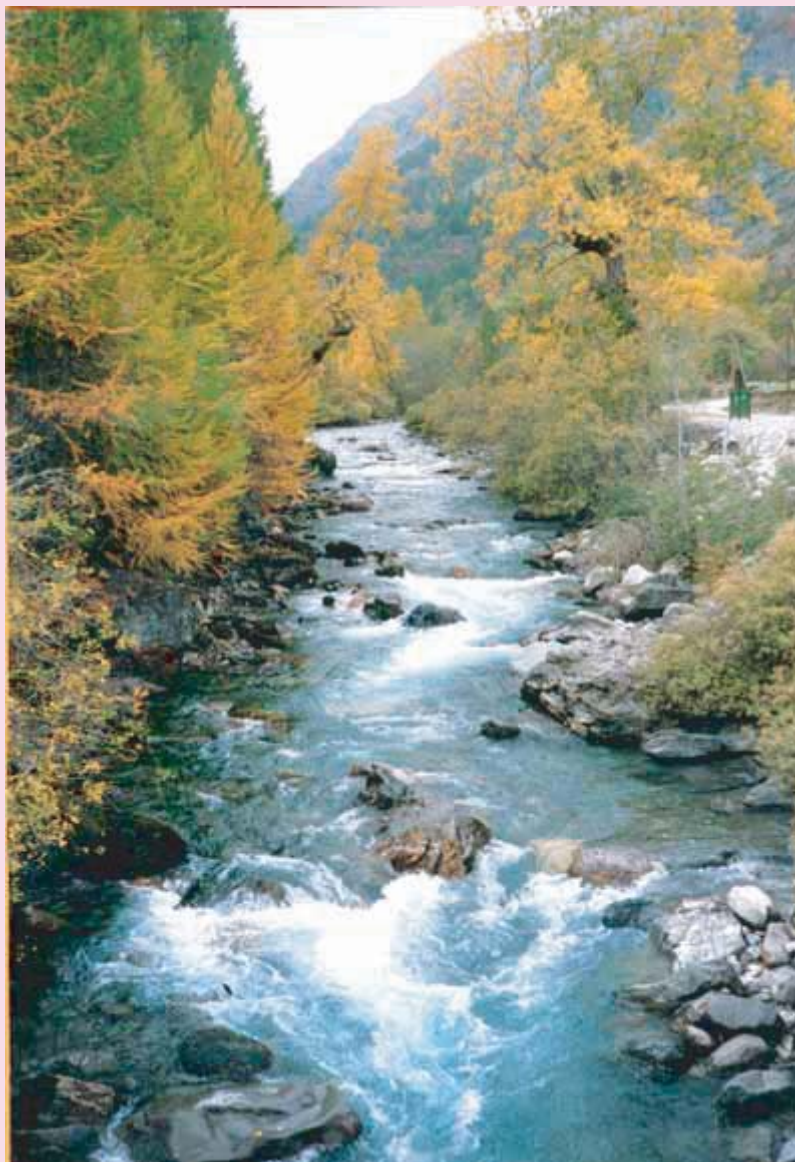


Etude génétique du peuplement de truites fario de la Biaysse

Rapport de décembre 2007



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

Avec le soutien financier de :
La Fédération Nationale pour la Pêche en France
Electricité de France

