

Recherche des conséquences des crues de mai-juin 2013. Analyse génétique des truites de la Pique et de la Garonne.

Projet GARO2

Analyses statistiques et rédaction: Patrick BERREBI *
Analyses moléculaires: David SCHIKORSKI **

* Institut des Sciences de l'Evolution, Université Montpellier 2
Tel: 04 67 14 37 32, Mél: patrick.berrebi@univ-montp2.fr

** GENINDEX, 6 rue des Sports, 17000 La Rochelle.
Tel: 05 46 30 69 66, Mél: d.schikorski@genindexe.com



La Garonne à St Béat © <http://natifs50-graulhet.wifeo.com/inondations-pyrenees-2013.php>

1. Introduction

L'amont de la Garonne a subi de fortes crues fin mai / début juin 2013.

Pour savoir si ces événements ont eu des conséquences sur la diffusion vers l'aval de truites de lignée génétiques déjà identifiées lors d'études précédentes, des échantillons post-crues ont été constitués dans la Pique (aval de Luchon, à Cier de Luchon) et dans la Garonne à l'aval de la confluence avec la Pique (près d'Esténos).

2. Echantillonnage

Echantillonnées en septembre 2013, les 60 truites du projet sont parvenues à l'Institut des Sciences de l'Evolution (ISEM) de l'Université Montpellier 2 (UM2) le 6 janvier 2014. Mr Gaël Durbe est le correspondant de la Fédération de Pêche de Haute Garonne (31) et de l'association TFP auprès de l'ISEM.

La répartition géographique des localités d'échantillonnage est présentée à la Figure 1 pour les deux stations à analyser, et à la Figure 2 pour l'ensemble des stations utilisées à titre de comparaison.

Les caractéristiques des échantillons sont données dans le Tableau 1: aux échantillons de 2013 ont été rajoutés des échantillons de référence, de types connus, déjà analysés dans le passé. Ils serviraient à interpréter les résultats obtenus.

