

Etude génétique des truites fario sur quinze stations du département de l'Ardèche

Rapport final - Novembre 2006



truite du Sumène (type méditerranéen particulier)



truite du Nant (type méditerranéen dominant Ardèche)



truite de Loire amont (type atlantique sauvage)

© photos: Fédération de Pêche de l'Ardèche



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

1. Introduction

Le département de l'Ardèche pratique, depuis 2001, la gestion patrimoniale, sur les secteurs déterminés dans le PDPG, comme salmonicoles conformes. Cependant, dans le passé, les déversements massifs, pratiqués au niveau départemental, ont pu influencer les populations de truites autochtones présentes et des "résidus" génétiques sont probablement encore décelables.

En 2005, la Fédération de Pêche a souhaité connaître l'état qualitatif des populations de truites fario. L'étude génétique qui fait l'objet de ce rapport a pour but principal de décrire l'état actuel du cheptel de truites afin de juger de l'efficacité des introductions passées de poissons (alevins, boîtes Vibert, surdensitaires, ...) et de leur impact sur les truites autochtones. Par le terme introductions, il est entendu celles qui ont eu lieu dans le passé et qui pourraient se poursuivre à l'heure actuelle. Ces éléments sont essentiels pour une gestion raisonnée.

Ces données de bases obtenues, plusieurs objectifs supplémentaires pourront être développées en collaboration entre laboratoire scientifique et gestionnaires des rivières:

- définir les stratégies de gestion à mettre en œuvre, en particulier pour la mise en place des Plans Locaux de Gestion qui doivent être réalisés par les AAPPMA mais aussi en ce qui concerne la définition d'actions réglementaires (Arrêté de Biotope, ...),

- sensibiliser le monde de la pêche et des collectivités sur l'intérêt des lignées autochtones, tant sur le plan écologique (car elles présentent des caractères mieux adaptés au milieu dans lequel elles vivent) et patrimonial (il est probable que certaines souches ne se rencontrent qu'en Ardèche et sont sans doute propres à certaines rivières) que sur le plan halieutique. Ce dernier point est à rapprocher du travail en cours à la Fédération de Pêche de l'Ardèche qui tend à promouvoir une pêche de loisir « de qualité » sur le département.

Quinze stations ont fait l'objet d'échantillonnage (voir, page suivante, la carte réalisée par la Fédération de Pêche de l'Ardèche) :

Stations du bassin méditerranéen

- Cance
- Nant
- Doux, Sumène
- Eyrieux, Dorne, Glueyre, Eysse
- Ardèche amont, Besorgues, Borne, Lignon

Stations du bassin atlantique

- Loire amont, Gage
- Liauron

Ces 15 stations ont été échantillonnées de juin à septembre 2006 et les prélèvements de nageoire fixés dans l'alcool sont arrivés au laboratoire en 3 envois.

Depuis le développement des analyses de l'ADN, il n'est plus nécessaire de sacrifier les animaux analysés comme c'était le cas jusqu'en 2000 avec la méthode des allozymes. Cependant, ayant besoin de références purement méditerranéennes ou purement atlantiques pour calibrer leurs études, les laboratoires se basent sur des échantillons d'avant 2000, analysés avec des allozymes, comme c'est le cas de quelques références de cette étude.

