

## Etude génétique du peuplement de truites fario de la Clarée



crédit photo: <http://parcoursdepeche.com>

**Rapport de mars 2007**

Patrick Berrebi & Sophie Dubois  
*Institut des Sciences de l'Evolution*  
*Université Montpellier 2*

### 1. Introduction à l'étude

La Clarée est une rivière des Hautes Alpes se jetant dans la partie amont de la Durance. La présente étude fait suite à l'étude du peuplement du Guil, également affluent de la Durance.

Trois échantillons de 20 truites, capturées en trois points du cours d'eau, ont été remis par la Fédération de Pêche des Hautes-Alpes à l'Institut des Sciences de l'Evolution de l'Université Montpellier 2 le 18 septembre 2006.

Les objectifs de l'étude comprennent:

- une description de la composition génétique de chaque échantillon en terme d'opposition entre forme autochtone (= méditerranéenne) et de pisciculture (= atlantique), mais aussi en comparaison avec une pisciculture locale, celle de Roquebillière. Cette analyse détermine donc le taux d'introgression dû aux alevinages en formes domestiques.
- une description de l'état du peuplement (et sa comparaison amont-aval) en terme de polymorphisme (ici l'hétérozygotie) et d'équilibre panmictique (reproduction au hasard entre tous les membres d'un peuplement)
- une comparaison du type naturel de la Clarée avec celui du Guil, affluent voisin
- une interprétation si possible explicative des observations et une discussion sur leurs conséquences pratiques pour la gestion.

### 2. Echantillonnage

Trois échantillons de la Clarée ont été fournis. Il s'agit, d'amont en aval, de:

- 22 truites de la station Jadis

- 22 truites de la station Névache et
- 21 truites de la station Plampinet

Notons que les deux premières stations sont séparées par au moins deux cascades infranchissables à la remontée. Les deux dernières stations sont donc en contact potentiel entre elles et avec la Durance.

### 3. Analyses moléculaires

Les analyses moléculaires ont été effectuées par Sophie Dubois, technicienne à l'Université Montpellier 2, à l'Institut des Sciences de l'Evolution. Les analyses statistiques et le présent rapport ont été faits par Patrick Berrebi.

Les microsatellites sont des marqueurs de l'ADN nucléaire hypervariables et donc sensibles à l'isolement. Ainsi, si deux populations de truites se trouvent séparées pendant une longue période, et/ou si elles ont subi des conditions écologiques très divergentes, la composition génétique tend à diverger sous l'effet de la dérive (aléatoire) et de la sélection (adaptation au milieu). Il s'agit donc de déceler les variants, découlant d'isollements, présent dans chaque échantillon. Toute différence de fréquence correspond à un isolement.

Techniquement, un très petit bout de nageoire (2x2mm) est dégradé à la protéinase K et l'ADN libéré purifié par la méthode du Chelex. Ces extraits d'ADN font ensuite l'objet d'amplifications (*Polymerase Chain Reaction* ou PCR) pour synthétiser certaines zones de l'ADN : les microsatellites. Ces zones sont composées de la répétition (de 5 à 50 fois...) de 2 ou 4 nucléotides et c'est le nombre de répétitions qui varie à cause des mutations.

Après PCR, les fragments d'ADN amplifiés sont mis à migrer sous l'action de l'électricité dans des gels d'acrylamide. Les molécules se décalent en fonction de leur longueur. Un scanner de gels permet enfin de "lire" les gels, c'est à dire de donner la composition en allèle de chaque truite : c'est ce qu'on appelle le génotypage. Chaque génotype est composé de deux allèles, celui provenant de la mère et celui provenant du père.

Dans notre cas, quatre locus microsatellites sont analysés : **Mst85**, **Ssa197**, **SsoSL311** et **Oncp9**.

Les analyses consistent donc à produire dans un premier temps un tableau (ou matrice) de génotypes (voir annexe) qui sera ensuite traité statistiquement pour l'interprétation.