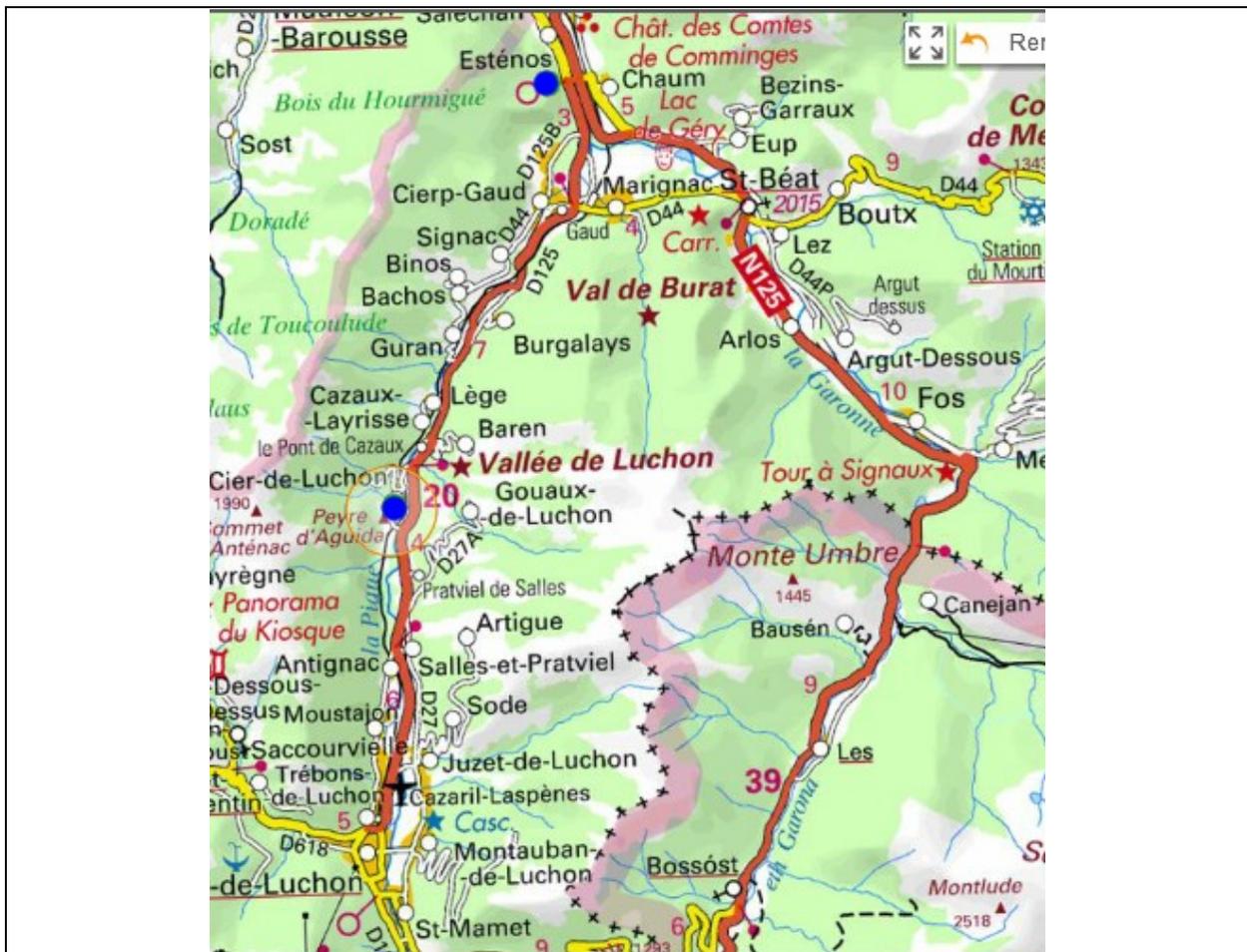


Figure 1 : Position précise des deux stations d'échantillonnage de 2013 (points bleus).