Génétiques des populations de truite Fario en 2006 en Ardèche

Relevés génétiques TRF

- ★ Stations de relevés

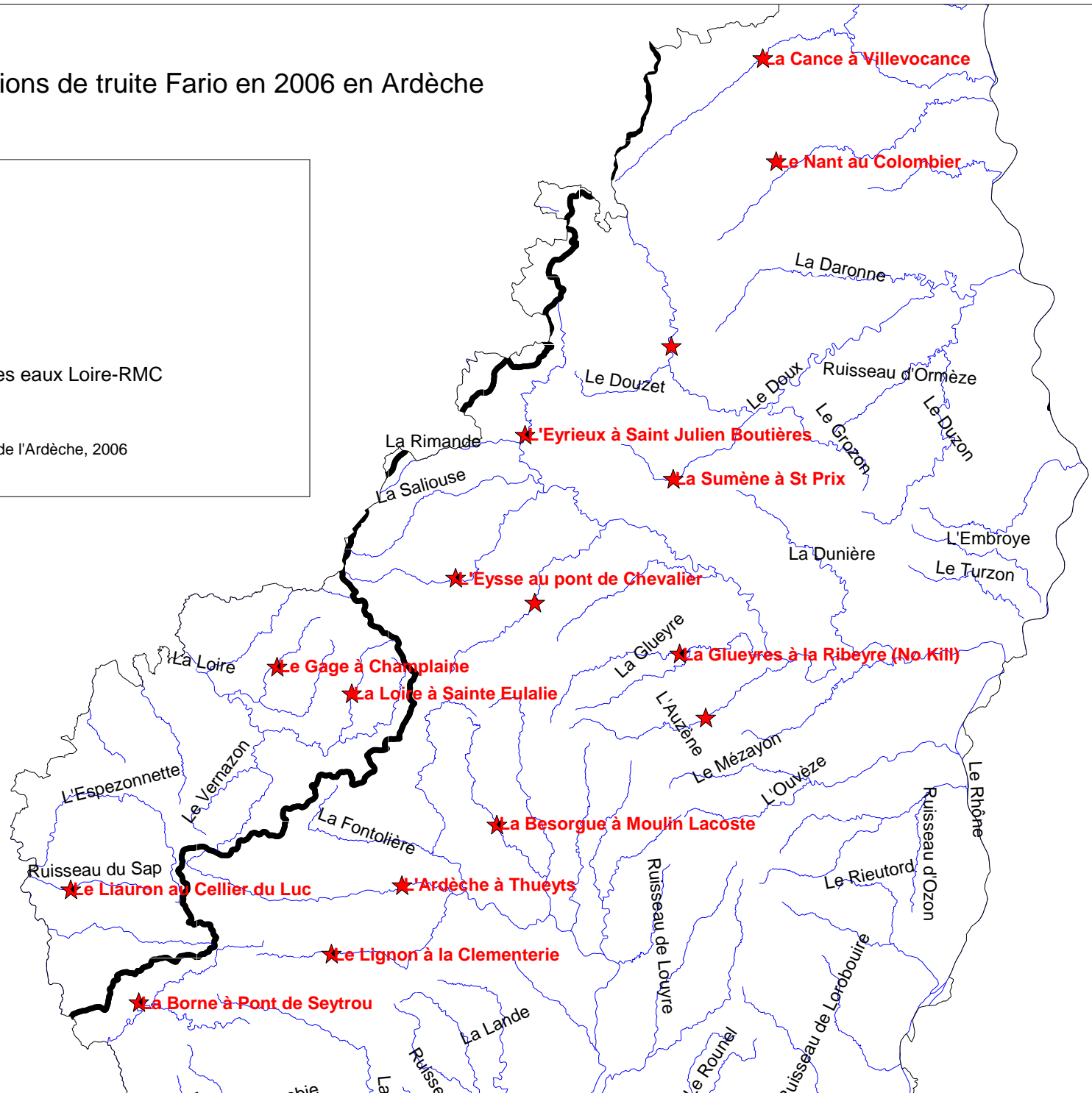
Cours d'eau

- Rivières principales

Limite de bassin

- ▭ Limite de partage des eaux Loire-RMC

Source : BdCarthage, 2003
Réalisation : Fédération de Pêche de l'Ardèche, 2006



Les marqueurs génétiques choisis sont les microsatellites, zones répétées et très polymorphes de l'ADN nucléaire (celui des chromosomes). Ces marqueurs moléculaires, peuvent être considérés comme des analogues chimiques de la couleur des cheveux ou des yeux chez les humains. Leurs diverses formes, appelées allèles, correspondant à des séquences différentes de l'ADN, proviennent de l'addition, lors de la reproduction, d'un allèle du père et d'un allèle de la mère, donnant un génotype à deux allèles. Ces allèles sont donc héréditaires. Ce sont ces allèles des gènes de microsatellites, qui sont analysés, comptés, comparés.

D'un point de vue statistique, la méthode principalement utilisée est l'Analyse Factorielle des Correspondances (AFC). Cette analyse multidimensionnelle est très pratique pour placer chaque truite (sous forme de point) dans un hyperespace en fonction de toutes ses caractéristiques génétiques (ses allèles) simultanément. Cet hyperespace est ramené à des plans à deux dimensions pour être utilisable dans un texte, mais plusieurs plans peuvent être choisis.

Le présent rapport va décrire la cascade d'analyses qui permettent d'aboutir à une estimation du taux de mélange génétique des échantillons pris en compte. Ces taux de mélange (ou d'introgression génétique) sont issus du classement des allèles par les AFC en tant que marqueurs des diverses formes de truites en présence (atlantique naturelle de Loire, atlantique domestique de pisciculture, méditerranéenne de référence allozymique, diverses formes méditerranéennes naturelles). Le décompte des allèles marqueurs des diverses formes aboutit au pourcentage attribué à chaque forme dans chaque échantillon. Ces échantillons sont considérés comme représentatifs des habitants de la rivière prise en compte. Le nombre d'informations élémentaires obtenues pour décrire chaque population, pour un échantillon type de 30 truites, est égal à 30 truites x 5 marqueurs x 2 allèles par génotype, soit 300 points d'analyse par échantillon. Ceci permet une grande précision dans les estimations.

2. Analyse globale

L'analyse globale mêle deux phénomènes : la différenciation entre truites atlantiques et méditerranéennes et la différenciation à l'intérieur de chacun de ces groupes. L'échelle de différenciation est en principe différente. Cependant, cette analyse permet de tracer les premiers grands traits de la diversité des truites du département de l'Ardèche.

Ces deux échelles nécessitent d'observer la même analyse multidimensionnelle selon deux plans (Figures 1 et 2). Le premier plan formé par les axes 1 et 2 décrit la différenciation Atlantique-Méditerranée, mais aussi la différenciation pisciculture-Loire, le second plan (axes 1 et 3) décrit la différenciation Atlantique-Méditerranée et la diversité entre stations méditerranéennes (particularités des stations Sumène et Glueyre).

Ces figures décrivent déjà les grandes entités génétiques présentes dans le département ainsi que les cas particuliers que constituent les échantillons Sumène et Glueyre (et Bésorgues dans une moindre mesure). Ceci sera détaillé plus bas.