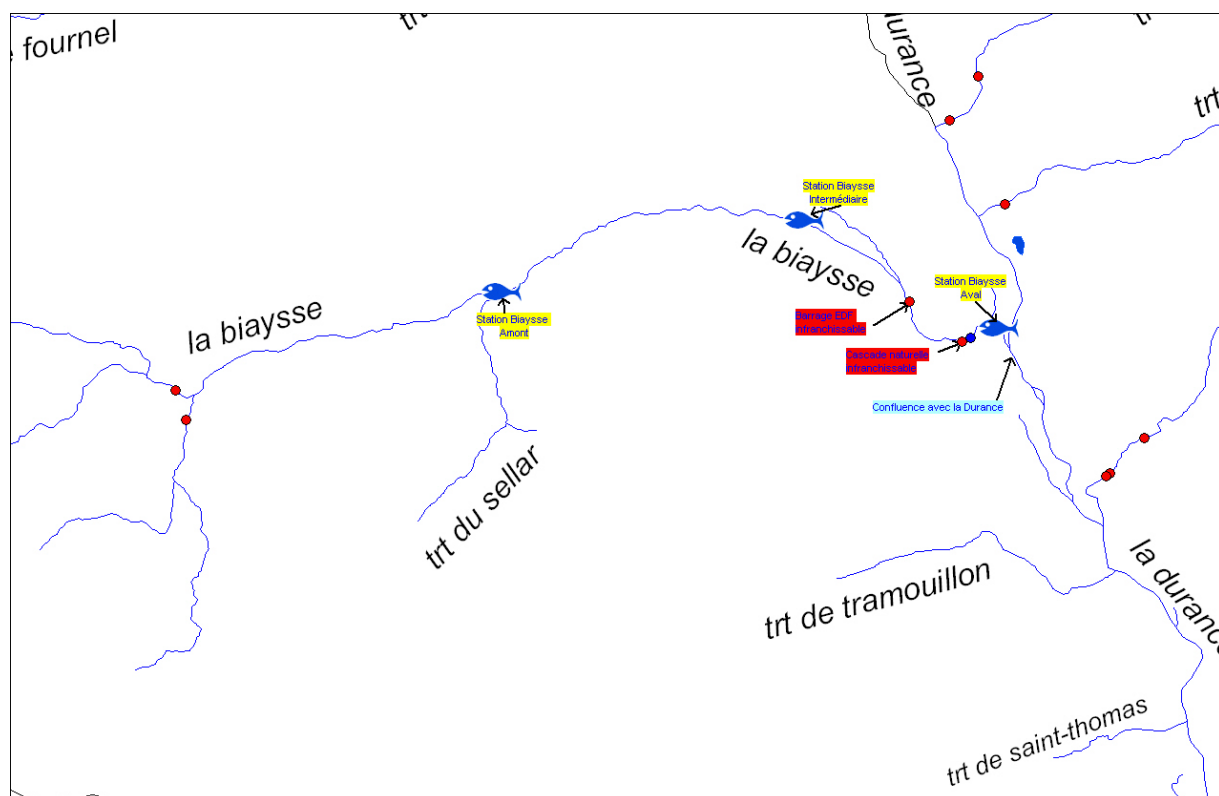
1. Introduction à l'étude

L'étude des truites de la Biaysse (août 2007) fait suite à celles de la Clarée (prélèvements en mars 2006, Fédé05) et du Guil (août 2004, Interreg AQUA). Ces rivières des Hautes Alpes se jettent dans la partie amont de la Durance. Ces études ont pour but de connaître la composition génétique des peuplements naturels méditerranéens de truites, généralement modifiés par les repeuplements en truites domestiques de type atlantique.

Les résultats antérieurs ont montré un impact variable de la truite domestique atlantique :

- dans le Guil, 1 à 9% d'introgression atlantique a été mesurée avec une exception allant jusqu'à 35%;
- dans la Clarée, l'introgression allait de 10 à 18%.

La présente étude de la Biaysse est composée de trois échantillons du même cours d'eau (voir carte jointe) nommés Biaysse amont (32 truites), intermédiaire (30) et aval (31), capturés le 8 août 2007. La station aval est séparée des deux autres stations par deux barrages. L'effet habituel des barrages est de rendre difficile ou impossible la migration vers l'amont. Ils empêchent rarement la dévalaison. De ce fait ce sont les populations amont qui diffèrent du fait de leur isolement, les stations aval cumulent elles les caractéristiques des peuplements amont.



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). Cette analyse détermine donc le taux d'introgression dû aux alevinages avec des 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 avec le type naturel de la Clarée et celui du Guil, affluents voisins;
- une interprétation si possible explicative des observations et une discussion sur leurs conséquences pratiques pour la gestion.

2. Analyses moléculaires

Les analyses moléculaires ont été effectuées par Sophie Dubois, ingénieure 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. Monsieur David Doucende (Fédé 05) a aidé à la rédaction de la discussion.

Les microsatellites sont des marqueurs hypervariables de l'ADN nucléaire 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'isolements, 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 stabilisé 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 **Oneμ9**.

Les analyses consistent donc à produire dans un premier temps un tableau (ou matrice) de génotypes (4 locus x 95 truites; 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 de "méditerranéennes" à gauche et d'"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 F_{st} qui permettent un calcul de probabilité et donc l'estimation d'un niveau de significativité des différences observées.