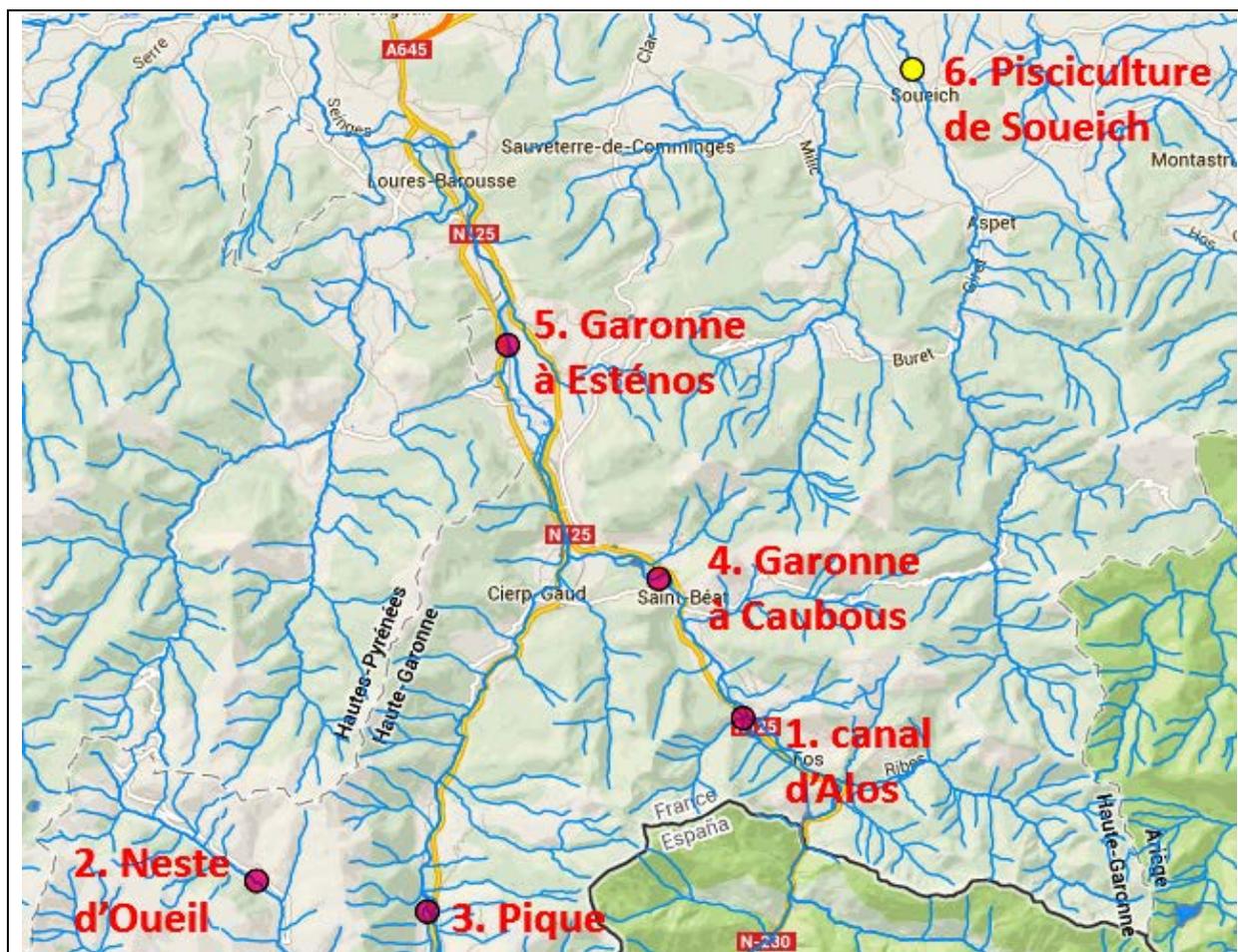


Figure 2 : Répartition géographique des stations d'échantillonnage de 2013 et de référence.

N° carte	Rivière	Localité	N° échantillon ISEM	N° individus ISEM	Nombre	Date	Rapport
1	Canal d'Arlos		L554	T24297-T24326	30	nov-12	GARO1
2	Neste d'Oueil	Cirès	L327	T25670-T25699	30	28/08/2013	TFP1
3	Pique	Cier de Luchon	L429	T25963-T25992	30	sept-13	GARO2
4	Garonne	Caubous	L363	T19113-T19134	22	05/10/2010	ENSAT2
5	Garonne	Esténos	L424	T25933-T25962	30	25/09/2013	GARO2
6	Pisciculture locale	Soueich	L495	T22251-T22280	30	2011	ENSAT3
7	Pisciculture nationale	Seine Maritime	L267	T16956-T16985	30	2008	GSALM2

Tableau 1 : Caractéristiques des échantillons analysés (en jaune), classés selon une logique amont-aval et des échantillons de référence dont des échantillons de pisciculture (en gris)

3. Analyses moléculaires

Les 60 truites ont été analysées au niveau de 6 marqueurs moléculaires, les microsatellites suivants: Onew9, MST85, SSOSL 311, Omy21Dias, MST543 et SSOSL438.

Les génotypes obtenus additionnés des génotypes de référence ont permis de constituer une matrice de données à la base de tous les calculs statistiques qui suivent.

4. Analyses statistiques

Ces analyses consistent à permettre l'interprétation des résultats. Elles sont constituées de trois étapes principales:

- les analyses multidimensionnelles (ici l'Analyse Factorielle des Correspondances ou AFC) traitées par le logiciel GENETIX permettent de visualiser les variations génétiques des truites analysées et de les positionner les unes par rapport aux autres dans un hyper-espace;
- les analyses d'assignation recherchent la meilleure partition en sous-unités homogènes dans la matrice de génotypes grâce au logiciel STRUCTURE. Le nombre objectif de sous-unités est déterminé par le logiciel STRUCTURE HARVESTER);
- les paramètres populationnels (ici la diversité génétique H_o et H_{nb} , la panmixie F_{is} et le niveau de différenciation F_{st}) sont calculés avec le logiciel GENETIX et permettent d'interpréter les résultats en termes biologiques.