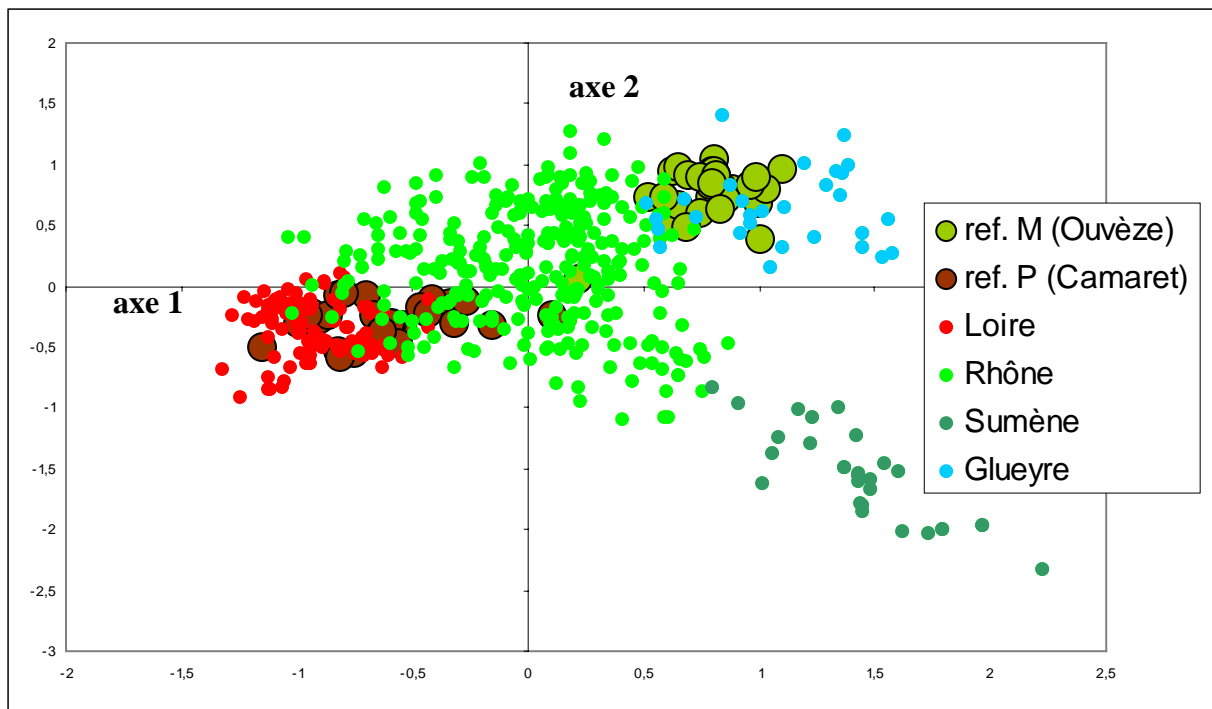


Figure 1: Cette figure (plan 1 de l'AFC) montre que la structure la plus forte est constituée par la différenciation entre formes atlantiques et méditerranéennes (le long de l'axe 1, le plus informatif) et que la seconde structure, par ordre d'importance, est la différenciation entre stations méditerranéennes (le long de l'axe 2 avec Sumène et Glueyre aux extrêmes). Ouvèze (Drôme) et pisciculture de Camaret (Vaucluse) ont été choisis comme références respectivement des truites méditerranéennes et domestiques atlantiques. Ces échantillons ont été tirés de la collection du laboratoire.

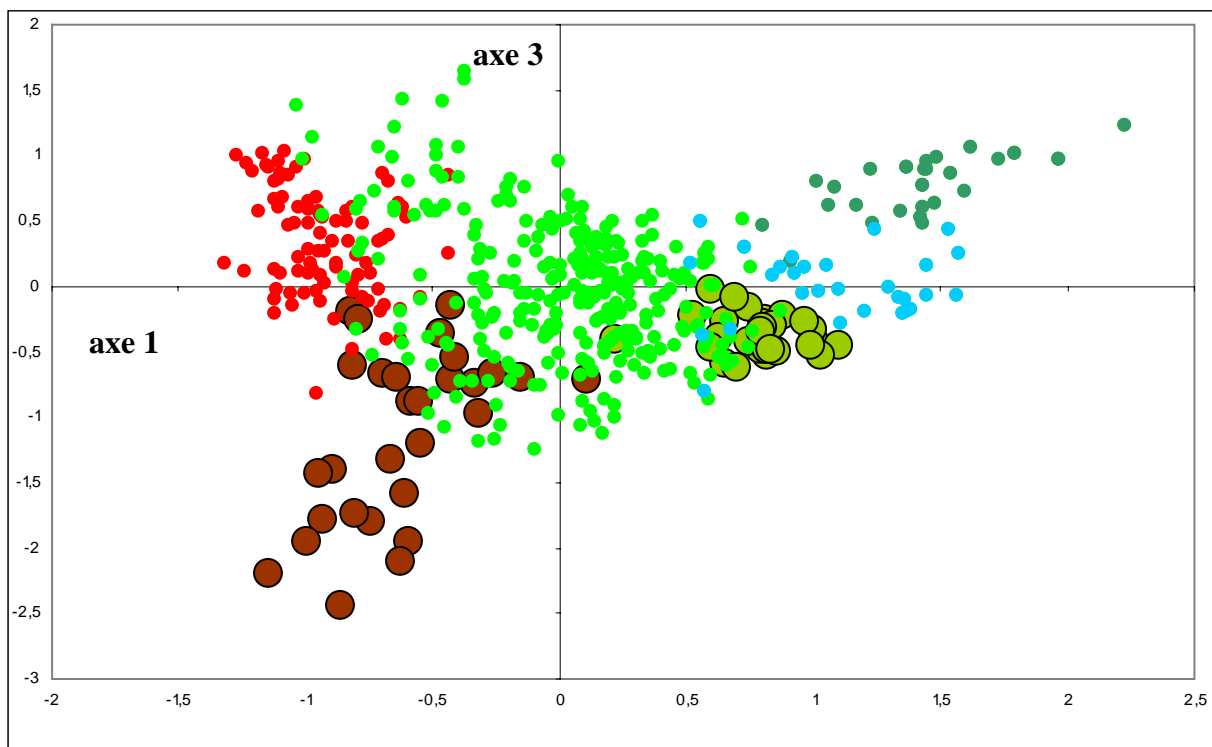


Figure 2: Sur ce second plan (mêmes couleurs que dans la figure précédente) on observe en plus la différenciation entre les truites atlantiques sauvages et domestiques (brun et rouge).

3. Analyse des stations atlantiques

L'analyse des seules stations du bassin de la Loire permet de clairement différencier les truites atlantiques naturelles (stations Gage, Liauron et Loire) des truites de pisciculture (une pisciculture près de la Sorgue: celle de Camaret).