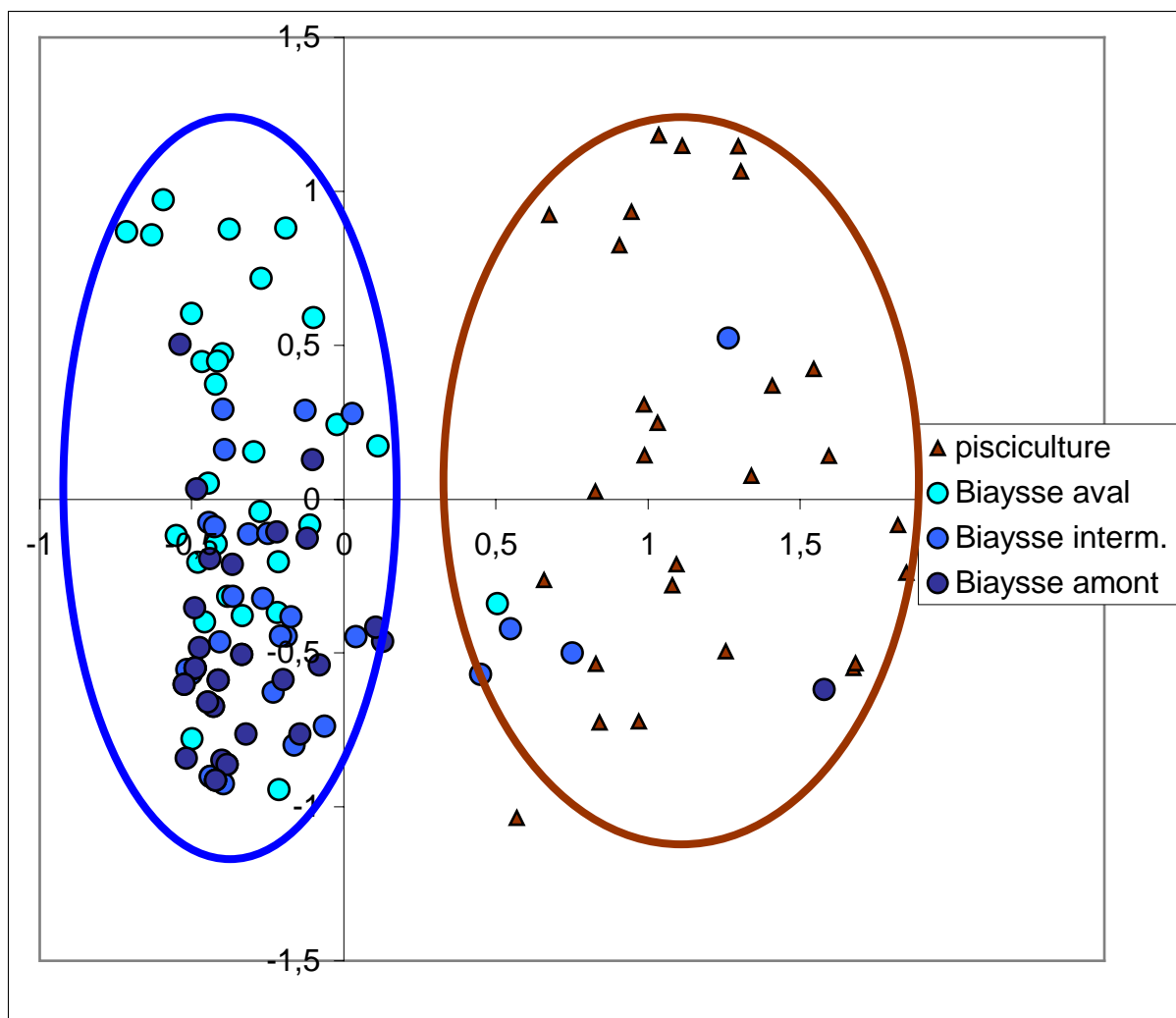
Etape 3 - L'analyse permettant de tester l'état de chaque population consiste à calculer plusieurs paramètres tels que:

- les F_{is} 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 divers facteurs comme 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

5.1. Analyse multidimensionnelle: distinction entre truites sauvages et domestiques



Le graphique montre clairement deux nuages (ellipses) dont l'un contient la totalité des truites domestiques (triangles bruns). Entre ces nuages, il n'y a pas de génotype intermédiaire (hybrides). Ceci est caractéristique de populations naturelles (méditerranéennes) non hybridées mais récemment repeuplées en truites domestiques (probablement moins de 3 ans). D'autre part, parce que les truites domestiques détectées ont pour longueur: 200mm en amont; 80,130,150 et 180 en intermédiaire et 240 en aval (voir annexe), on peut en déduire qu'il s'agit de plusieurs repeuplements.