5. Résultats

5.1. Analyse multidimensionnelle

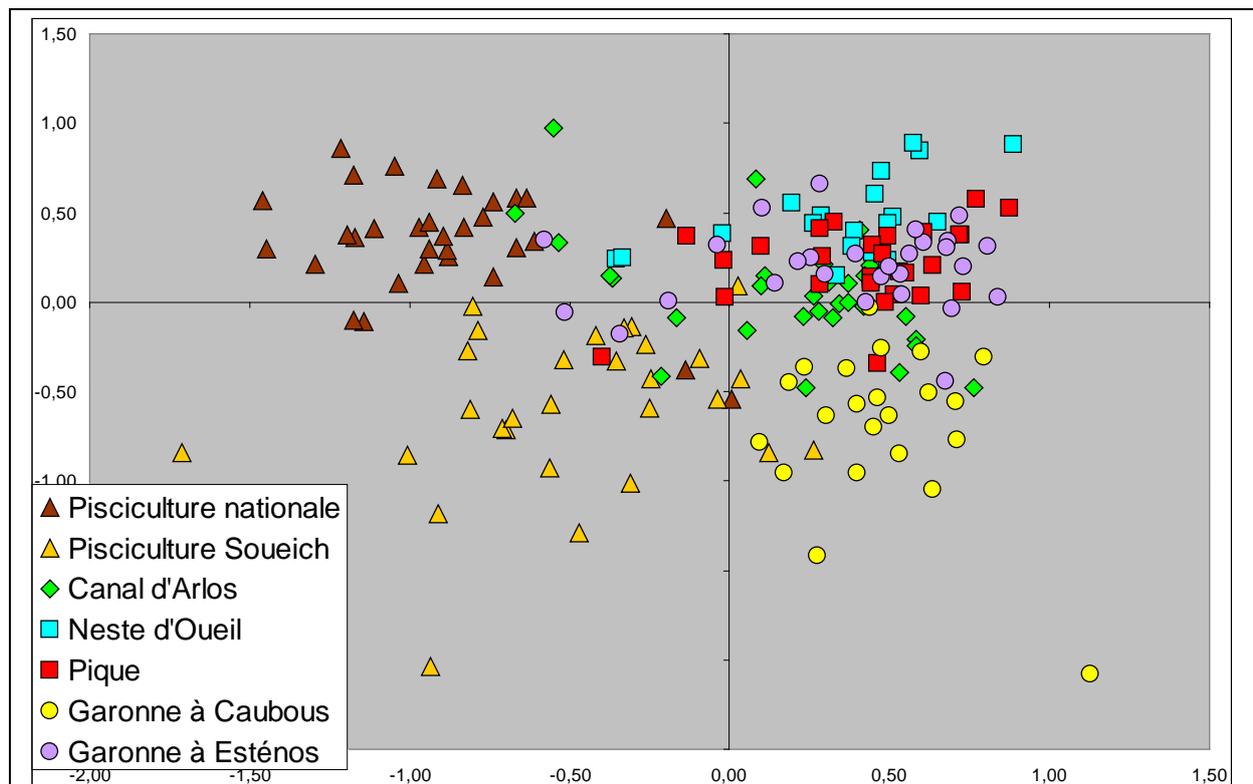


Figure 3 : Analyse multidimensionnelle (AFC) disposant chaque truite en fonction de ses caractéristiques moléculaires. Les truites domestiques sont concentrées à gauche, les formes sauvages à droite. Ces dernières semblent peu impactées par les truites domestiques.

La Figure 3 positionne toutes les truites analysées en fonction de l'ensemble de leurs génotypes au niveau des 6 marqueurs microsatellites utilisés. Elle nous permet de voir que l'ensemble des échantillons de rivière sont peu impactés par les truites domestiques, un peu tout de même par la souche locale de Soueich. Ces formes sauvages semblent constituer un continuum du haut à droite jusqu'au bas au milieu: Neste d'Oueil, Pique + Garonne-Esténos, Canal d'Arlos et Garonne à Caubous, ce qui constitue une certaine logique géographique.

L'analyse d'assignation qui suit est nécessaire pour chiffrer ces entités, et pour rechercher des génotypes intrus qui auraient dévalé suite à la crue.

5.2. Analyses d'assignation

Les analyses d'assignation (logiciel STRUCTURE) permettent un découpage de l'échantillonnage global (nouveaux échantillons + échantillons de référence) en k sous-unités homogènes (proche des caractéristiques de populations en équilibre). Ici 50000 burn'in constitue la première étape de dégrossissement suivis par 100000 itérations, testant k entre 2 et 10 avec 10 répétitions à chaque valeur de k. La valeur k a été estimée à 5 grâce au logiciel STRUCTURE HARVESTER. La Figure 4 présente ces résultats sous forme d'un histogramme coloré et le Tableau 2 sous forme de pourcentages moyens.

