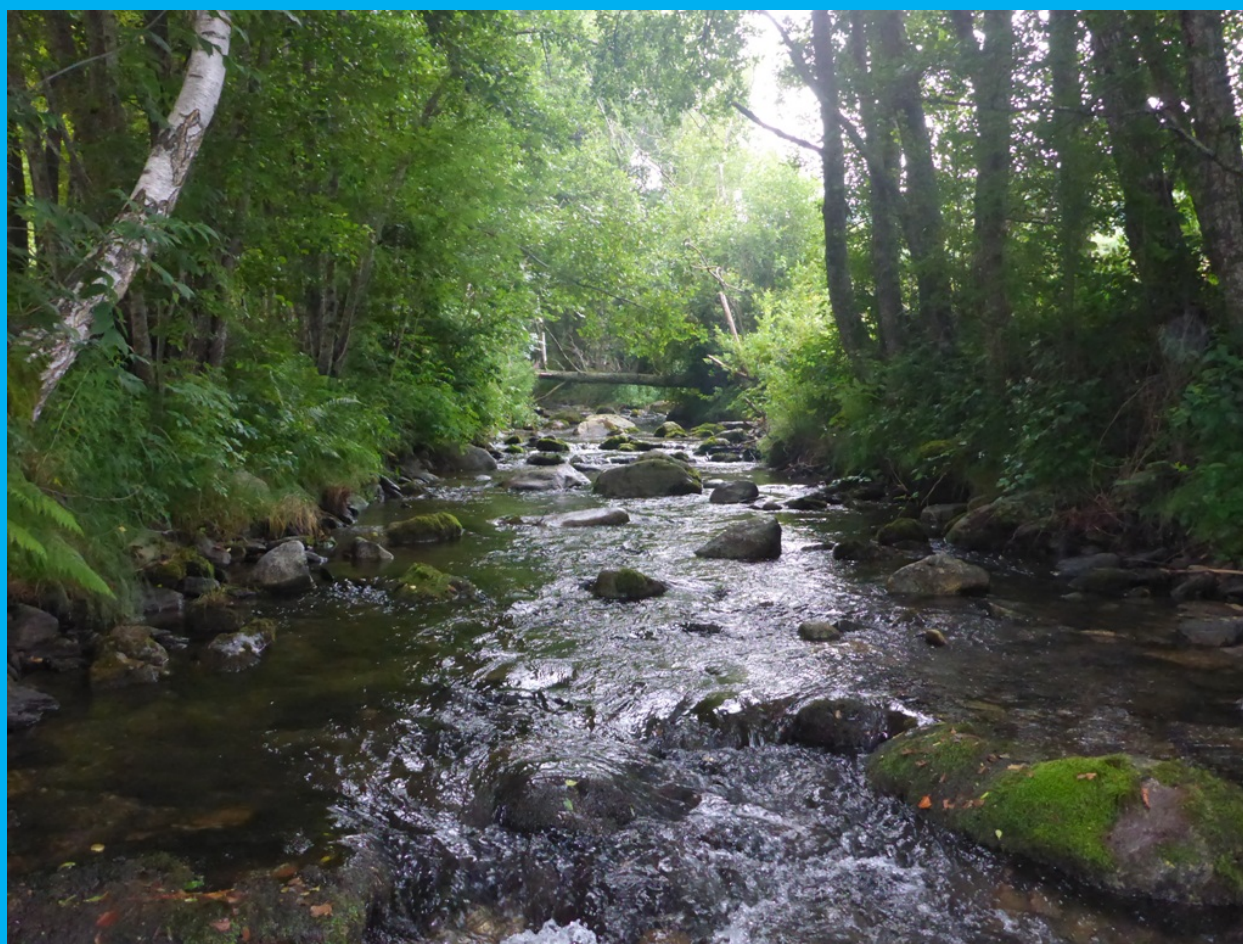


Composition génétique des truites du ruisseau de Cubièrettes (affluent de l'Altier)

-
Rapport LOZ5



Ruisseau de Cubièrettes © FD48

Analyses statistiques et rédaction: **Patrick BERREBI**
Genome-Recherche & Diagnostic, 8 rue des tilleuls, 34090 Montpellier
Messagerie: 04 67 52 47 82, Mél: patrick.berrebi@laposte.net
Site web: <https://webslf-genome-rd-64.webslf.net>

Analyses moléculaires: **David SCHIKORSKI**
Laboratoire Genindexe, 4 Rue Théodore Botrel, 22603 Loudéac Cedex
Tél: 02 96 28 63 43, Mél: d.schikorski@genindexe.com

1. Introduction

La gestion des truites et l'établissement de projets pluriannuels, nécessitent une base objective de connaissances justifiant les décisions à prendre. Les analyses génétiques apportent certaines informations qui aident à ces décisions.

