département en première catégorie.

2 - Echantillonnage

Le département du Gard est essentiellement irrigué par les affluents du Rhône, ce dernier lui servant de frontière à l'est. Les principaux affluents sont la Cèze et le Gard.

Cependant, le département comprend aussi quelques rivières atlantiques, lointains affluents du Tarn et de la Garonne. Deux de ces rivières atlantiques font l'objet de cette étude.

La Dourbie, seule rivière du Gard en versant Atlantique. Elle prend sa source en amont du pont des Vacquiers à côté de l'Espérou, traverse prairies et bois de hêtres jusqu'à Dourbies, puis passe par un dédale de gorges très difficiles d'accès.

Le Trévezel est un affluent de la Dourbie. Il prend sa source en amont de Camprieu Grande. Il traverse les gorges escarpées du « Pas de l'Ane », en amont de Trèves.

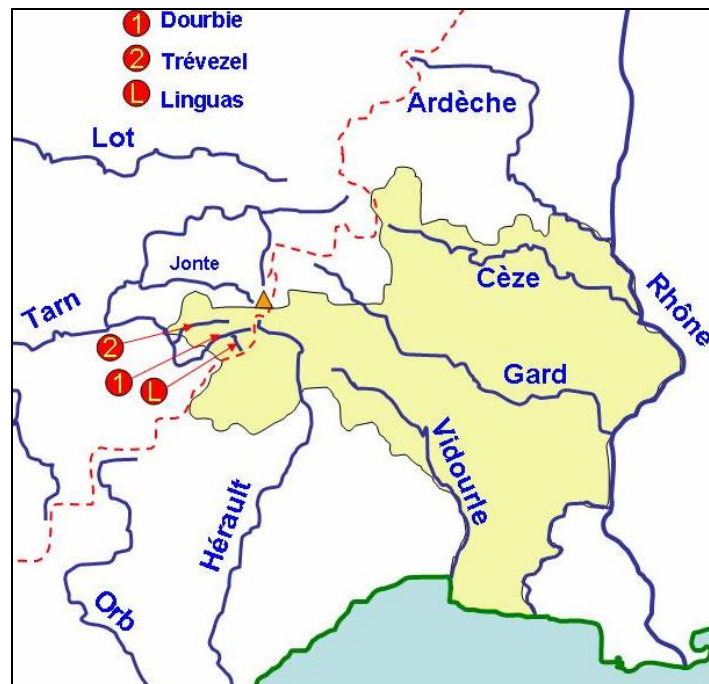


Figure 1: Localisation des deux échantillons analysés (1 et 2) ainsi que de l'échantillon analysés lors du programme Genesalm (L).

Les deux échantillons de truite (morceaux de nageoires préservées dans de l'alcool à 96°) ont été livrés à l'**Institut des Sciences de l'Evolution** (Université de Montpellier 2). Les analyses moléculaires ont été faites par **Genindex** (La Rochelle).

3 - Méthodes moléculaires

Cet échantillonnage a été analysé au niveau de 6 locus microsatellites qui ont déjà fait leur preuve dans ce cas de figure: Mst543, Mst85, Omy21Dias, Oneµ9, SsoSL311 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'identité de l'ADN) se font en thermocycleur et les produits amplifiés sont mis à migrer dans des capillaires d'acrylamide dénaturant (brins d'ADN séparés les uns des autres).

Les migrations sont traduites en courbes de densité d'ADN qui sont ensuite interprétées en terme de génotypes avec l'aide d'un analyseur d'image. La matrice de génotypes donnée en annexe est la base de tous les calculs statistiques.

4 - Méthodes statistiques

La matrice de données génotypiques (voir annexe) additionnée des génotypes de référence d'origine connue (ici quatre lots de 30 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 (**assignation**) au moyen du logiciel STRUCTURE. Le nombre de partition testées (k) est de 2 (distinction entre truites domestiques et sauvages) à 4 (recherche d'une éventuelle structure génétique entre populations naturelles) avec trois répétitions du test.

Dans ces analyses, les deux échantillons Dourbie (30 truites) et Trévezel (29) ont été accompagnés à titre de comparaison par les données déjà acquises du Linguas (18) et de quatre piscicultures françaises (40).

5 - Résultats

5.1 - Analyse multidimensionnelle

A la figure 2, la zone du graphique occupée par les truites de rivière à gauche est nettement séparée de celle occupée par les truites domestiques à droite (triangles). La zone de superposition (ellipse rouge) donne une idée de l'hybridation, donc de la présence domestique dans les rivières (surtout le Linguas, et la Dourbie plus modérément). On peut déjà observer qu'elle est modérée.