### 4. Analyses statistiques

L'analyse statistique de la composition génétique de ces échantillons passe par diverses étapes.

*Etape 1* - L'analyse statistique la plus adaptée à l'interprétation globale des données est l'AFC (Analyse Factorielle des Correspondances). Cette analyse multidimensionnelle effectuée par le logiciel GENETIX, permet de positionner chaque truite sur un graphique en fonction de la totalité de sa composition génétique. Ainsi, sur le graphique ci-dessous, plus deux points seront rapprochés, plus les truites qu'ils représentent seront génétiquement semblables. Ainsi, les diverses souches formeront des "nuages" distincts et reconnaissables (bien visibles en ce qui concerne les nuages "méditerranéennes" à gauche et "atlantiques" à droite).

*Etape 2* - La différenciation entre les populations échantillonnées, bien que déjà illustrée par l'étape 1, doit être statistiquement testée par les Fst qui permettent un calcul de probabilité et donc un niveau de significativité des différences observées.

Etape 3 - L'analyse permettant de tester l'état de chaque population analysée consiste à calculer plusieurs paramètres tels que

- les Fis testant de la panmixie, c'est à dire le fait que tout individu de la population se croise au hasard avec tout autre. Cette panmixie est perturbée par les introductions, l'existence de sous-unités ou d'espèces distinctes, un effectif de reproducteur trop faible (consanguinité)...

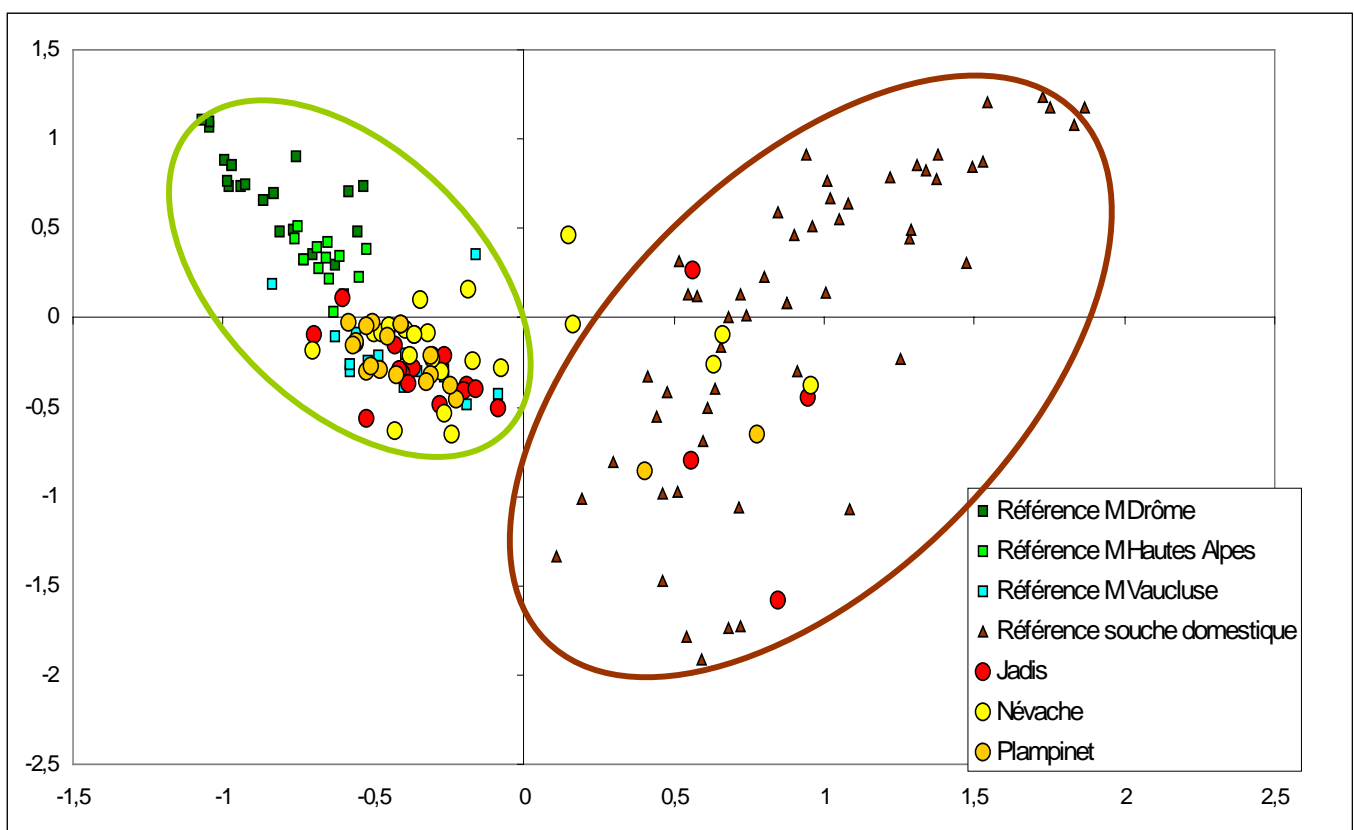
- H, l'hétérozygotie ou diversité génique qui dépend de la taille de la population ou du nombre de reproducteurs, mais aussi éventuellement de l'histoire de la fondation de la population avec un possible goulot d'étranglement originel ou accidentel (fait que l'effectif est passé, dans son histoire, par des valeurs de quelques individus reproducteurs seulement).