Deux types d'information sont particulièrement utiles: (i) la mesure du pourcentage d'hybridation des individus et des populations, hybridations fréquentes entre lignée autochtone et lignée domestique (mais il est possible que plusieurs lignées domestiques soient impliquées) et (ii) la délimitation dans le réseau hydrographique de lignées autochtones différentes selon le sous bassin (établissement d'une carte des lignées). Ainsi la gestion s'adaptera à la présence de truites patrimoniales et évitera le transport de truites entre sous bassins à lignées naturelles différentes.

A ces informations "classiques" peuvent s'ajouter, au cas par cas, d'autres informations utiles: l'évolution d'une année à l'autre après une perturbation (crue), la différence amont-aval d'un barrage, la détection de populations anormalement pauvres en diversité génétique... etc.

2. L'échantillon analysé

Un échantillon de 30 fragments de nageoires conservés dans l'alcool, a été prélevé par pêche électrique le 16 juillet 2018 sur des truites du ruisseau de Cubièrettes (= le Jouvain), relâchées ensuite. Ce ruisseau s'écoule sur le versant nord du Mont Lozère sur le bassin versant de l'Altier, affluent du Chassezac, lui-même se jetant dans l'Ardèche puis dans le Rhône.

Les échantillons ont été livrés au bureau d'études Genome-Recherche & Diagnostic (GRD, directeur Patrick Berrebi) le 20 juillet 2018 par la Fédération des Associations Agréées de Pêche et de Protection du Milieu Aquatique (AAPPMA) de Lozère (FD48). Madame Valérie Prouha est la correspondante de la FD48 auprès de GRD.

N° carte	Station	N	Année de capture	Rapport	N° GRD de l'échantillon	N° GRD individus
1	Cubièrettes	30	2018	LOZ5	L837	T32998-T33027
2	Palhères	30	2014	LOZ4	L600	T26760-T26789
3	Lot (amont Mende)	22	2013	GT-LOZ3	L330	T25700-T25721
4	Tarn (Mas Camargues)	35	2009	LOZ1	L197	T15333-T15367
5	pisciculture Isère	30	2008	GSALM2	L266	T16926-T16955
6	Piscic. Pyrénées-Atlantiques	20	2014	PA2	L443	T26033-T26052

Tableau 1 : Détail des échantillons analysés. En jaune l'échantillon nouveau de 2018; en blanc les échantillons naturels de référence déjà analysés; en gris les références domestiques.

Les analyses statistiques nécessitent de comparer les génotypes des 30 truites de 2018 avec ceux de truites de type connu, déjà analysées. Ainsi, aux échantillons de 2018 ont été rajoutés 3 échantillons de rivière et 2 souches domestiques commerciales (voir Tableau 1). Le ruisseau de Cubièrettes a été repeuplé par des truites de la pisciculture fédérale de Trémoulis sur le bassin versant atlantique (non analysées ici). Les caractéristiques des échantillons analysés sont détaillées au Tableau 1. Leurs localisations sont précisées à la Figure 1.



Figure 1 : Position géographique des stations échantillonnées en 2018 (chiffre en rouge) et de référence (chiffres en bleu). Ces chiffres réfèrent à la première colonne du Tableau 1.

3. Les méthodes moléculaires

Les techniques biomoléculaires permettent d'extraire l'ADN contenu dans les nageoires. Par amplification et migration sont révélés les variants héréditaires (allèles) portés par chaque truite au niveau d'endroits bien particuliers des chromosomes (les locus). Pour être informatifs, des locus hypervariables sont choisis, les microsatellites. Ici, nous avons choisi 6 locus microsatellites nommés Oneµ9, Mst85, Ss0SL-311, Omy21DIAS, Mst543, SSoSI-438. Leurs allèles constituent les génotypes des truites.

Les génotypages sont assurés par Genindexe (Labofarm), laboratoire privé en Bretagne. Les résultats sont donnés sous la forme d'une matrice croisant locus et truites et indiquant un génotype à deux allèles à chaque intersection de la matrice (un allèle du père et un allèle de la mère du poisson). Cette matrice de génotypes est le point de départ de toutes les analyses statistiques détaillées aux chapitres suivants.