5.2. Les pourcentages de chaque type

Si cette hypothèse est exacte, le taux de truites domestiques serait de $2/32$ à l'amont (=6,3%), $3/30$ en zone intermédiaire (=10%) et $1/31$ à l'aval (=3,2%).

Toutefois, parce qu'on ne peut pas éliminer totalement l'hypothèse d'introgessions (=hybridation avec hybride fertiles) anciennes, une seconde méthode de calcul consiste à déterminer les allèles diagnostiques des formes méditerranéennes et des formes atlantiques et de compter les allèles et non plus les individus.

Ainsi, par décompte des allèles caractéristiques de chacun des types, les propositions de formes domestiques atlantiques sont de 3,8% en amont, 8,4% en zone intermédiaire et 3,7% en aval. Il y a une distorsion en amont (6,3 à 3,8%) mais il faut reconnaître que la première méthode est grossière ($2/32$) alors que la seconde est plus précise ($9/239$).

5.3. Recherche de panmixie

La panmixie est la reproduction au hasard de toutes les truites analysées. Si l'échantillon est composé de truites sauvages et de truites domestiques, il ne peut pas y avoir panmixie puisque tous les individus analysés n'ont pas fait partie de la même reproduction.

Pour estimer la panmixie, nous utiliserons le paramètre F_{is} , approché par la méthode de Weir et Cockerham (1984), dont la significativité est estimée par permutations de 5000 matrices reproduisant la panmixie.

Les calculs indiquent que seule la station aval est en déséquilibre au niveau des 4 marqueurs. Les stations amont et intermédiaire sont globalement à l'équilibre panmictique même si un des 4 locus (SsoSL-31) est en déséquilibre à la station amont et un autre (Ssa197) à la station intermédiaire.

5.4. Recherche de différenciation, comparaison de richesse allélique

Peut-on cependant considérer que les trois stations peuvent être assimilées à une seule population homogène (en ce sens que même l'apport domestique est statistiquement homogène tout le long du cours d'eau)?

Pour cela, le paramètre F_{st} est estimé entre chaque paire d'échantillons, et la significativité de ces valeurs est estimée par 5000 permutations.

Les résultats montrent que seules les stations amont et aval sont significativement différentes, montrant par là qu'elles subissent des influences (des apports) différentes. On ne démontre pas de différence entre intermédiaire et amont ni entre intermédiaire et aval.

Le calcul de l'hétérozygotie (qui correspond à la diversité génétique d'un échantillon, ou richesse allélique) montre que la richesse augmente d'amont en aval (H_{exp} ou hétérozygotie calculée passe de 0,50 à 0,62 puis 0,70; H_o ou hétérozygotie directement observée passe de 0,50 à 0,63 puis 0,71. C'est ce qui est attendu lorsque des barrages permettant la dévalaison tronçonnent un cours d'eau.

5.5. Comparaison avec les truites de la Clarée et du Guil

Il ne s'agit pas de comparer l'impact des piscicultures mais la nature du peuplement naturel méditerranéen. Pour cela, quelques stations majoritairement méditerranéennes ont été sélectionnées dans chaque rivière, les truites déterminées comme introduites ou hybrides ont été retirées. Ont été choisies les stations Ville-Vieille pour le Guil et Jadis, Névache et Plampinet pour la Clarée.