Aucune truite de rivière ne se trouve au centre de la zone à truites domestiques, montrant là qu'aucune trace de repeuplement récent n'est observé. Cette hybridation marginale est donc le résidu d'une histoire ancienne de repeuplement.

La méthode quantitative qui suit va permettre de connaître le pourcentage d'hybridation.

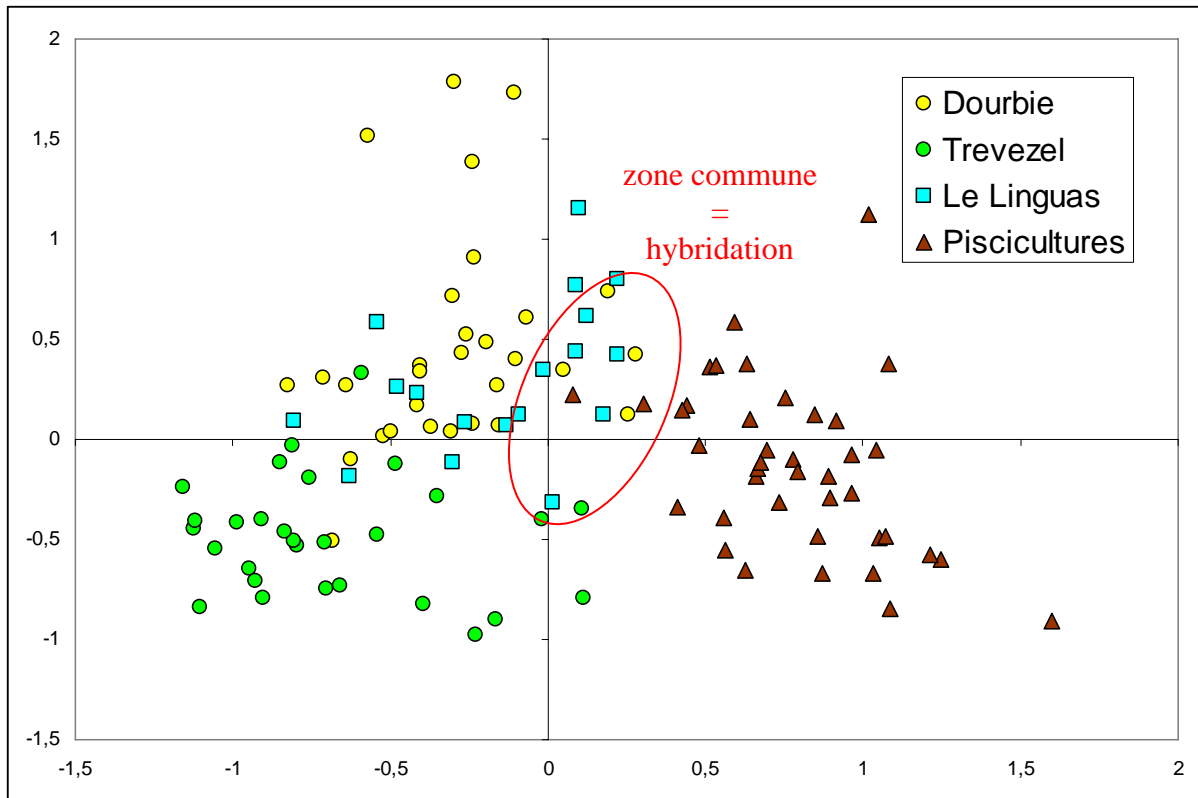


Figure 2: Dans cette analyse multidimensionnelle (ici une Analyse Factorielle des Correspondances ou AFC) chaque point représente une truite. Plus deux points sont rapprochés et plus les deux truites se ressemblent génétiquement.

5.2 - Analyse d'assignation

A partir de l'ensemble des truites analysées (59 de cette étude + 18 Linguas + 40 pisciculture), sans utiliser l'information de leur origine, le logiciel Structure recherche le meilleur assemblage pour former k sous-unités ressemblant à des populations naturelles (équilibre de panmixie et de liaison).

Dans la mesure où nous recherchons à décrire le mélange sauvage/pisciculture, $k=2$ est le plus logique. Cependant, dans l'hypothèse d'une différence naturelle entre les 3 station de rivière, $k=3$ a aussi été essayé.

La figure 3 rend compte de la structure contenue dans les 117 truites analysées.