4. Les méthodes statistiques

Il existe une multitude de méthodes statistiques permettant de faire parler la matrice de génotypes. Les méthodes choisies ici sont d'une part efficaces et très utilisées en génétique des populations, et d'autre part visuelles, pour que le lecteur non spécialiste puisse suivre les résultats et le raisonnement.

- *L'analyse multidimensionnelle* permet de positionner sur un graphique chaque truite en fonction de l'ensemble de ses caractéristiques génétiques (génotypes). La méthode choisie est l'Analyse Factorielle des Correspondances (AFC) traitée avec le logiciel GENETIX. Les

regroupements de points (= truites) sur le graphique, appelés "nuages", correspondent aux différentes lignées présentes dans l'échantillonnage global. Cette méthode est considérée comme un débroussaillage des données moléculaires permettant de comprendre rapidement quelles sont les lignées en présence et leur éventuelle hybridation.

- *L'analyse d'assignation* permet de découper l'échantillonnage global en sous-groupes qui sont les lignées présentes. Cette méthode plus délicate d'emploi a l'avantage de chiffrer (%) la composition de chaque échantillon en différentes lignées. L'analyse d'assignation est effectuée avec le logiciel STRUCTURE. Le nombre objectif de sous-unités est déterminé par le logiciel STRUCTURE HARVESTER (aide à la décision);

- *Diversité génétique et panmixie* sont deux mesures utiles. La bonne santé et donc la survie future d'une population, surtout dans un contexte de réchauffement, nécessitent une diversité génétique (paramètre Hnb) importante afin de s'adapter aux nouvelles conditions écologiques. D'autre part, la panmixie (paramètre Fis) caractérise une population en équilibre dont tous les membres se reproduisent au hasard permet de détecter des immigrations comme lors des repeuplements.