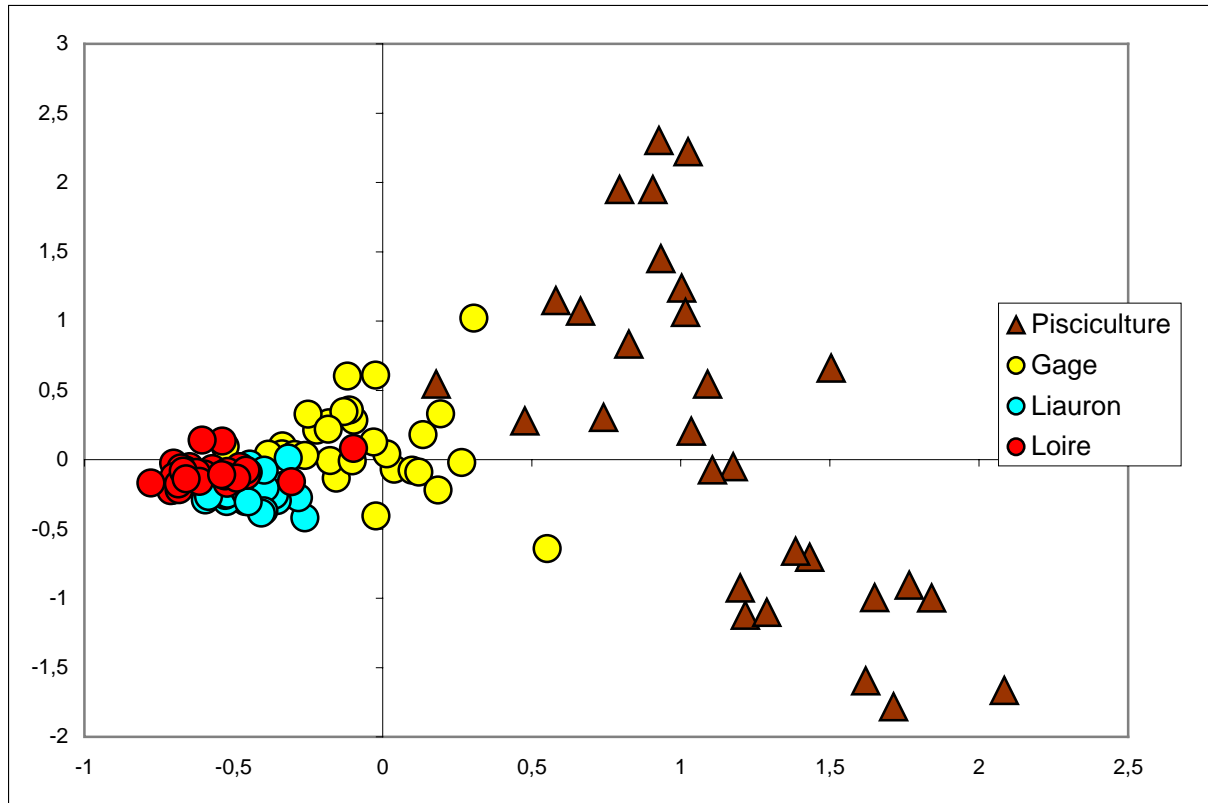


Figure 3: Quand on n'analyse que les stations du bassin de la Loire, on distingue nettement à gauche les échantillons naturels peu polymorphes (donc réduits à de petites surfaces sur ce diagramme) de l'échantillon de pisciculture très polymorphe (triangles à droite). On distingue également l'impact variable de ces formes domestiques dans la nature: aucun dans l'échantillon Loire, net dans l'échantillon Gage.

4. Analyse des stations méditerranéennes

Ces analyses ont été complexes pour deux raisons: le laboratoire de Montpellier ne possède pas d'échantillons ardéchois de référence purement méditerranéen défini lors d'études antérieures (études par allozymes par exemple). Les seuls échantillons de collections sont l'Ouvèze (Drôme, affluent gauche du Rhône) légèrement distinct de la souche commune de l'Ardèche, la Sorgue génétiquement nettement différente et le Var, encore plus différent. La polarisation des analyses se fera donc entre un échantillon de pisciculture et un échantillon de la Drôme.

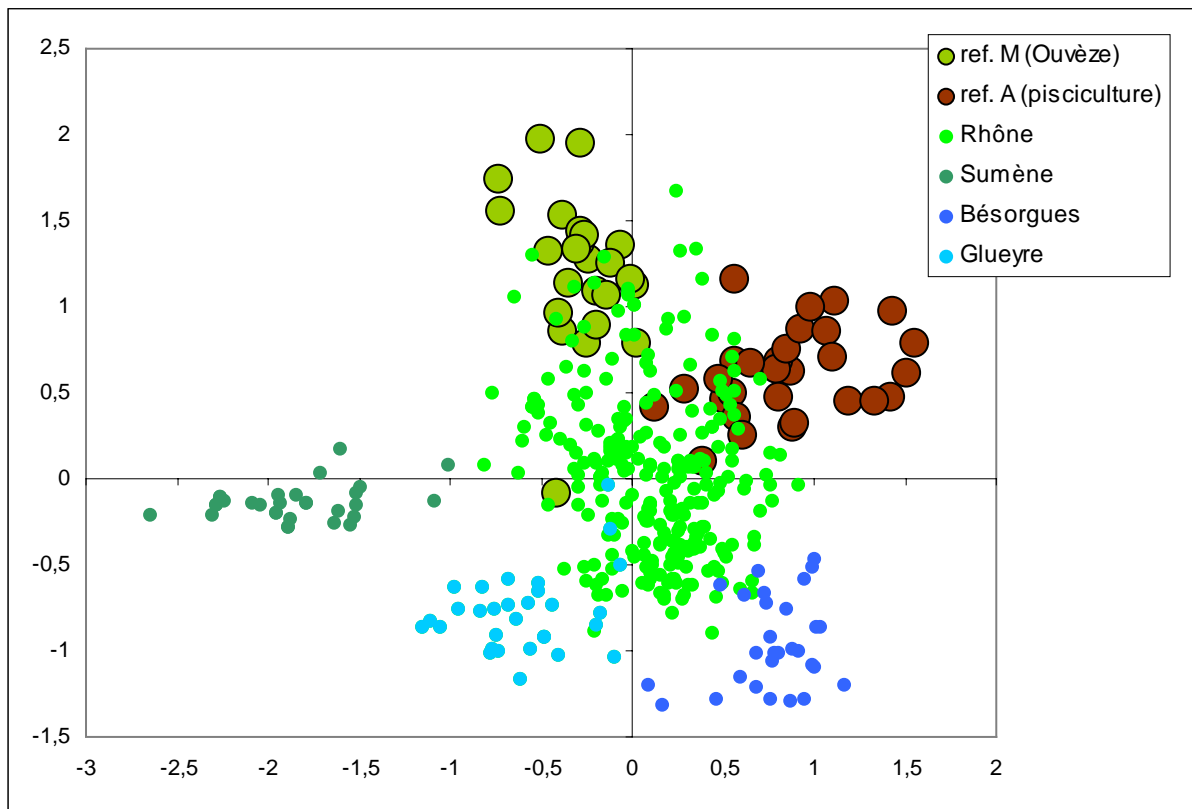


Figure 4: L'analyse de tous les échantillons méditerranéens du département montrent immédiatement que les stations Sumène, Glueyre et dans une moindre mesure Bésorgues sont différentes des autres peuplements méditerranéens. En dehors de ces échantillons particuliers, tous les autres constituent la souche Ardèche dominante (pas seulement dans le sous-bassin de l'Ardèche) et appelés ici "Rhône".