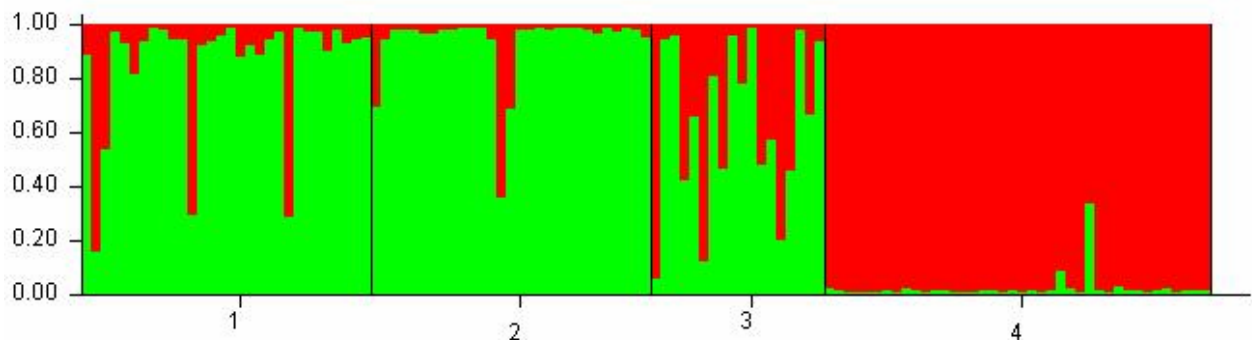


Figure 3: Chaque truite est représentée par une barre verticale. L'échantillon 4 est celui de pisciculture. La partie rouge de chaque barre correspond donc à la partie domestique de chaque truite, provenant d'hybridations anciennes (pas de truite de rivière entièrement rouge).

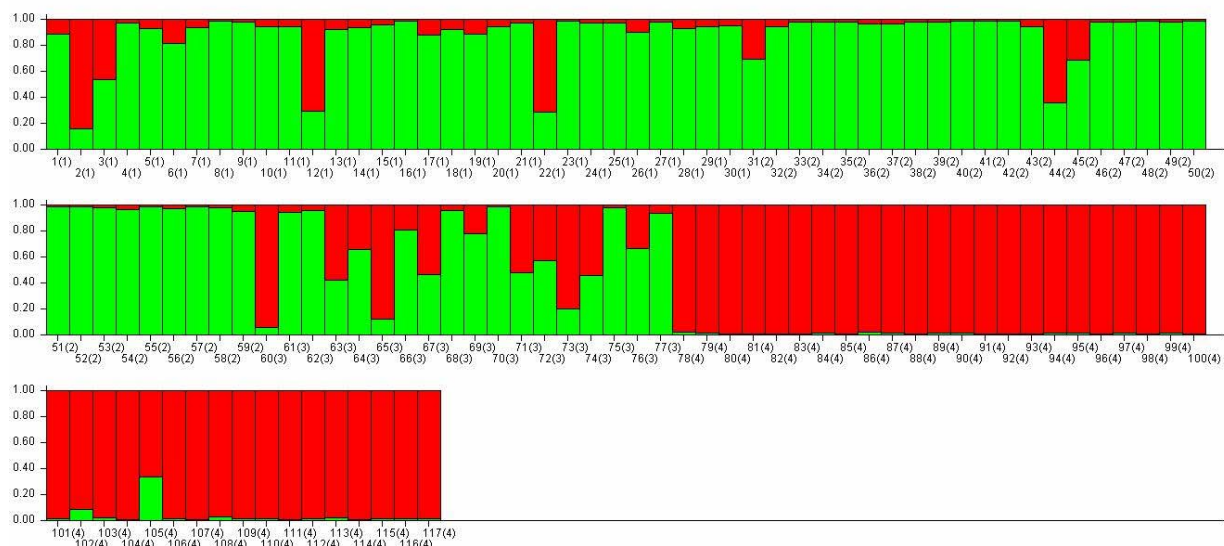


Figure 4: Ceci est la même analyse mais cette représentation détaille bien chaque truite.

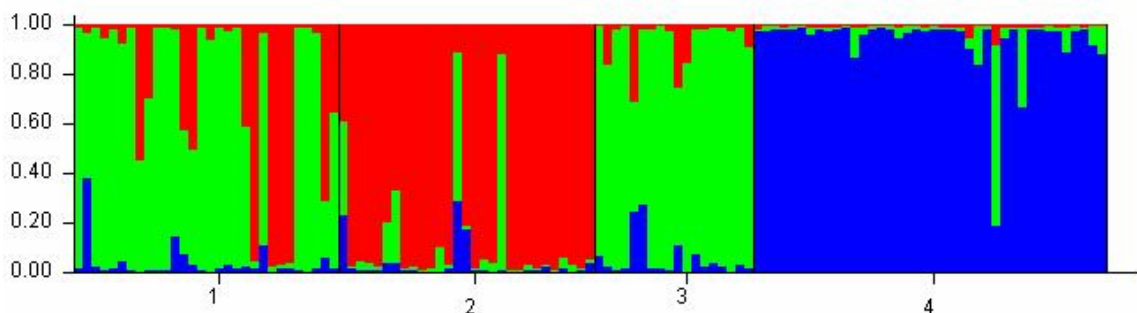


Figure 5: Pour $k=3$, le logiciel a attribué la couleur bleue aux truites de pisciculture. Nous observons que la station 2 (Trévezel, en rouge) est génétiquement différenciée des stations 1 et 3 (Dourbie et Linguas en vert), ce qui est géographiquement logique.