5. Résultats

5.1. Débroussaillage par AFC

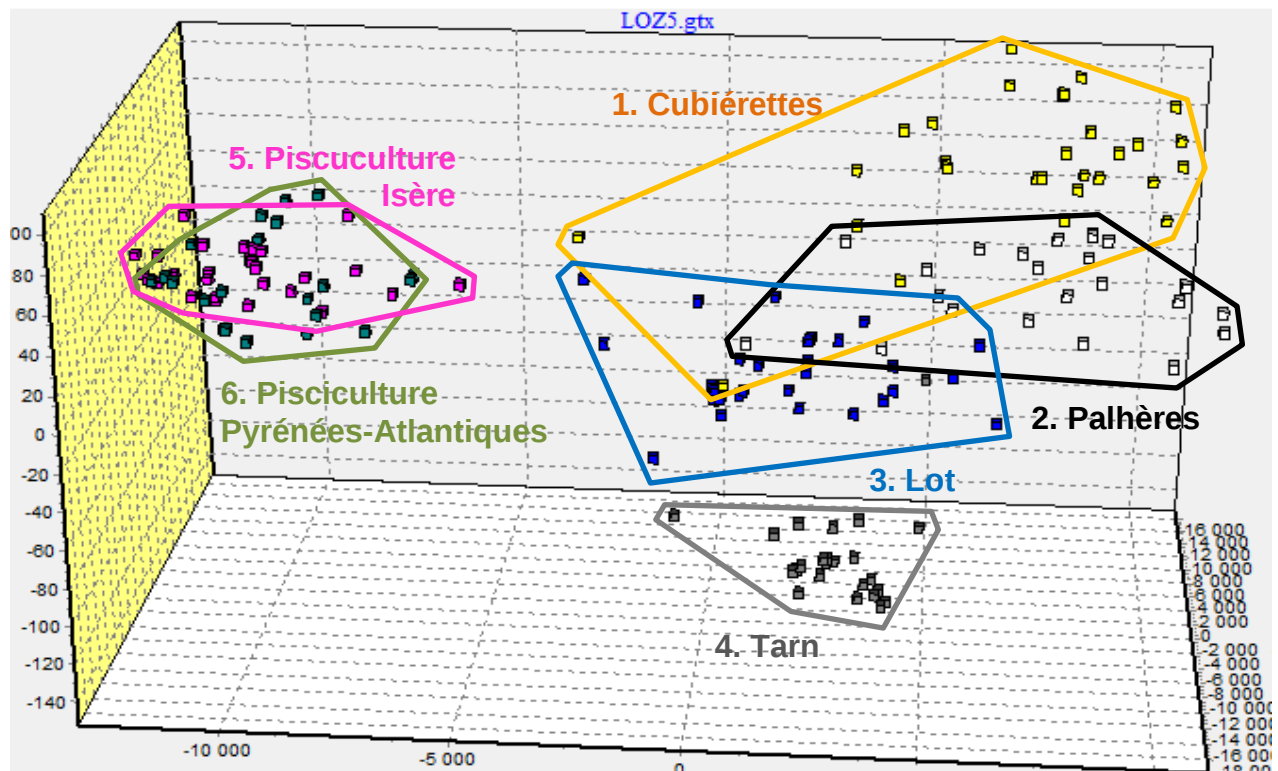


Figure 2 : Analyse multidimensionnelle (AFC) disposant toutes les truites considérées d'après leurs caractéristiques génétiques. Globalement, les lignées domestiques sont à gauche et les sauvages à droite; les lignées méditerranéennes plutôt vers le haut, mais ce n'est pas très net (analyse d'assignation nécessaire).

La première image des analyses génétiques, par AFC (Figure 2), montre deux ensembles: à gauche les truites domestiques atlantiques et à droite les truites sauvages Atlantiques et méditerranéennes. On soupçonne une séparation Atlantique/Méditerranée mais cela n'est pas très net (les méditerranéennes sont plutôt en haut à droite et les atlantiques au milieu et en bas). L'analyse d'assignation qui suit a pour but de distinguer ces lignées et de chiffrer leur présence dans chaque échantillon.

5.2. Chiffrage par assignation

L'analyse d'assignation permet de classer et de chiffrer la composition génétique de chaque échantillon.

La meilleure représentation est l'histogramme du haut de la Figure 3 (l'aide à la décision préconise K=4). Un résultat surprenant est l'identité génétique entre la population du ruisseau de Cubièrettes et du Lot au niveau de Mende. Cependant, quand K=5, on voit que ces deux populations sont légèrement différentes. Cela se voit bien dans l'arbre des distances génétiques donné en Figure 4.