Le mode de construction des AFC fait que la discrimination Méditerranée-pisciculture qui nous intéresse est mal décrite dans la figure 4. Pour résoudre cette difficulté, il faut retirer les échantillons remarquables (Sumène, Bésorgues et Glueyre) pour favoriser la description de la souche Ardèche dominante (souche Ardèche fait référence à l'ensemble des cours d'eau méditerranéens du département de l'Ardèche), et appelée ici "Rhône", en vert vif dans les figures.

Pour cela, en AFC, il est possible de refaire l'analyse sans retirer ces échantillons remarquables mais en construisant un hyper-espace qui ne tienne pas compte d'eux. C'est la souche Ardèche et son opposition à la truite domestique qui sert à dessiner le "fond de carte", et sur cette carte génétique sont placés les individus des souches remarquables dits "éléments supplémentaires".

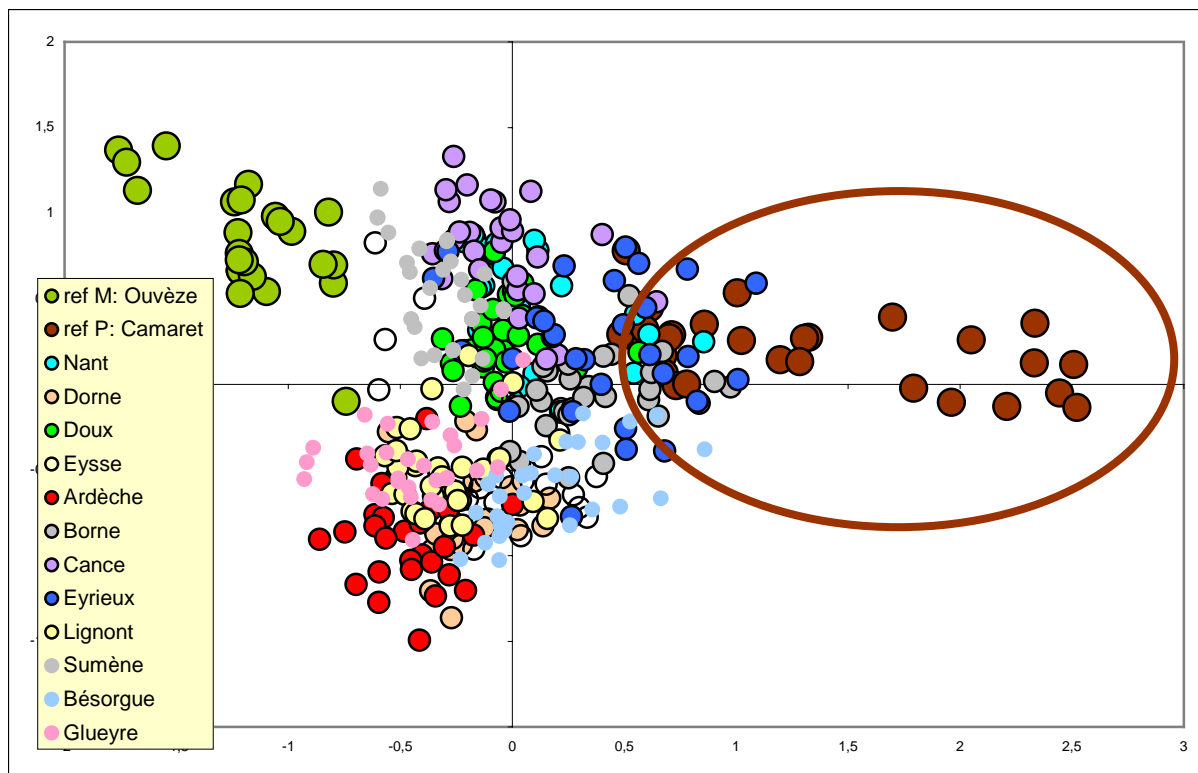


Figure 5: C'est en plaçant les trois stations particulières en "éléments supplémentaires" (elles figurent dans l'analyse mais n'influent plus sur la constitution des axes) que la polarisation Méditerranéenne - pisciculture est obtenue, rendant possible le calcul d'introgression des truites de piscicultures dans les peuplements naturels. Apparaissent clairement dans l'ellipse "pisciculture" les poissons naturels influencés par les repeuplements.

5. Estimations chiffrées

Il n'existe aucune référence disant que tel ou tel allèle est atlantique, méditerranéen ou de pisciculture. Il s'agit là de recherche proprement dite, dépendant entièrement des échantillons de référence employés.

La méthode d'estimation employée passe par trois étapes:

- par AFC, on définit les grandes entités jouant un rôle dans la structure génétique des échantillons analysés et on les définit en fonction de références que possède le laboratoire. Ce travail d'expertise est le plus délicat et le plus risqué, caractéristique des capacités d'un laboratoire ou d'un chercheur.
- une fois les AFC caractérisées et polarisées, une étape non détaillée ici consiste à attribuer à chaque allèle (= unité d'information) un statut. Ainsi certains allèles ont été considérés comme marqueurs de truites de pisciculture, d'autres de truites atlantiques sauvages, d'autres de truites méditerranéennes.... et d'autres, partagés entre plusieurs formes ont été considérés comme mauvais marqueurs et non utilisés
- suit un simple décompte des allèles de chaque type dans chaque échantillon, ramené à des pourcentages.

Le tableau ci dessous récapitule ces résultats. Les valeurs de 1 à 3% sont considérées comme du bruit de fond et donc négligeables.

	% allèles méditerranéens sauvages	% allèles atlantiques sauvages	% allèles atlantiques pisciculture
Nant	94 à 96	0	4 à 6
Sumène	100	0	0
Dorne	99	0	1
Doux	99	0	1
Eysse	96 à 97	0	3 à 4
Ardèche a.	100	0	0
Bésorgues	89 à 92	0	8 à 11
Borne	89 à 91	0	9 à 11
Cance	97 à 98	0	2 à 3
Eyrieux	87 à 90	0	10 à 13
Glueyre	98	0	2
Lignon	98	0	2
Gage	0	76	24
Liauron	0	99	1
Loire	0	95	5

Tableau 1: Récapitulatif des estimations d'introgression. On peut considérer que jusqu'à 3%, il s'agit d'un "bruit de fond" et qu'une station à 97% méditerranéenne est "purement méditerranéenne"

Que ce soit en zone atlantique ou en zone méditerranéenne, aucune logique géographique n'est décelable dans le taux d'introgression de la forme domestique. Ceci est caractéristique des conséquences des repeuplements passés: le taux actuel d'introgression dépend essentiellement de l'effort de repeuplement, hétérogène, que l'homme a fourni, beaucoup plus que d'éventuelles différences dans la "résistance" des populations autochtones. Ainsi, des stations très proches présentent des différences importantes d'introgression: par exemple, en bassin méditerranéen, Eyrieux et Eysse et en bassin atlantique Gage et Loire.