## 5. Résultats

Ce rapport a comme objectif principal de mesurer la pureté méditerranéenne des trois échantillons de la Clarée. Pour cela, une comparaison génétique avec des échantillons déjà analysés au laboratoire de Montpellier est nécessaire.

Trois échantillons méditerranéens ont été rajoutés à l'analyse: la Drôme (Ouvèze), les Hautes Alpes (Ubayette) et le Vaucluse (Sorgue). D'autre part, une souche domestique atlantique sert de référence pisciculture.

Ces références permettent de faire une estimation en fonction de l'analyse statistique présentée ci-dessous, qui correspond à l'étape 1 du protocole statistique décrit plus haut:



**Figure 1:** Représentativité graphique de la diversité génétique des truites de la Clarée et de plusieurs populations de référence

Nous observons que la majorité des points-ronds rouge-orange-jaune (stations de la Clarée) se trouvent dans l'ellipse "méditerranéenne" en vert. Notons que 3 points jaunes, deux oranges et 4 rouges se trouvent dans l'enveloppe "pisciculture" brune. Enfin deux points jaunes se trouvent à mi-chemin, ce sont probablement des hybrides F1 (de première génération).

Ces observations décrivent un cas typique de repeuplements récents (maximum 3 ans) car on retrouve des truites nées en pisciculture (car situées dans l'ellipse "pisciculture") et une station (Névache) montrant que ces repeuplements ont provoqué une hybridation avec les méditerranéennes, ce qui doit correspondre à des repeuplements plus anciens (disons environ 5 ans), mais pas plus car dans ce cas, nous n'aurions pas eu de F1.

En ce qui concerne le taux de présence de truites de pisciculture, il peut se calculer en première approximation comme :