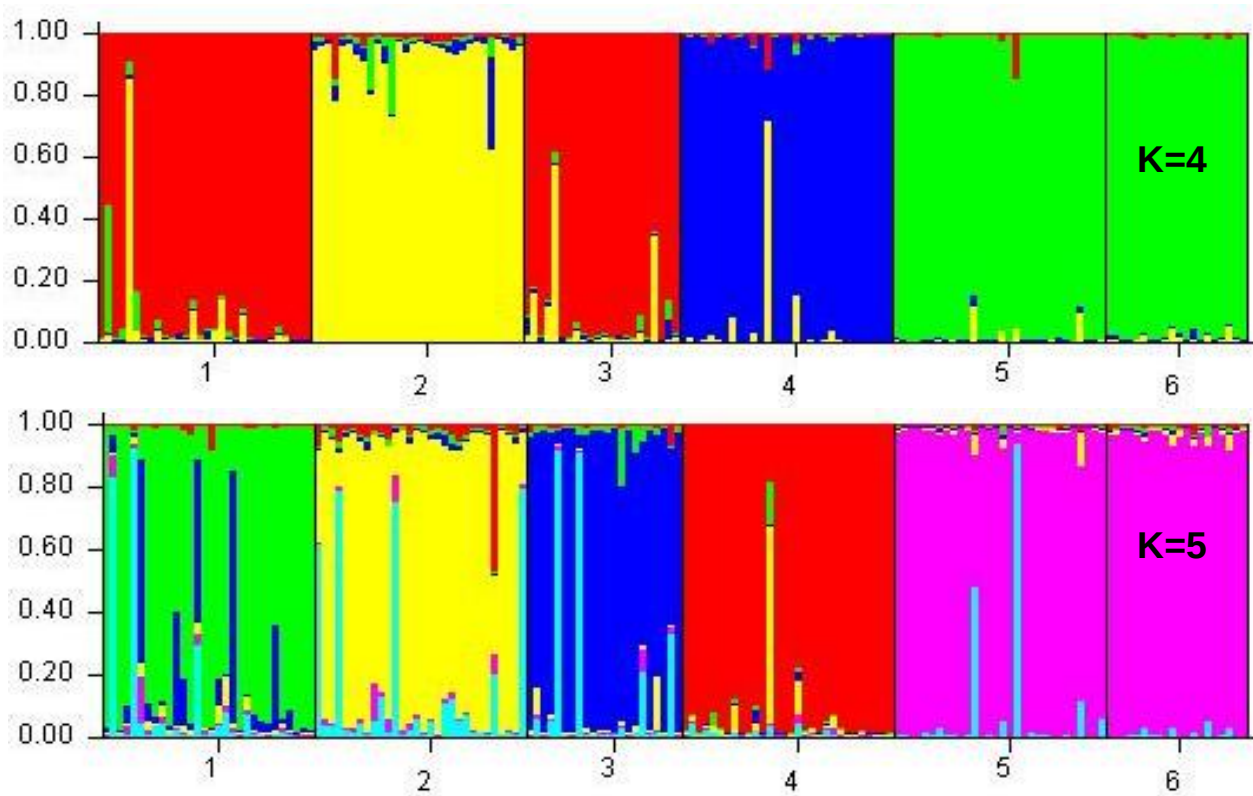


Figure 3: Histogramme de la composition génétique de chaque truite (fines barres verticales) et de chaque échantillon quand on subdivise l'échantillonnage total en 4 puis 5 lignées (STRUCTURE HARVESTER suggère $k=4$). Les couleurs sont distribuées au hasard par le logiciel.

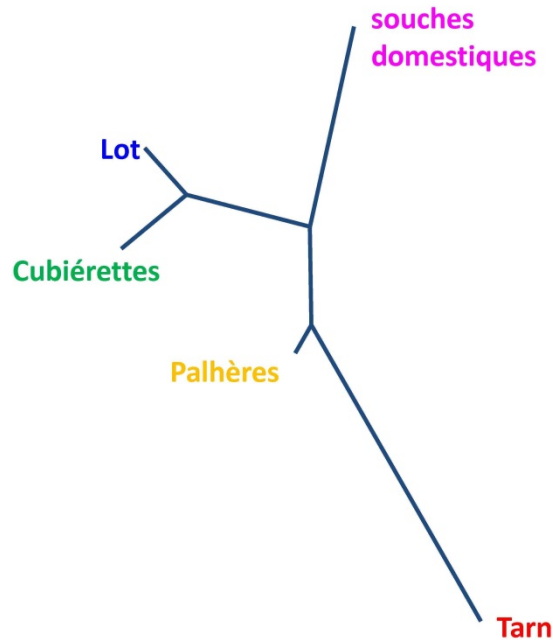


Figure 4: Arbres des distances génétiques positionnant chaque échantillon en fonction de la quantité de différence génétique qui le sépare des autres échantillons (les couleurs sont celles de l'histogramme du bas de la Figure 3). Ici aussi on observe la proximité des populations du ruisseau de Cubiérettes et du Lot.

N° carte	Station	N	Cubiérettes	Palhères	Lot	Tarn	domesti- ques
1	Cubiérettes	30	83	2	12	1	2
2	Palhères	30	1	91	2	4	2
3	Lot (amont Mende)	22	3	2	93	1	1
4	Tarn (Mas Camargues)	35	1	4	1	94	1
5	pisciculture Isère	30	1	1	1	1	97
6	Piscic. Pyrénées-Atlantiques	20	1	1	1	1	96

Tableau 2: Transposition de l'histogramme de la Figure 3 du bas ($K=5$) sous forme de pourcentages (les valeurs correspondent à la moyenne de 4 "runs" d'assignation). Les cellules en orange indiquent les lignées dominantes dans chaque échantillon. Les valeurs de 5% et moins ne sont pas sûres (bruit de fond de la méthode) et mises en gris.

5.3. Paramètres populationnels

Le calcul de la diversité génétique donne la valeur de 0,74, ce qui est une **diversité très élevée** (les souches domestiques, considérées comme très diversifiées, atteignent en général la valeur de 0,66).

Le paramètre F_{is} atteint 0,12, ce qui montre un écart très significatif à la panmixie (voir discussion)

6. Interprétation et Discussion

6.1. Impact des repeuplements

Les analyses génétiques ne sont compréhensibles que par comparaison des truites de rivière, de nature inconnue (celles qui font l'objet de cette étude), avec les truites de référence connue. La présence de truites domestiques est détectée par ressemblance génétique avec les truites de référence de pisciculture. Toutefois, si une autre souche inconnue (ou non signalée au laboratoire) a été utilisée dans la zone étudiée, les estimations peuvent être faussées sans que nous le sachions.