Si on compare les stations appartenant au même cours d'eau, on voit, comme signalé plus haut, que les stations de la Biaysse :

FST	Bint	Baval	Guil-V	Clarée-J	Clarée-N	Clarée-P
Biaysse amont	<u>0,6%</u>	<u>11%</u>	<u>30%</u>	<u>24%</u>	<u>22%</u>	<u>23%</u>
Biaysse int.		<u>5%</u>	<u>20%</u>	<u>15%</u>	<u>15%</u>	<u>17%</u>
Biaysse aval			<u>14%</u>	<u>1%</u>	<u>2%</u>	<u>3%</u>
Guil Ville-Vieille				<u>20%</u>	<u>19%</u>	<u>24%</u>
Clarée Jadis					0%	0%
Clarée Névache						0%

Les comparaisons des stations analysées dans la Biaysse, le Guil et la Clarée (Clarée-P = station Plampinet) sont indiquées dans le tableau ci-dessus. Pour cela, le paramètre Fst a été établi entre les stations deux par deux et le résultat est en pourcentage de différenciation. Les valeurs soulignées sont significatives d'après 5000 permutations.

- Les comparaisons entre stations de la Biaysse (**bleu**) montrent que, même en retirant les truites introduites, seules les stations amont et intermédiaire sont homogènes. C'est donc la station aval qui introduit de la différence (influence de la Durance?).

- Les comparaisons entre les 3 stations de la Clarée (**noir**) montrent que ce cours d'eau est entièrement homogène.

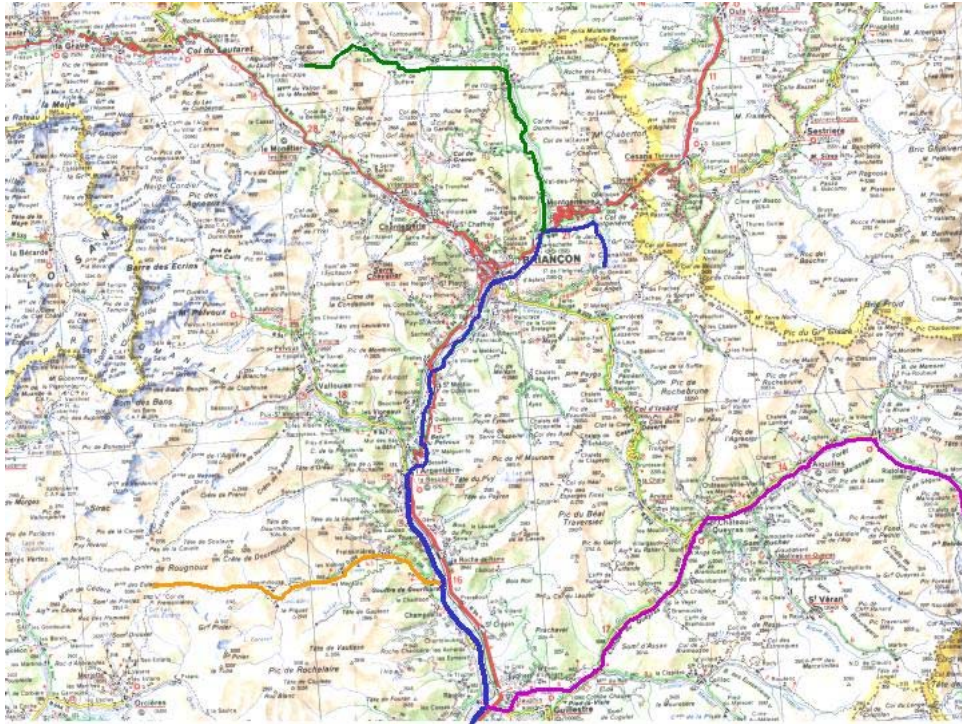
- L'opposition entre cours d'eau différents montre toujours une différence significative. La comparaison Biaysse-Guil (**rose**) donne une valeur moyenne de 21%; Biaysse-Clarée (**vert**) 19% si on exclut la comparaison des trois stations de la Clarée avec la Biaysse aval (2% non significatif, résultat difficile à expliquer); enfin la comparaison Guil-Clarée est toujours significative (**rouge**, 21%).

En conclusion de cette analyse, les trois cours d'eau comparés sont génétiquement différenciés, atteignant une valeur homogène de 19 à 21%, qui est généralement considérée comme élevée. C'est la marque d'une absence d'échanges entre eux, la Durance n'étant donc pas une voie de migration.