Jadis: 4 truites de pisciculture sur 21 = 18% de présence domestique

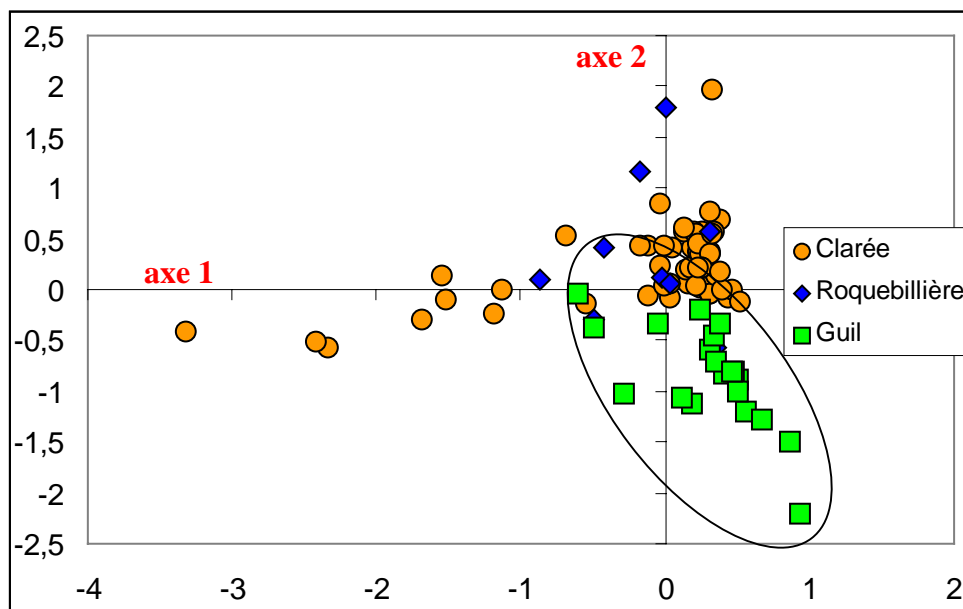
Névache: 3 truites de pisciculture et 2 hybrides F1 sur 22 = 18%

Plampinet: 2 truites de pisciculture sur 20 = 10%

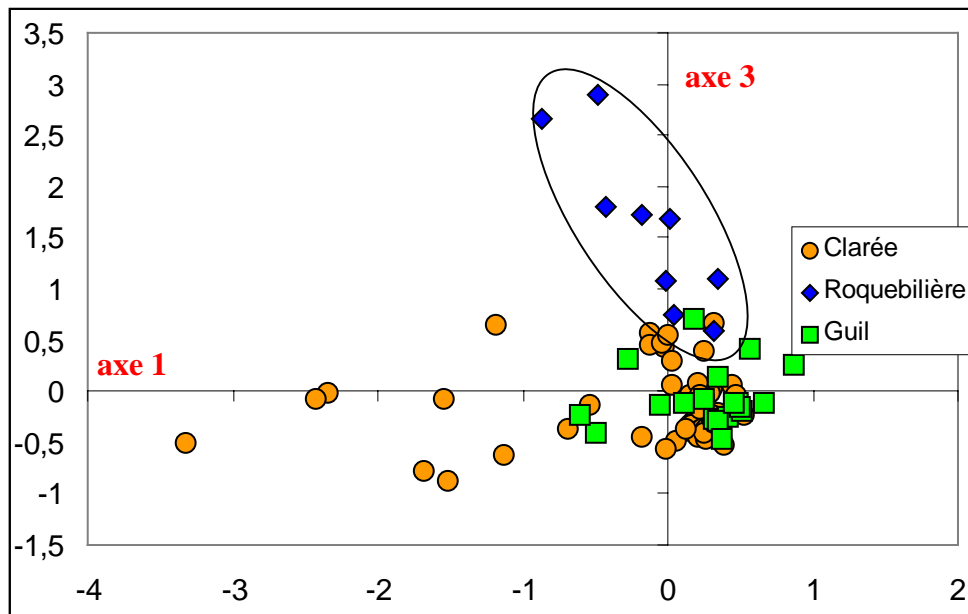
## 6. Comparaison avec la pisciculture de Roquebillière et le Guil

Il est possible de rechercher les différences génétiques éventuelles entre les truites de la Clarée et celles de la pisciculture ayant fourni l'essentiel des alevinages, et l'affluent voisin de la Durance: le Guil

En ce qui concerne la pisciculture de Roquebillière, le laboratoire de génétique a eu l'occasion d'analyser un échantillon de septembre 2001. Les résultats décrits plus bas doivent être pris



**Figure 2:** Cette AFC est représentée par les axes 1 et 2. L'échantillon du Guil se distingue de ceux de la Clarée par un étalement le long des valeurs négatives de l'axe 2, tout en ayant des ressemblances évidentes au centre du graphique.