Dans le cas présent, les connaissances de terrain nous conduisent à rechercher la présence de truites domestiques atlantiques, la pisciculture fournissant des alevins à déverser élevant une souche atlantique supposée proche des deux souches utilisées comme référence.

Le premier résultat intéressant est l'absence de truites domestiques dans l'ensemble des populations analysées: Altier, Lot et Tarn (les 1 ou 2% de présence domestiques dans les rivières est considéré comme du "bruit de fond" et ne peuvent pas être considérées comme des traces de repeuplement).

6.2. Structure génétique naturelle

La présente étude n'a pas d'objectif cartographique. Cubières est bien génétiquement à proximité de Palhères comme attendu.

Chaque échantillon de rivière a sa propre lignée de truite. C'est le cas des truites sédentaires (les truites du sud de la France sont toutes très sédentaires limitant le milieu de vie à environ 50km de rivière) qui n'ont aucun échange entre elles.

Le seul résultat surprenant est la proximité génétique entre la population de Cubières et celle du Lot (Figures 2, 3 et 4), alors qu'elles appartiennent à des grandes lignées distinctes (la méditerranéenne et l'atlantique).

La population du ruisseau de Cubières n'ayant aucune trace de truites atlantiques domestiques, elle appartient très probablement à la lignée méditerranéenne.

6.3. "Etat de santé" de la population de Cubières

La **diversité génétique** est très élevée. C'est le cas des populations de grande taille. Ici, cette forte diversité est surprenante, mais correspond à une bonne santé démographique et génétique

Toutefois, un échantillonnage de plusieurs rivières proches permettrait de comprendre si c'est une caractéristique des populations du sous bassin, mais ce qui n'est pas un objectif pour la présente étude. Une forte diversité est considérée comme donnant une forte capacité d'adaptation à la population, lors de crues, sécheresses ou réchauffement climatique.

La **panmixie** n'est pas confirmée. Cette anomalie est difficile à expliquer, mais pour les populations naturelles, c'est souvent dû à la séparation du lieu de vie des juvéniles (alevins et 1+) et adultes.

6.3. Gestion de la population du ruisseau de Cubières

Malgré les quelques observations surprenantes, il est clair que cette population est indemne d'introduction domestique. Au niveau du pays, c'est une situation pas très fréquente et une gestion patrimoniale serait utile si on veut préserver ces truites probablement identiques à celles qui peuplaient la région il y a 10 ou 15 milliers d'années de vie sédentaire dans le sous bassin, quand l'homme se contentait de la pêcher. Elle constitue une partie de la diversité naturelle de l'espèce en zone méditerranéenne et ne devrait pas être mélangée à des truites domestiques afin de maintenir sa capacité d'adaptation obtenue après près de 10 000 ans

Fait à Montpellier le 20 septembre 2018

7. Références bibliographiques citées

*La plupart des rapports cités peuvent être trouvés sur le site <https://data.oreme.org/trout/home> dans l'onglet "Liste des rapports" (cliquez sur "France" puis sur les départements concernés). Pour les options cartographiques du site, *utilisez Firefox*.*

Berrebi P., Cherbonnel C. 2009. Analyse des truites du Haut Tarn : marqueurs microsatellites - Rapport de décembre 2009. Université Montpellier 2. (**LOZ1**)

Berrebi P., Cherbonnel C. 2009. Cartographie génétique des populations sauvages de truites françaises - Programme GENESALM - tome 1 - version du 15 décembre 2009. 22p. (**GSALM2**)

Berrebi P., Schikorski D, Prouha V. 2014. Structure génétique des truites des gardons cévenoles de Lozère - Projet **LOZ4**: Rapport d'étude pour la FD48, Université Montpellier 2. 9p.

Berrebi P., Shao Z. 2014. Analyse génétique d'un échantillon de truites de Lozère (rivière Lot) sur 12 microsatellites dans le cadre du projet national GENETRUTTA - Projet **GT-LOZ3**: Rapport pour la FD48, Université Montpellier 2. 5p.

Berrebi P., Schikorski D., Masseboeuf F. 2015. Composition génétique des truites de la Bidouze - Étude complémentaire au rapport Genetrutta de 2013 dans les Pyrénées-Atlantiques - Rapport **PA2**: Rapport d'analyse pour la FD64, Université de Montpellier. 9p.