

**Description génétique de la population de truites du
Coularou (Gard)
ayant subi une pollution massive au détergent le 31 janvier 2013**

Projet COUL
Rapport de mars 2013



© *Communauté de Communes du Pays Viganais*

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

1. Introduction

A la suite du rejet accidentel, le 31 janvier 2013, de près d'un mètre cube de détergeant NYLATERGE TL dans le Coularou, une mortalité de près de 500 truites, probablement par asphyxie, a été observée par les riverains et les gestionnaires des rivières (Annexe 1). Il est rapidement apparu que la nature génétique de cette population décimée méritait une investigation, qui fait l'objet de ce rapport (maître d'œuvre: l'AAPPMA de l'Arre au Vigan).

Cette zone avait déjà fait l'objet d'analyses exploratoires commandées par la Fédération départementale du Gard (FD30). Des données de référence sont donc disponibles.

2. Echantillonnage

Le soir même, une trentaine de truites, tuées par la pollution, a été congelée à -20°C. Les poissons ont ensuite été transportés congelés jusqu'au laboratoire de génétique (ISEM) de l'Université Montpellier 2 le 7 février 2013. Alain Canalès est le correspondant auprès du laboratoire de Montpellier.

En plus des truites du **Coularou**, des échantillons de référence ont été ajoutés: des localités voisines déjà analysées (**Arre** et **Coudoulous**) ainsi que des échantillons de truites domestiques commerciales françaises provenant de **deux piscicultures** analysées à l'occasion du projet GENESALM (Seine-Maritime et Pas de Calais) (Tableau 1).

n° échantillon	n° carte	station	nombre	n° ISEM échantillon	n° ISEM individus
1	C	Coularou	30	L086	T24701-T24730
2	1	Coudoulous	30	L377	T19662-T19691
3	2	Arre	30	L378	T19701-T19721
4		Pisciculture Seine Maritime	30	L267	T16956-T16985
5		Pisciculture Pas de Calais	29	L258	T16986-T17015

Tableau 1 : Caractéristiques des truites analysées dans ce rapport (ligne jaune) et des truites de référence servant aux comparaisons dont les truites domestiques atlantiques (en gris).

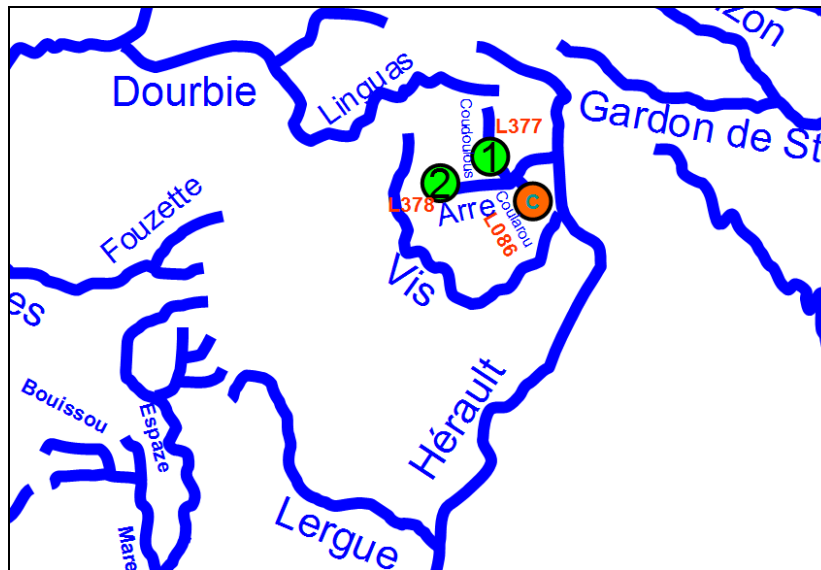


Figure 1 : Positionnement de l'échantillon analysé et de certains échantillons de référence dans le réseau hydrographique local (voir le Tableau 1 pour la signification des chiffres).

3. Méthode moléculaire

Les morceaux de nageoire de truites prélevés sur les truites à peine décongelées ont été mises immédiatement dans l'alcool. L'ADN d'un minuscule morceau (1 mm x 2 mm) est **extraît** dans une mixture de protéinase K (détruit les protéines et libère l'ADN) et de Chelex (chélateur des enzymes destructeurs naturels de l'ADN et de certains inhibiteurs) pendant au moins deux heures. Après centrifugation, le surnageant dilué sert d'extrait d'ADN.