Les calculs d'hybridation ont été effectués sur les tests où $k=2$ (faits 3 fois, leur moyenne a été calculée).

Il en ressort que l'échantillon de la Dourbie comporte **14%** de gènes domestiques, le Trévezel **6 %** et le Linguas **36%**. L'échantillon composite de pisciculture présente **97%** de gènes domestiques, montrant par là un "bruit de fond" de quelques pourcents, classiques pour cette méthode.

6- Interprétation

Les truites de cette zone atlantique du département du Gard sont naturellement structurées entre affluents éloignés (Dourbie/Trévezel) mais pas entre affluents proches (Dourbie/Linguas) montrant par là leur capacité limitée de migration. Ces truites sont donc sédentaires.

Les trois stations analysées sont modérément (Dourbie et surtout Trévezel) à moyennement (Linguas) hybridées par la truite domestique. Le fait de ne pas trouver de truites entièrement domestiques dans ces rivières montre qu'elles n'ont pas été repeuplées de quelque façon que ce soit (boîtes Vibert, alevins, adultes surdensitaires...) durant les 2 ou 3 dernières années au moins, ou que ces apports n'ont pas survécu (généralement le cas des surdensitaires).

Les traces modérées à moyennes d'hybridation sont donc le résultat de pratiques anciennes. Il est impossible de dire si ces traces vont se réduire avec le temps en l'absence de tout repeuplement.

Du point de vue de la gestion, des peuplements peu ou modérément introgressés par la forme domestique méritent une gestion patrimoniale, ceci pour deux raisons:

- parce que la différence naturelle observée ici entre Dourbie/Linguas et Trévezel, des affluents voisins, donne une idée de la diversité naturelle des truites de la région, comparable à aucune autre truite, et donc à conserver dans le cadre de la protection de la biodiversité du vivant,

- parce que la forme sauvage a "résisté" aux repeuplements durant des décennies, sinon, nous n'aurions trouvé que des truites domestiques. Sans résistance, par simple effet de dilution, et à supposer que le nombre d'alevins déversés par année est égal au nombre de truites résidentes, la proportion de truites sauvages évoluerait année après année selon la série suivante: 100% => 50% => 25% => 12,5% => 6% => 3% => 2% => 1% => 0%... c'est à dire que la forme sauvage disparaîtrait en 8 années.

Que signifie "résister":

- il y a d'abord la compétition, quelque soit l'âge des alevins, pour la nourriture et le territoire: les truites sauvages doivent certainement supplanter les domestiques;

- il y a la sélection du milieu, qui est très différent des conditions de pisciculture; une bonne partie des alevins déversés ne s'adaptent pas et dévalent.

Les deux photographies présentées ci-dessous montrent qu'il est difficile, visuellement, de reconnaître les truites domestiques après hybridation. Les analyses génétiques paraissent donc indispensables à une gestion raisonnée.



Truite Dourbie 02 (84% domestique)



Truite Trévezel 11 (99% sauvage)

Montpellier le 8 octobre 2010

Annexe : Génotypes obtenus et estimation du taux d'hybridation (le pourcentage représente la part domestique dans chaque truite).