6. Repeuplements récents?

Une des observations remarquables de cette analyse est l'écart important d'introgression entre stations proches.

Ainsi, la station du Gage, en bassin atlantique, présente 24% de présence domestique contre 5% en Loire amont, à quelques kilomètres de là. On peut se demander si il s'agit de déversements récents. Pour cela, plusieurs méthodes peuvent être employées:

6.1. Recherche de classe d'âge plus introgressée.

Si il a eu déversement récent (éventuellement appelé à disparaître du fait de la survie généralement médiocre des truites déversées), on devrait observer une différence d'introgression en fonction de l'âge (ou de la taille) des poissons. L'estimation d'introgression a donc été recalculée, sur l'échantillon Gage, entre truites de moins et de plus de 1 an et demi. La figure 6 ci-dessous donne la taille approximative de passage entre les classes 0+, 1+ et 2+.

Nous ne nous intéressons qu'à la distinction entre les deux premières classes cumulées et la troisième (la première classe a un effectif trop faible dans notre échantillon de Gage). Ainsi, l'introgression pour les truites de moins de 160 mm est de 25%. L'introgression des truites de 161 à 230 mm est de 23% d'introgression. Il n'y a donc pas de réelle différence d'introgression par rapport à la taille, il est probable que ce soit un phénomène de fond et non un déversement récent.

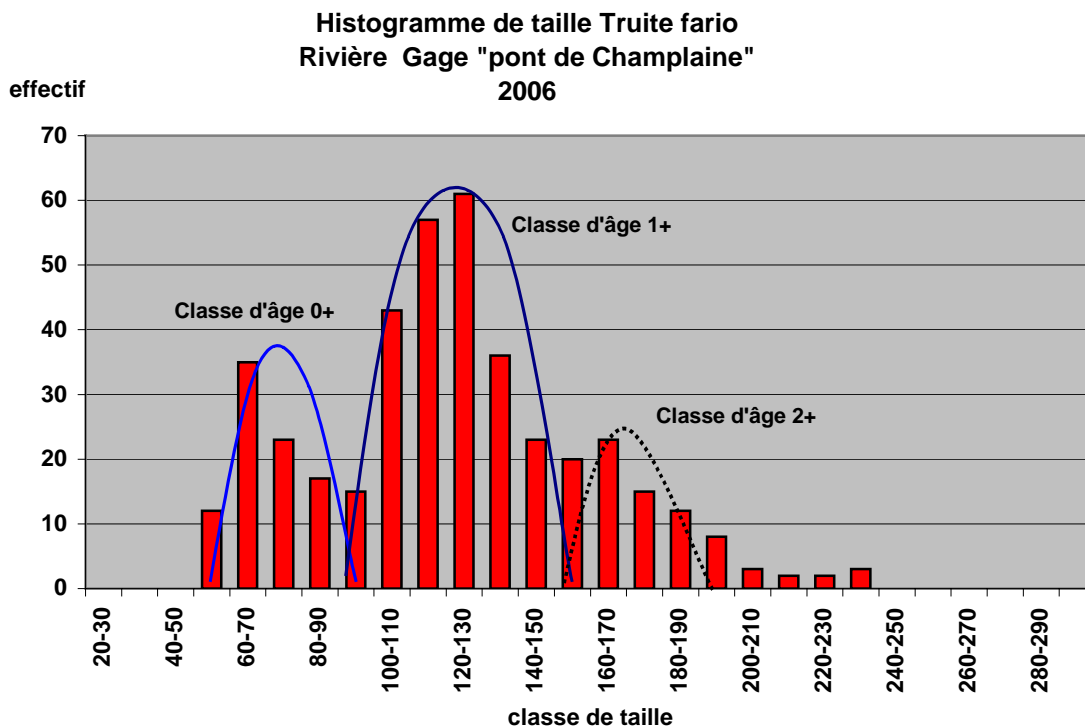


Figure 6: Les limites approximatives entre classes de taille d'un peuplement peuvent s'établir en recherchant les différents "modes" susceptibles de correspondre à ces classes. La structure nettement trimodale de l'histogramme de taille de l'échantillon Gage permet de proposer 90mm et 160mm comme bornes de taille entre 0+ et 1+ puis entre 1+ et 2+ respectivement (schéma réalisé par la Fédération de Pêche de l'Ardèche).