Les extraits d'ADN sont rajoutés à un mélange réactionnel (le mix) capable d'**amplifier** le petit morceau d'ADN cible: le marqueur microsatellite (synthèse artificielle de l'ADN cible: ou PCR). Le milieu réactionnel se charge alors d'une très grande quantité de fragments d'ADN artificiel cible.

Les variants de longueur des microsatellites (les allèles) sont caractéristiques de chaque truite et sont la base des calculs futurs. Pour les mesurer, ils sont mis à migrer sous un champ électrique dans un gel d'acrylamide (la **migration**) puis scannés. Un analyseur d'image permet de mesurer automatiquement la longueur des fragments d'ADN, ces mesures sont contrôlées par un technicien expérimenté.

La matrice de génotypes est constituée à partir de ces mesures. Elle constitue la base de toutes les analyses statistiques.

4. Méthode statistiques

Les données moléculaires (génotypes) obtenues, codées, permettent d'établir une matrice. Additionnée de la matrice des échantillons de référence (pour les comparaisons) d'échantillons déjà analysés (voir Tableau 1), la matrice finale permet d'effectuer les traitements statistiques suivants, constitués de deux étapes principales.

L'**analyse multidimensionnelles** (ici un Analyse Factorielle des Correspondances ou AFC effectuée grâce au logiciel GENETIX) produit un diagramme qualitatif où chaque truite est positionnée en fonction de son génotype décrypté pour chaque marqueur microsatellite.

Plus deux points sont rapprochés, plus les truites qu'ils représentent se ressemblent génétiquement. Plus ils sont éloignés et plus les truites sont différentes. Cela permet de détecter des "nuages" de points correspondant à des lignées génétiques permettant de comprendre de quel type sont les truites analysées.

Une fois les lignées déterminées, les **paramètres populationnels** classiques de la génétique des populations sont calculés pour chaque lignée et chaque station: la diversité génétique (H_o = hétérozygotie observée et H_{nb} = hétérozygotie théorique non biaisée), la panmixie ou probabilité égale de chaque membre d'une population de truite de se reproduire avec tout autre membre de sexe opposé (F_{is}). Les informations biologiques tirées de ces paramètres populationnels sont détaillées dans la discussion.