	Mst85	SsoSL-311	Oneµ9	MST 543	Omy21 DIAS	SsosL 438	% gènes domestiques
Dou01	163167	134144	201207	148148	114114	097103	0,11
Dou02	159167	128156	199201	148152	106120	097103	0,84
Dou03	159167	134142	207207	148152	106118	095097	0,47
Dou04	163163	132134	201201	148148	106120	095097	0,03
Dou05	163163	128134	197201	148148	106120	097101	0,07
Dou06	157167	140142	201207	126148	106106	095095	0,18
Dou07	163171	132134	199207	128128	102114	097101	0,06
Dou08	163163	132134	201201	164166	094106	097097	0,01
Dou09	163163	134134	201201	126126	106114	095097	0,02
Dou10	163167	134128	207207	128128	106106	101101	0,05
Dou11	147159	132144	199207	128150	102106	097103	0,05
Dou12	171177	128132	199207	124124	106114	097103	0,70
Dou13	163173	134134	201207	148148	094102	097103	0,08
Dou14	159163	130148	199201	128160	098106	097097	0,06
Dou15	163171	132132	201207	166166	106120	097103	0,04
Dou16	163163	132134	201201	164166	106114	095101	0,01
Dou17	159159	144124	199207	128160	106114	097097	0,12
Dou18	159159	144144	197201	128160	110100	097107	0,08
Dou19	147167	134134	199201	128148	106106	097097	0,11
Dou20	157163	132152	197207	128152	094108	097103	0,05
Dou21	147169	134154	201201	124126	094106	093097	0,03
Dou22	159167	148152	197201	124148	102118	099099	0,72
Dou23	159163	148148	201209	126128	094106	095097	0,01
Dou24	147163	148152	209209	126148	094106	101103	0,02
Dou25	163163	148148	199201	124126	094106	095103	0,02
Dou26	159163	128144	197201	124124	106106	097097	0,09
Dou27	159163	144144	197199	128160	106114	103103	0,02
Dou28	147163	152142	201207	162166	106114	097097	0,07
Dou29	171163	134136	201201	128148	094106	097101	0,05
Dou30	159163	148152	199201	124124	100106	097103	0,05
Tre01	147147	140150	201201	148148	106120	095103	0,30
Tre02	163163	126150	201201	128144	092102	099099	0,05
Tre03	163169	140152	201201	126148	094094	097097	0,02
Tre04	169169	154128	201201	118124	100100	097103	0,02
Tre05	165163	132150	201201	144148	094106	103103	0,02
Tre06	159169	150142	201201	126144	120106	097097	0,04
Tre07	163175	150152	199201	126128	106114	097103	0,03
Tre08	169177	152146	201201	128150	094094	095103	0,02
Tre09	163169	150150	201201	144148	094100	097103	0,02
Tre10	163169	132152	201201	128144	094106	103103	0,01
Tre11	163169	152144	201201	128144	094106	095103	0,01
Tre12	163163	132152	201201	128144	100106	097097	0,01
Tre13	163163	126126	201201	128128	092102	099099	0,06
Tre14	147177	128128	199201	152152	100102	097103	0,64
Tre15	147147	130152	201201	126144	092102	099099	0,31
Tre16	147163	128152	201201	128144	094108	103103	0,02
Tre17	167169	132144	201201	144144	094100	095103	0,01
Tre18	163177	152154	201201	144150	100106	097103	0,01
Tre19	163163	144152	201201	124148	106106	095097	0,02

	Mst85	SsoSL- 311	Oneµ9	MST 543	Omy21 DIAS	SsosL 438	% gènes domestiques
Tre20	169169	152152	201201	126126	094108	097103	0,01
Tre21	163169	150152	201201	128128	094106	101103	0,01
Tre22	163169	132152	201201	124128	094114	097103	0,01
Tre23	147163	152152	201201	144150	094094	095101	0,02
Tre24	169163	154156	199201	126128	094106	103103	0,03
Tre25	163163	152154	201201	128144	094106	097103	0,01
Tre26	157163	128150	201201	126128	100100	095095	0,03
Tre27	159169	128132	201201	128128	094106	103103	0,01
Tre28	163169	150128	201201	126126	094094	097103	0,02
Tre29	167169	150150	201201	126144	100120	097103	0,04
Lin01	157167	132162	199201	148148	106106	097105	0,94
Lin03	163163	128132	201207	118118	094106	103105	0,06
Lin04	157167	132132	201207	166166	100102	103103	0,04
Lin05	159171	132144	207207	124148	118106	097097	0,58
Lin06	147171	134156	201201	128128	088094	099105	0,33
Lin07	163167	132162	201201	124124	106108	099105	0,88
Lin08	163163	132132	201197	148148	094102	099105	0,19
Lin09	157159	132182	201207	148148	102104	097105	0,54
Lin10	163163	128132	201207	148150	106106	097103	0,04
Lin13	163163	132174	199201	128128	100108	099105	0,22
Lin15	163163	132132	201201	128150	104106	103103	0,01
Lin16	157159	128182	199201	126128	114106	097105	0,52
Lin17	147163	132162	201201	148148	106106	099103	0,43
Lin18	147147	148162	197197	148148	106118	097103	0,80
Lin19	159171	162144	201207	128148	106106	099105	0,54
Lin23	163163	132148	207207	128128	106106	097103	0,02
Lin24	163163	132182	201207	148148	104124	103105	0,33
Lin25	159163	132132	201201	126126	102104	097099	0,06