6.2. Présence de deux sous-unités dans un échantillon

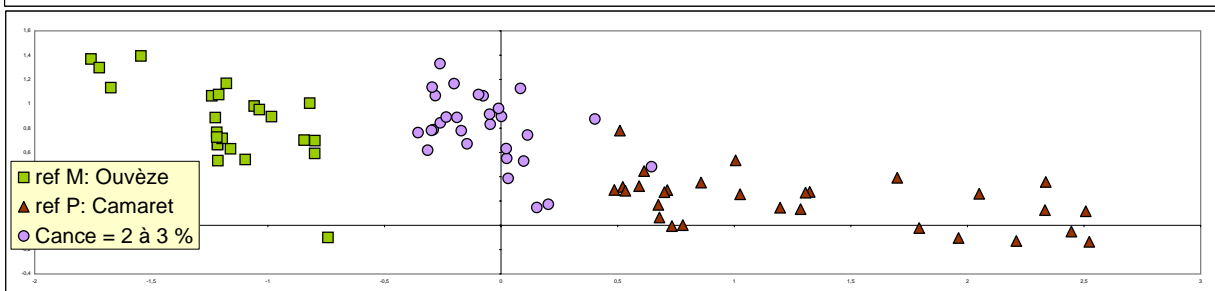
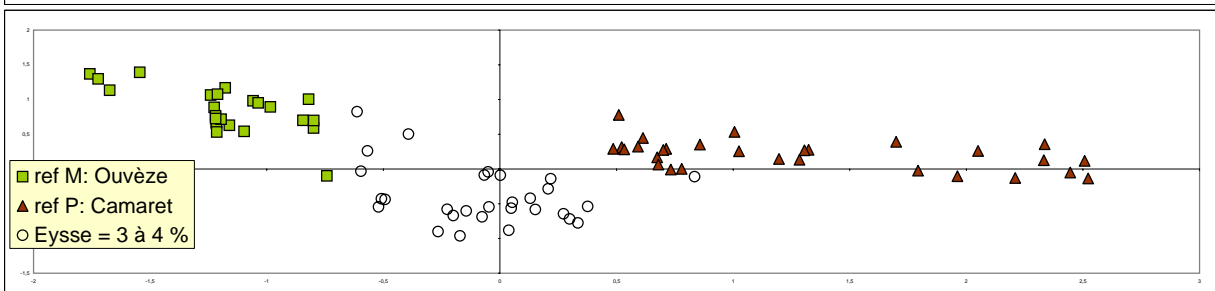
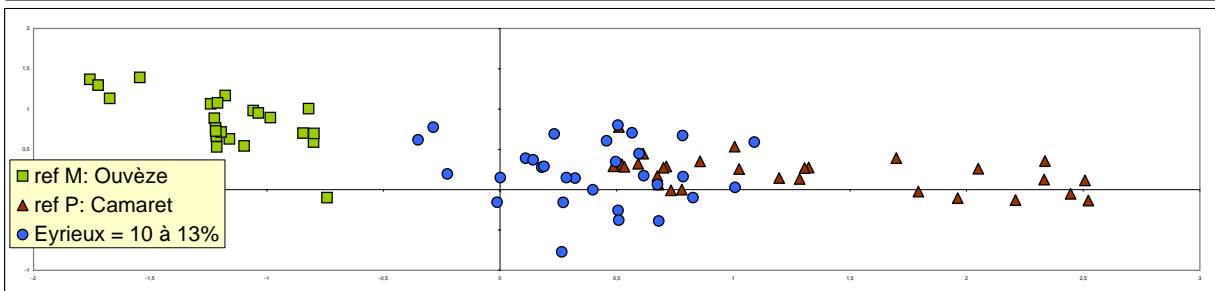
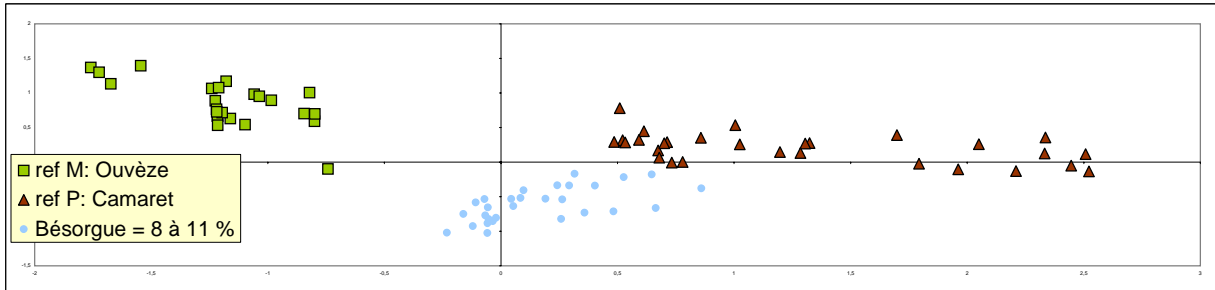
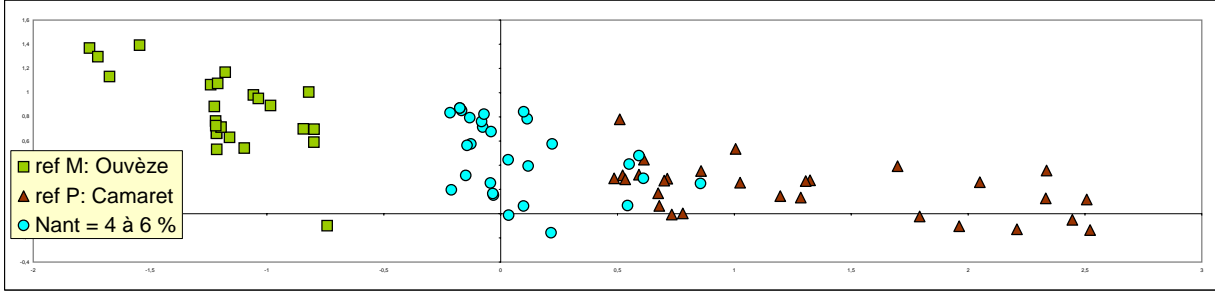
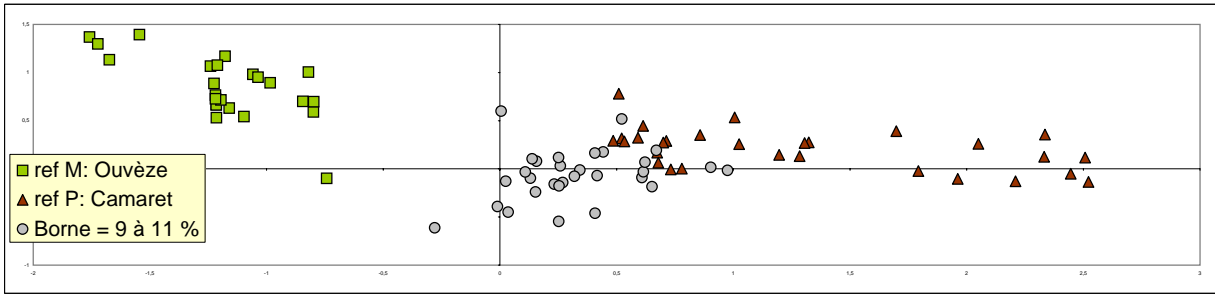
Ce qu'on observe généralement quand un échantillon comprend des truites déversées récemment, c'est à dire nées en pisciculture, ce sont, en AFC, des sous-groupes distincts. Les figures de la page suivante détaillent une à une les 6 stations les plus introgressées par les truites de pisciculture.