**Figure 3:** Ce graphique représente la même analyse, mais présentée selon les axes 1 et 3: ici c'est l'échantillon de Roquebillière qui se distingue dans les valeurs positives de l'axe 3.

avec précaution parce que chaque pisciculture possède plusieurs souches et que nous n'avons pas la garantie que cette souche de 2001 a été employée pour l'alevinage de la Clarée en truites méditerranéennes.

Dans le rapport de février 2002 traitant d'échantillons du Parc du Mercantour et basé sur un autre type de marqueurs moléculaires (les allozymes), ce même échantillon de 2001 a été décrit comme composé à 84% de gènes méditerranéens et à 16% de gènes atlantiques.

Dans l'étude de novembre 2006 analysant le même échantillon avec des microsatellites, l'échantillon de Roquebillière a été jugé plus proche du haut Rhône (Ain, Doubs) que des Alpes du Sud (Ubaye).

Le Guil a été analysé sur des échantillons de septembre 2004. Un échantillon purement méditerranéen (station Villevieille) a été choisi pour la comparaison.

L'analyse multidimensionnelle (AFC) effectuée sur les échantillons de la Clarée, de Roquebillière et du Guil montrent que chacun de ces trois échantillons diffère génétiquement (figures 2 et 3).

- De ce fait, il est peu probable que cette pisciculture ait joué un rôle important dans la constitution des peuplements de truites de la Clarée, soit parce que la stabilisation de ces truites d'élevage (bien qu'essentiellement méditerranéennes) ait été faible, ce qui est généralement observé lors des repeuplements; soit que la souche analysée n'a pas été celle qui a été employée pour les repeuplements.

- L'analyse du Guil montre également que le peuplement sauvage de cet affluent voisin est différent de celui de la Clarée. C'est le signe d'une assez forte structuration, affluent par affluent, de cette zone des Hautes Alpes... ce qui a déjà été observé dans d'autres affluents du Rhône, aussi bien coté Alpes qu'en Ardèche.

*Remarques:* la truite Jadis-14 ne semble pas être une truite *fario*. La truite Plampinet-9 a été mal fixée dans l'alcool et n'a pas pu être analysée.

## 7. Remarques finales

La Clarée est une rivière peuplée dans une large majorité de truites sauvages autochtones (méditerranéennes), globalement à 84%. Le schéma de la présence domestique est caractéristique de repeuplements récents **qui ne correspondent pas à une implantation durable**. Seuls les hybrides (deux sur 63 truites analysées) montrent une vraie pénétration des gènes domestiques. Toutefois, le fait que ce soit des hybrides de première génération hypothèque leur survie dans le milieu. En effet, si des hybrides avaient survécu dans le passé, on aurait trouvé des combinaisons plus complexes, loin des 50/50% des gènes domestiques/sauvages.

La Clarée semble donc très fortement méditerranéenne et rien ne permet de dire que l'impact des repeuplements récents soit durable.

Comme déjà observée en zone montagneuse, une différenciation génétique nette sépare les truites de la Clarée de celles du Guil. Ceci pose le problème de la création éventuelle d'une souche locale et de sa zone d'utilisation : il est peu réaliste de préconiser une souche différente par affluent.

Il est aussi logique de retrouver le même type de différence entre la Clarée et la souche (presque) méditerranéenne de la pisciculture de Roquebillière. Cette souche, dont nous n'avons pas l'origine exacte, a très probablement été constituée à partir d'un affluent du Rhône qui présentait le même type de différence vis à vis de la Clarée que présente le Guil.