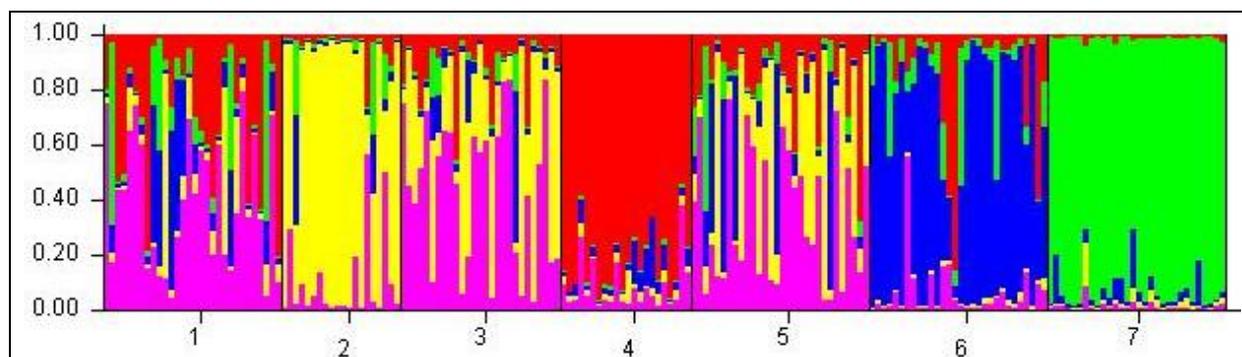


Figure 4 : Analyse d'assignation présentée sous forme d'histogramme. Chaque truite est représentée par une fine barre verticale; chacune des k sous-unités a reçu une couleur au hasard; l'ordre des truites et des échantillons est exactement celui du Tableau 1. Cette analyse nous permet déjà de reconnaître les deux types domestiques et de reconnaître 3 types sauvages.

	Pique	Oueil	Garonne	Soueich	Domestique
Canal d'Arlos	41	10	25	14	11
Neste d'Oueil	12	76	3	4	5
Pique	48	33	10	6	3
Garonne Caubous	11	3	81	5	1
Garonne Esténos	36	30	14	15	5
pisciculture Soueich	5	1	13	70	10
pisciculture nationale	1	2	1	4	91

Tableau 2 : Transposition de l'histogramme de la Figure 4 sous forme de pourcentage d'assignation de chaque échantillon analysé aux 5 sous-unités détectées. Les couleurs de la Figure 4 ont été conservées.

5.3. Paramètres populationnels

Le Tableau 3 expose les valeurs des paramètres populationnels des échantillons nouveau et des échantillons de référence à des fins de comparaison.

	Hnb	Ho	A	Fis	signif.
Canal d'Arlos	0,72	0,59	9,17	0,19	***
Neste d'Oueil	0,63	0,61	5,50	0,03	ns
Pique	0,70	0,63	8,17	0,10	*
Garonne à Caubous	0,70	0,68	8,00	0,02	ns
Garonne à Esténos	0,78	0,74	10,33	0,05	ns
pisciculture locale	0,82	0,77	9,50	0,05	ns
pisciculture nationale	0,76	0,69	6,50	0,09	*

Tableau 3 : Paramètres populationnels des échantillons de 2013 et des échantillons de référence. Les entêtes orange correspondent au paramètres de polymorphisme; les entêtes bleues aux paramètres d'équilibre panmictique : si significatif (* à ***), le Fis indique que plus d'une lignée sont présentes dans l'échantillon. ns = non significatif.

Le Tableau 4 donne les valeurs de Fst entre chaque paire d'échantillons analysés. Ces valeurs peuvent être considérées comme des distances génétiques indiquant la différenciation entre les échantillons comparés de chaque paire.

	Arlos	Oueil	Pique	Caub.	Esté.	Soueich	Pisc.
Canal d'Arlos	0	0,10	0,03	0,12	0,02	0,08	0,11
Neste d'Oueil		0	0,07	0,19	0,05	0,14	0,17
Pique			0	0,14	0,00	0,10	0,14
Garonne à Caubous				0	0,10	0,09	0,20
Garonne à Esténos					0	0,07	0,10
pisciculture locale						0	0,06
pisciculture nationale							0

Tableau 4 : Matrice triangulaire des Fst par paire d'échantillon. Toutes les comparaisons sont significatives (population génétiquement distinctes) à l'exception de celle de la case en vert: la Pique n'est pas significativement différente de la Garonne à Esténos.

Les paramètres populationnels aident à l'interprétation biologique des résultats présentée dans le chapitre suivant.

6. Interprétation des résultats

6.1. Description de la structure génétique observée

Les deux méthodes statistiques employées (Analyses multidimensionnelles et d'assignation) permettent de découper les échantillons analysés en lignées locales ou nationales.

Ainsi des lignées nommées ici Pique, Oueil et Garonne s'ajoutent à la lignée domestique locale (Soueich) et à la lignée domestique nationale.