5. Résultats

5.1 - Analyse multidimensionnelle

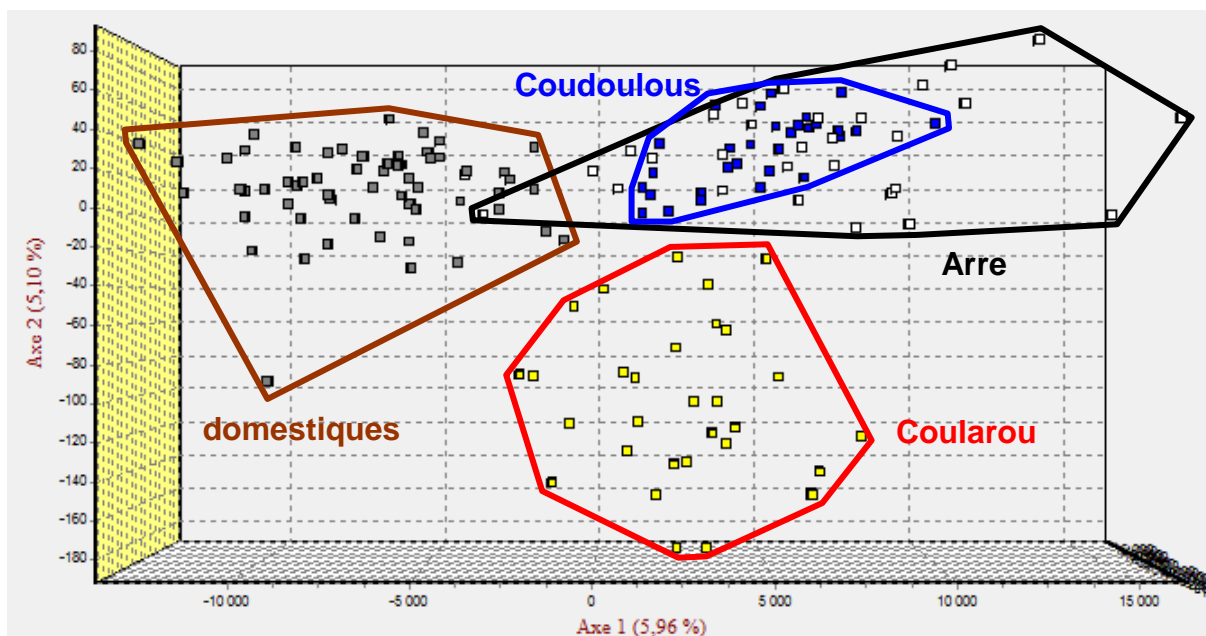


Figure 2 : Cette analyse multidimensionnelles montre les relations entre truites sauvages et domestiques (seul l'Arre semble impacté), la similitude génétique entre Arre et Coudoulous, et la différence entre ces dernières populations et celle du Coularou.

L'analyse multidimensionnelle présentée en Figure 2 est l'analyse principale et décisive des données génotypiques. Elle donne la meilleure représentation des ressemblances et dissemblances entre échantillons de référence et l'échantillon du Coularou.

Le diagramme nous montre qu'il y a une nette distinction entre les truites du Coularou et celles de l'Arre et du Coudoulous (qui se ressemblent entre elles). L'ensemble des truites sauvages se distinguent aussi des truites domestiques de référence à l'exception de la population de l'Arre introgressée à 8% par les formes domestiques (Berrebi, Shao, 2011).

5.2. - Paramètres populationnels

station	Hnb.	Ho.	A
Coularou	0,81	0,76	8,67
Coudoulous	0,67	0,64	6,50
Arre	0,70	0,52	8,00
2 piscicultures	0,78	0,71	9,83

Tableau 2 : Trois paramètres décrivant tous la diversité génétique avec quelques nuances. La diversité génétique de la population de truite du Coularou est la plus élevée (Hnb=0,81) de tous les échantillons analysés.

6. Interprétation et discussion

L'analyse génétique des truites récupérées du Coularou après l'accident de pollution ont montré qu'elles constituaient une lignée génétique méditerranéenne pure, sans trace des lignées domestiques.

La population du Coularou est distincte de celles des rivières voisines de l'Arre et du Coudoulous. Son polymorphisme est très élevé, fait exceptionnel pour les truites de la région.

Le sentiment de perte irréparable doit être pondéré par le fait que le peuplement à l'amont du point de déversement est connu comme abondant. Il nous reste à espérer que l'amont de la rivière repeuplera l'aval

7. Références bibliographiques

Berrebi, P., & Shao, Z. (2011). *Analyses génétiques des truites du bassin versant méditerranéen du département du Gard - Cèze (Rhône) et Arre (Hérault)*: Rapport d'analyses pour la Fédération du Gard. Université Montpellier 2.

Fait à Montpellier le 4 mars 2013

8. Annexes



Annexe 1 : Décompte des dégâts le soir de la catastrophe. (© Communauté de Communes du Pays Viganais)



Annexe 2 : Les mêmes truites sur la table de dissection. (© ISEM)



La pêche révèle votre nature...

Pêcher dans le Gard



NEWSLETTER N° 54 MARS 2013

3 POLLUTION DU COULAROU

Début février survenait la pollution du Coularou affluent de l'Arre à la suite d'un déversement accidentel de produits industriels (Midi Libre des 1^{er}, 2 et 8 février).

L'instruction est en cours après les interventions de la Gendarmerie et de l'ONEMA et les plaintes des associations à venir.



L'accident, très localisé, est particulièrement regrettable à un mois de l'ouverture. D'autant plus qu'il touche **une population de truites farios de souche méditerranéenne pure** et particulièrement dense sur ce cours d'eau. La reproduction qui avait éclosé sur les frayères du Coularou, portion de rivière en réserve, est totalement compromise et peut-être pour plusieurs années. Sur l'Arre les produits semblent s'être rapidement évacués.

Les contacts entre la Fédération, l'AAPPMA du Vigan et l'entreprise WELL ont été positifs et permettent d'envisager une procédure amiable mais aussi un partenariat constructif.

(Midi Libre du 14 Février; photo Midi Libre).

Annexe 2 : Annonce prématurée de la FD30 de la destruction d'une "population de truites farios de souche méditerranéenne pure". Cette prémonition se trouve maintenant avérée. (© FD30)