Seule une étude plus vaste de la région permettrait de relativiser ces différences inter-affluents d'un même bassin.

Fait à Montpellier le 22 mars 2007

**ANNEXE 1: Recherche d'une distinction morphologique entre truites méditerranéennes et atlantiques dans la Clarée.**



**Spécimen Jadis-13:** individu atlantique né en pisciculture



**Spécimen Jadis-21:** individu atlantique né en pisciculture



**Spécimen Jadis-22:** individu méditerranéen né dans la Clarée

*Idéalement, du moins comme clairement observé dans le Pyrénées Orientales (thèse de Jean-Marc Lascaux), la principale différences entre truites sauvages méditerranéennes et atlantiques domestiques portent sur la présence de nombreuses petites taches noires chez les méditerranéennes (avec plus de 16 taches sur l'opercule).*

*Cette différence est assez nette sur ces clichés, mais d'autres photos montrent des truites méditerranéennes peu ponctuées...*

**ANNEXE 2: Détail des résultats et des diagnostics individu par individu.**

N° labo	N° terrain	station	Taille (mm)	poids (g)	Mst85	Ssa197	SsoSL-311	Oneµ9	Diagnostic
T09845	Jadis 1	Jadis	275	240	159163	127131	130134	197201	méditerranéen
T09846	Jadis 2	Jadis	190	80	159159	127127	128136	199201	méditerranéen
T09847	Jadis 3	Jadis	130	40	147173	127131	130150	201211	atlantique
T09848	Jadis 4	Jadis	120	35	163163	127131	128128	199199	méditerranéen
T09849	Jadis 5	Jadis	110	20	159163	119127	134136	199199	méditerranéen
T09850	Jadis 6	Jadis	290	250	159159	127127	130136	197201	méditerranéen
T09851	Jadis 7	Jadis	225	140	161163	127127	128134	199201	méditerranéen
T09852	Jadis 8	Jadis	220	140	163167	127131	134136	197201	méditerranéen
T09853	Jadis 9	Jadis	140	50	159163	127131	128130	199201	méditerranéen
T09854	Jadis 10	Jadis	40	1	163163	127127	136136	197197	méditerranéen
T09855	Jadis 11	Jadis	185	80	159163	127131	128130	197201	méditerranéen
T09856	Jadis 12	Jadis	300	300	159159	127131	134136	199199	méditerranéen
T09857	Jadis 13	Jadis	145	50	167173	123135	130142	199207	atlantique
T09858	Jadis 14	Jadis	60	2	0	139151	120120	179179	pas fario ???
T09859	Jadis 15	Jadis	210	110	159159	127127	136136	199201	méditerranéen
T09860	Jadis 16	Jadis	155	60	147147	123131	146152	197199	atlantique
T09861	Jadis 17	Jadis	190	80	159159	127135	128128	199199	méditerranéen
T09862	Jadis 18	Jadis	305	250	159163	127127	128128	201201	méditerranéen
T09863	Jadis 19	Jadis	60	2	163167	127127	0	195197	méditerranéen
T09864	Jadis 20	Jadis	85	10	159159	127131	128136	199201	méditerranéen
T09865	Jadis 21	Jadis	135	30	157173	123127	148148	201207	atlantique
T09866	Jadis 22	Jadis	235	135	147163	127127	130134	193197	méditerranéen
T09867	Név 1	Névache	254	145	147159	127131	128128	201201	Hybride F1
T09868	Név 2	Névache	190	80	159171	131135	148148	201201	atlantique
T09869	Név 3	Névache	125	20	159171	123131	136150	199199	Hybride F1
T09870	Név 4	Névache	360	500	161163	127127	130136	199201	méditerranéen
T09871	Név 5	Névache	295	250	159161	119127	136136	197199	méditerranéen
T09872	Név 6	Névache	167	50	159159	127127	136136	201201	méditerranéen
T09873	Név 7	Névache	268	200	159159	127131	128128	199201	méditerranéen
T09874	Név 8	Névache	220	95	163167	123131	128134	197197	méditerranéen
T09875	Név 9	Névache	197	70	159161	131131	128128	197201	méditerranéen
T09876	Név 10	Névache	184	60	159159	131131	132136	199201	méditerranéen
T09877	Név 11	Névache	233	110	147167	123131	138148	201207	atlantique
T09878	Név 12	Névache	180	55	161163	127127	130140	197199	méditerranéen
T09879	Név 13	Névache	182	55	159163	127131	128128	197201	méditerranéen
T09880	Név 14	Névache	126	15	159165	127127	128136	199199	méditerranéen
T09881	Név 15	Névache	200	80	159159	127131	128130	201201	méditerranéen
T09882	Név 16	Névache	176	55	159159	127131	128136	199199	méditerranéen
T09883	Név 17	Névache	123	20	159163	127135	118128	201201	méditerranéen
T09884	Név 18	Névache	133	20	159159	127127	134136	199201	méditerranéen
T09885	Név 19	Névache	97	10	159159	127131	128136	199201	méditerranéen
T09886	Név 20	Névache	45	1	159163	127131	136136	199201	méditerranéen
T09887	Név 21	Névache	90	5	147159	131131	148156	201201	atlantique
T09888	Név 22	Névache	80	3	159163	127131	134136	197201	méditerranéen
T09889	Plamp 1	Plampinet	245	150	159159	127127	128136	197199	méditerranéen
T09890	Plamp 2	Plampinet	268	220	159159	123123	128136	197197	méditerranéen
T09891	Plamp 3	Plampinet	300	300	163163	127131	128136	199201	méditerranéen
T09892	Plamp 4	Plampinet	212	100	159159	127127	128130	199201	méditerranéen