6. Discussion

Le cours de la Biaysse est caractérisé par plusieurs barrages empêchant les truites de remonter, mais autorisant leur dévalaison. Deux barrages sont situés entre les stations intermédiaire et aval. Il y a une libre circulation piscicole entre la zone intermédiaire et la zone amont, même si l'amont présente peu de zones intéressantes pour la reproduction qui s'effectue principalement dans la zone intermédiaire. L'amont de la Biaysse est en effet un torrent très froid, alimenté en partie par les glaciers - milieu très contraignant - où l'implantation des truites de pisciculture est sûrement très difficile. Dès la fonte des neiges ou un épisode de crue significatif, les truites domestiques sont éliminées. Ceci explique sans doute l'absence d'hybrides domestiques/sauvages: les truites domestiques ne peuvent pas participer à la reproduction naturelle.

D'autre part, l'aval se jette dans la Durance qui subit une gestion piscicole distincte. Tout ceci explique sans doute que la station aval se distingue des deux stations amont et intermédiaire, elles mêmes homogènes. Élément de satisfaction pour une gestion patrimoniale: la partie aval de la Biaysse, en contact direct avec la Durance, semble ne contenir quasiment que des truites méditerranéennes (entre 3 et 4% de présence domestique) alors que la Durance est intensément alevinée. Cette zone aval est sûrement plus influencée par la Durance que par l'amont de la Biaysse. C'est cohérent avec la différence génétique aval vis à vis de amont et intermédiaire.



Sur cette carte, le long de la Durance (en bleu) et d'amont (haut) en aval, sont positionnées la Clarée (en vert), la Biaysse (en orange) et le Guil (en violet)

Comment la Durance influence-t-elle l'aval de la Biaysse? Les choses ne sont pas simples.

Il y a d'abord un écart à la panmixie, qui ne semble pas dû aux truites de pisciculture, peu nombreuses. On peut émettre l'hypothèse d'un mélange entre truites méditerranéennes de la Biaysse et de la Durance.

Ensuite, il ne semble pas que cette influence passe par les truites domestiques probablement nombreuses dans la Durance: il y a en effet très peu de truites domestiques dans la Biaysse aval (entre 3 et 4%, uniquement des truites nées en pisciculture, pas d'hybride). Ce serait donc le type méditerranéen de la Durance, différencié, qui pénétrerait l'aval de la Biaysse.

Le peuplement méditerranéen est contrasté dans cette zone montagneuse favorisant l'isolement: des différences de l'ordre de 20% de Fst séparent Biaysse, Guil et Clarée. Les fortes différences écologiques entre ces cours d'eau expliquent en partie la différenciation génétique. Une analyse du peuplement de la Durance confirmerait cette hypothèse.

Une autre observation permet de proposer une autre hypothèse: le tableau des pourcentages de Fst montre que la Biaysse aval n'est pas génétiquement différente de la Clarée. Il est possible que l'on ait une homogénéité entre les peuplements sauvages de la Clarée, de la Durance et de l'aval de la Biaysse. Ceci mérite confirmation.

Du point de vue de l'impact des repeuplements en truites domestiques d'origine pisciculture: nous comptons, d'amont en aval, 4, 8 puis 4% d'introggression. La Biaysse est régulièrement alevinée mais en faible quantité. Les zones amont et intermédiaire, facile d'accès et avec de

nombreux petits affluents, ont été aleviné prioritairement chaque année (alevins de printemps et "surdensitaires") et même au printemps 2007 avec des stades à resorption de vésicule. La partie aval n'est pas repeuplée mais en contact avec la Durance qui l'est régulièrement.

D'autre part, les échantillons analysés ici (août 2007) ont été prélevés 6 mois après une crue très importante qui a profondément bouleversé le milieu (proche de la centennale en octobre 2006). Ce genre de crue est défavorable aux truites nées en pisciculture. Quelques truites de pisciculture y ont donc résisté. Le fait qu'il n'y ait pas d'hybride démontre la difficulté d'implantation des souches domestiques dans des milieux aussi contraignants (beaucoup plus que la Clarée ou le Guil qui eux, présentent des hybrides).

Enfin, du point de vue gestion, les choses sont très simples: les truites domestiques ne s'implantent pas dans toutes les zones étudiées de la Biaysse. Toute introduction est donc parfaitement inutile, à l'exception des surdensitaires rapidement pêchées à l'ouverture.