L'exercice consiste à repérer les sous-unités.

Les échantillons Bésorgues, Eyrieux et Cance forment des nuages homogènes s'étirant de la zone méditerranéenne à gauche à la zone atlantique à droite. Ces peuplements ont très certainement subi des repeuplements, mais suffisamment ancien pour que cet apport soit homogénéisé et partagé par presque toutes les truites.

Cette observation peut également être faite dans le bassin de la Loire pour l'échantillon Gage (Figure 3), confirmant la conclusion du chapitre 6.1.

L'échantillon Nant semble moins homogène et comporter un groupe de truites (ici 5 soit 17%) qui se placent en zone atlantique du graphique avec un espace qui les sépare des autres, méditerranéennes. Il en est de même pour Eysse, mais cela concerne une seule truite soit 3%. Ces deux localités ont possiblement subi un déversement récent.



6.3. Recherche de déséquilibres panmictiques

La panmixie est le fait que toutes les truites d'un échantillon sont issues de reproductions au hasard. Si l'échantillon comporte des truites de piscicultures, il est évident que la reproduction entre truites sauvages et nées en pisciculture ou entre leurs parents a été impossible, ce qui crée un déséquilibre génétique mesurable grâce au paramètre Fis.

Nous avons donc mesuré le Fis (voir ci dessous la colonne "Réel"). Plus cette valeur est élevée, plus il y a de déséquilibre panmictique (les valeurs négatives sont assimilables à zéro). Puis des tests de significativités (méthode des permutations) sont appliqués pour savoir si chaque écart à l'équilibre est significatif (c'est à dire que le hasard seul ne peut pas expliquer cette valeur). Le taux de significativité étant fixé habituellement à 5%, les valeurs significatives (donc déséquilibre de panmixie) sont colorées en **bleu** dans le rapport d'analyse ci dessous.

Les stations présentant 0% d'introgression ont été colorées en **jaune**, celles présentant 1% (assimilable à zéro) sont en **vert** et 2% (assimilables à zéro) en **gris**.

```

5 Locus
5000 Permutations
Données de Fis après permutation des allèles à l'intérieur de
chaque population

Résultats sur la totalité des locus :
-----

```

Population	Réel	% val. >	% val. <
Fontaine	0.00249	43.4800	56.4400
Camaret	-0.01759	65.4800	34.5000
Nant	0.05795	8.9400	90.7800
Sumène	0.04038	26.8600	72.4200
Dorne	0.08915	4.5400	95.1800
Doux	0.17123	0.0000	100.0000
Eysse	0.17590	0.0000	100.0000
Ardèche	0.05900	8.8000	90.3200
Bésorgues	0.08320	5.7400	94.2600
Borne	0.06284	4.5800	95.4200
Cance	0.09288	1.5400	98.4600
Eyrieux	-0.00412	49.2000	41.0400
Gage	0.07032	5.0400	92.4200
Glueyre	0.13687	0.9600	99.0400
Liauron	0.03025	22.9400	68.5200
Lignon	0.10136	0.5600	99.4400
Loire	-0.07611	92.9400	6.7000

On constate que des déséquilibres sont perceptibles un peu partout, qu'il y ait introgression domestique ou pas.

Ce phénomène a souvent été observé dans toute sorte de populations. Il a été expliqué par le fait que les 0+ et 1+, chez la truite du sud (ne faisant pas de migration à la mer), ne vivent pas avec les adultes: les adultes occupent le cours d'eau principal et les jeunes les affluents plus petits. Subissant ainsi une sélection naturelle différente, ils provoquent un déséquilibre génétique quand ils rejoignent le cours principal (dit "effet Walhund temporel").

Ainsi, dans notre cas, des stations purement méditerranéennes comme Dorne, Doux, Glueyre ou atlantique sauvage comme Lignon montrent des déséquilibres comparables à des stations très introgressées comme Gage, Borne ou Bésorgues. Par contre, des localités très introgressées comme Eyrieux et Nant sont en parfait équilibre.

Il semble bien que ce paramètre soit plus sensible aux particularités biologiques des truites naturelles qu'à l'introgession par une souche étrangère. Il nous est donc d'une aide limitée.

7. Conclusion

- L'analyse génétique des truites de l'Ardèche a révélé une situation tout à fait satisfaisante du point de vue du maintien des formes ancestrales méditerranéennes ou atlantiques autochtone de Loire. Seules 4 stations, une en bassin atlantique (Gage) et 3 en bassin méditerranéen (Bésorgues, Borne et Eyrieux) présentent une introgression par la forme domestique qui soit mesurable (8 à 24%).

- D'autre part, ces introgressions sont plus à attribuer à l'histoire très ancienne et intense des repeuplements qui étaient la méthode reine de gestion (mais qui se montre ici parfaitement inefficace) qu'à des déversements récents, difficilement démontrables. Seule la station Eysse présente les caractéristiques propres aux déversements récents par deux méthodes: 6.2 et 6.3, mais avec une introgression très faible: 3 à 4%, à la limite de la visibilité.

- L'autre observation est que la localisation des stations introgressées n'obéit à aucune logique géographique, ce qui est le plus fréquemment observé en France.

- Dernier résultat, qui est probablement le plus important d'un point de vue de la conservation patrimoniale, est l'existence inattendue de plusieurs formes méditerranéennes originales autour d'une forme plus fréquente. Les stations de Sumène, Bésorgues et Glueyre présentent des caractéristiques génétiques bien distinctes de la forme dite "Rhône". Pourtant ces stations se trouvent dans des sous-bassins échantillonnés par ailleurs et habités par la forme "Rhône". Il sera intéressant de rechercher des arrêtoirs en aval des ces stations d'échantillonnage pouvant expliquer le maintien de ces particularités génétiques.

Quoi qu'il en soit, l'analyse génétique présentée dans ce rapport justifie parfaitement une gestion patrimoniale. Les formes naturelles sont très majoritaires en Ardèche (95% en moyenne), montrant par là leur supériorité adaptative par rapport à la souche atlantique qui n'a pas résisté à la compétition.

Analyses statistiques et interprétation: Patrick Berrebi

Analyses bio-moléculaires: Sophie Dubois

Montpellier le 19 novembre 2006