T09893	Plamp 5	<b>Plampinet</b>	115	20	159159	127127	128128	197199	méditerranéen
T09894	Plamp 6	<b>Plampinet</b>	95	10	147167	123127	148156	201201	<b>atlantique</b>
T09895	Plamp 7	<b>Plampinet</b>	330	335	159159	127127	136136	197201	méditerranéen
T09896	Plamp 8	<b>Plampinet</b>	230	130	159163	127127	0	199201	méditerranéen
T09897	Plamp 9	<b>Plampinet</b>	412	730	0	0	0	0	-
T09898	Plamp 10	<b>Plampinet</b>	315	350	161163	127127	128128	199201	méditerranéen
T09899	Plamp 11	<b>Plampinet</b>	173	50	159169	127127	0	195197	méditerranéen
T09900	Plamp 12	<b>Plampinet</b>	220	100	159163	127131	128134	197201	méditerranéen
T09901	Plamp 13	<b>Plampinet</b>	165	45	159159	127127	128136	199199	méditerranéen
T09902	Plamp 14	<b>Plampinet</b>	195	80	159161	127131	128136	199199	méditerranéen
T09903	Plamp 15	<b>Plampinet</b>	145	30	163163	127135	128134	197199	méditerranéen
T09904	Plamp 16	<b>Plampinet</b>	155	35	159163	123123	128136	197197	méditerranéen
T09905	Plamp 17	<b>Plampinet</b>	97	10	159163	127131	128134	197201	méditerranéen
T09906	Plamp 18	<b>Plampinet</b>	87	8	167167	127127	128156	201201	<b>atlantique</b>
T09907	Plamp 19	<b>Plampinet</b>	120	20	159159	119119	128136	201201	méditerranéen
T09908	Plamp 20	<b>Plampinet</b>	190	70	159159	127131	136136	197197	méditerranéen
T09909	Plamp 21	<b>Plampinet</b>	295	250	159163	127127	134136	201201	méditerranéen

## Localisation des stations de prélèvements génétiques sur la Clarée - 2006