Fait à Montpellier le 26 décembre 2007
avec l'aide des connaissances de terrain de David Doucende

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

n° lab.	n° terr.	localité	Mst85	Ssa197	SsoSL-311	Oneµ9	type
T11492	1	Byaisse (aval)	161163	123123	134136	201201	méditerranéenne
T11493	2	Byaisse (aval)	159159	127127	130134	199199	méditerranéenne
T11494	3	Byaisse (aval)	163163	123131	134134	197201	méditerranéenne
T11495	4	Byaisse (aval)	159159	127127	128128	199201	méditerranéenne
T11496	5	Byaisse (aval)	159163	127127	128136	197199	méditerranéenne
T11497	6	Byaisse (aval)	167175	123127	128156	199201	pisciculture
T11498	7	Byaisse (aval)	161163	123127	136136	197201	méditerranéenne
T11499	8	Byaisse (aval)	159159	127127	136136	199199	méditerranéenne
T11500	9	Byaisse (aval)	159159	127131	128130	197199	méditerranéenne
T11501	10	Byaisse (aval)	159159	139139	128136	197199	méditerranéenne
T11502	11	Byaisse (aval)	161161	123131	136136	199201	méditerranéenne
T11503	12	Byaisse (aval)	159161	139139	134138	197201	méditerranéenne
T11504	13	Byaisse (aval)	163163	123123	134152	201201	méditerranéenne
T11505	15	Byaisse (aval)	159159	119127	128136	197197	méditerranéenne
T11506	16	Byaisse (aval)	163163	119131	128128	197201	méditerranéenne
T11507	17	Byaisse (aval)	163163	123123	128128	201201	méditerranéenne
T11508	18	Byaisse (aval)	159159	0	130134	199201	méditerranéenne
T11509	19	Byaisse (aval)	163163	127127	134134	199199	méditerranéenne
T11510	20	Byaisse (aval)	163163	123131	130136	201201	méditerranéenne
T11511	21	Byaisse (aval)	159163	127135	130134	199199	méditerranéenne
T11512	22	Byaisse (aval)	161161	123123	130136	199199	méditerranéenne
T11513	23	Byaisse (aval)	161161	127127	130136	197199	méditerranéenne
T11514	24	Byaisse (aval)	161163	131131	128130	197201	méditerranéenne
T11515	25	Byaisse (aval)	0	131131	0	197201	méditerranéenne
T11516	26	Byaisse (aval)	159163	123131	128136	201201	méditerranéenne
T11517	27	Byaisse (aval)	159159	119127	128128	199199	méditerranéenne
T11518	28	Byaisse (aval)	159163	127127	134138	201203	méditerranéenne
T11519	29	Byaisse (aval)	159161	123127	128128	201201	méditerranéenne
T11520	30	Byaisse (aval)	161163	127127	128130	199201	méditerranéenne
T11521	31	Byaisse (aval)	159163	131131	128128	201201	méditerranéenne
T11522	32	Byaisse (aval)	163163	123131	128136	201201	méditerranéenne
T11523	1	Byaisse (interm)	159163	123135	128128	201201	méditerranéenne
T11524	2	Byaisse (interm)	161163	127127	128152	201203	méditerranéenne
T11525	3	Byaisse (interm)	163163	127127	134136	201201	méditerranéenne
T11526	4	Byaisse (interm)	159161	123123	130136	201201	méditerranéenne
T11527	5	Byaisse (interm)	161163	135135	128134	201201	méditerranéenne
T11528	6	Byaisse (interm)	0	123131	136136	201201	méditerranéenne
T11529	7	Byaisse (interm)	161163	123123	128136	197201	méditerranéenne
T11530	8	Byaisse (interm)	159163	123123	128134	201201	méditerranéenne
T11531	9	Byaisse (interm)	161163	131131	142148	199201	pisciculture
T11532	10	Byaisse (interm)	161163	123123	128134	201201	méditerranéenne
T11533	11	Byaisse (interm)	159163	131127	128128	201201	méditerranéenne
T11534	12	Byaisse (interm)	161163	131131	128128	201201	méditerranéenne
T11535	13	Byaisse (interm)	163163	127127	128128	197199	méditerranéenne
T11538	15	Byaisse (interm)	161163	127131	136140	199201	méditerranéenne
T11539	16	Byaisse (interm)	161163	123123	128134	201203	méditerranéenne
T11540	17	Byaisse (interm)	159163	123123	128136	201201	méditerranéenne
T11541	18	Byaisse (interm)	147173	135139	130156	199201	pisciculture

n° lab.	n° terr.	localité	Mst85	Ssa197	SsoSL-311	Oneµ9	type
T11542	19	Byaisse (interm)	161163	131131	128136	201201	méditerranéenne
T11543	20	Byaisse (interm)	147167	123131	128148	201201	pisciculture
T11544	21	Byaisse (interm)	147163	123127	130140	199201	méditerranéenne
T11545	22	Byaisse (interm)	163163	123127	134150	197199	méditerranéenne
T11546	23	Byaisse (interm)	159159	123131	128130	201201	méditerranéenne
T11547	24	Byaisse (interm)	159163	123123	128190	199201	méditerranéenne
T11548	25	Byaisse (interm)	163163	123123	134142	199201	méditerranéenne
T11549	26	Byaisse (interm)	161163	123123	128134	201201	méditerranéenne
T11550	27	Byaisse (interm)	159163	123123	128136	201201	méditerranéenne
T11551	28	Byaisse (interm)	163167	131135	128152	201201	pisciculture
T11552	29	Byaisse (interm)	163163	127127	128136	201201	méditerranéenne
T11553	30	Byaisse (interm)	0	123131	128134	201201	méditerranéenne
T11554	31	Byaisse (interm)	163167	123123	134136	201201	méditerranéenne
T11555	1	Byaisse (amont)	163163	123123	128134	201201	méditerranéenne
T11556	2	Byaisse (amont)	161167	123123	128128	197201	méditerranéenne
T11557	3	Byaisse (amont)	161163	123127	128128	201201	méditerranéenne
T11558	4	Byaisse (amont)	147163	123127	128136	201201	méditerranéenne
T11559	5	Byaisse (amont)	163163	123123	128128	201201	méditerranéenne
T11560	6	Byaisse (amont)	147163	123131	136136	197201	méditerranéenne
T11561	7	Byaisse (amont)	161163	123123	130134	201201	méditerranéenne
T11562	8	Byaisse (amont)	161161	123123	128136	201201	méditerranéenne
T11563	9	Byaisse (amont)	163163	127127	128128	201201	méditerranéenne
T11564	10	Byaisse (amont)	159173	123127	128182	201203	méditerranéenne
T11565	11	Byaisse (amont)	159163	123123	128136	201201	méditerranéenne
T11566	12	Byaisse (amont)	161163	123123	128128	201201	méditerranéenne
T11567	13	Byaisse (amont)	161163	123127	136140	201201	méditerranéenne
T11568	14	Byaisse (amont)	159163	127127	136136	199201	méditerranéenne
T11569	15	Byaisse (amont)	161163	123123	128128	201201	méditerranéenne
T11570	16	Byaisse (amont)	163163	127127	136136	201201	méditerranéenne
T11571	17	Byaisse (amont)	161163	123127	128128	201201	méditerranéenne
T11572	18	Byaisse (amont)	159159	123123	128128	201201	méditerranéenne
T11573	19	Byaisse (amont)	159163	123123	128136	201201	méditerranéenne
T11574	20	Byaisse (amont)	159163	127131	134138	201201	méditerranéenne
T11575	21	Byaisse (amont)	163167	123131	134138	199201	méditerranéenne
T11576	22	Byaisse (amont)	159161	123123	128136	201201	méditerranéenne
T11577	23	Byaisse (amont)	159163	123123	128128	201201	méditerranéenne
T11578	24	Byaisse (amont)	163167	0	128136	201201	méditerranéenne
T11579	25	Byaisse (amont)	159161	123131	128132	201201	méditerranéenne
T11580	26	Byaisse (amont)	159163	123123	128128	201201	méditerranéenne
T11581	27	Byaisse (amont)	159163	123123	128134	201201	méditerranéenne
T11582	28	Byaisse (amont)	159161	123123	128136	201201	méditerranéenne
T11583	29	Byaisse (amont)	163163	123131	128136	201201	méditerranéenne
T11584	30	Byaisse (amont)	147173	123131	142142	201207	pisciculture
T11585	31	Byaisse (amont)	161163	123123	128128	201201	méditerranéenne
T11586	32	Byaisse (amont)	159163	123131	136136	201201	méditerranéenne