Il est intéressant de comparer ces résultats avec ceux obtenus sur certains échantillons communs lors d'étude précédentes:

- Le **Canal d'Arlos** a fait l'objet de l'étude GARO1. Dans ce rapport, cet échantillon était composé de 64% du type Arlos, 5% du type Garonne (= Garonne à Caubous), 19% de Soueich et 12% de la souche domestique nationale. Ces trois derniers types génétiques se retrouvent dans la présente étude mais le type Garonne est bien plus représenté (25%). D'autre part, le type Arlos de GARO1 est remplacé par les types Pique et Oueil ici. Comme dans le rapport GARO1, cet échantillon du canal d'Arlos est difficile à définir. Son polymorphisme élevé (Tableau 3: $H_{nb}=0,72$), quasiment au niveau de celui des piscicultures (toujours élevé à cause des mélange à l'origine des souches) est surprenant pour une population d'amont. Sa nature probablement composite ne se révélera que dans une grande synthèse des populations de l'amont de la Garonne.

- La **Neste d'Oueil** a été analysée dans le rapport provisoire TFP1 de décembre 2013 (qui sera complété en 2014). Elle y est décrite comme homogène, composée de 86% du type local appelé "Arize/Oueil" et de 7% de la souche Soueich. Ces estimations sont globalement confirmées ici.

- La **Garonne à Caubous** analysée récemment dans le rapport GARO1, s'est aussi montrée assez homogène avec 73% du type sauvage local appelé Garonne, mais 20% du type commun au Canal d'Alos. Cette composition est confirmée par la présente étude.

- Les deux nouvelles populations analysées (Pique à Ciers et Garonne à Esténos) sont les seules à ne pas être différenciées génétiquement (F_{st} nul, Tableau 4). Cela signifie que ces deux localités sont en contact direct et échangent des truites de façon courante. C'est précisément le cœur de la question qui est posée dans la présente étude, et ce point est discuté dans le chapitre suivant.

6.2. Hypothèses sur l'origine des lignées observées

Ce sont les échantillons de référence, déjà connus car analysés dans d'autres contextes, qui permettent d'essayer de comprendre comment la structure génétique observée s'est mise en place. Les différences d'estimations entre le tableau 2 et les tableaux équivalents des rapports GARO1 et TFP1 étaient attendues car basées sur des comparaisons avec des échantillons différents. Deux analyses utilisant des échantillons de référence différents présenteront des différences de diagnostic. De ce fait, plus une étude est complète (avec un grand nombre d'échantillons de rivières et de populations différentes) et plus il se rapprochera de la vérité.

En ce qui concerne la question posée ici, soit l'effet des crues sur la mobilité des truites, il semble bien qu'entre la Pique et la Garonne à l'aval de leur confluence, les truites échantillonnées sont identiques (F_{st} non significatif, Tableau 4). Il est possible que ce continuum ne soit que momentané, issu du dérangement causé par la crue. Les autres échantillons de référence ont été constitués des années avant et ne peuvent donc pas renseigner sur la dynamique liée à la crue récente.

De quoi est composée la population homogène "Pique-Garonne-septembre-2013"? Il y a environ 42% de type Pique, de 32% de type Oueil, de 12% de type Garonne, de 10% de type Soueich et de 4% de type domestique national. Cette composition multiple explique la forte diversité génétique observée ($H_{nb}=0,70-0,78$).

A quoi est-elle due? Les déséquilibres panmictiques (dénouçant l'addition de truites ne se reproduisant pas ensemble) est modeste: à l'équilibre pour la Garonne et modérément significatif (*) pour la Pique, ce qui n'est pas en faveur de mélanges dus à la violence des flots.

En observant au niveau des individus, et en considérant uniquement des truites appartenant à un type génétique unique (plus de 85% d'un type donné), l'échantillon de la

Pique présente 6 truites du type Pique et 3 du type Oueil; la Garonne à Esténos présente 5 truites du type Pique et 3 du type Oueil, soit sensiblement les mêmes quantités. Toutes les autres truites de ces deux stations sont des hybrides entre divers type.

En observant les estimations individuelles (Annexe) et en tenant compte qu'une truioite de pisciculture nationale est à 90% de la lignée P (domestiques commerciales nationales) et que les truites de la souche Soueich sont à environ 70% du type Soueich, 20% des types sauvages locaux et 10% du type P, 1 truite dans la Pique et 3 dans la Garonne 2013 peuvent provenir de Soueich (en violet dans le tableau de l'annexe); 2 autres dans la Garonne 2013, mais avec plus de chance de se tromper (en rose dans l'annexe).

Il n'y a pas de truite née en pisciculture nationale, uniquement leurs rares descendants d'hybridation.

En conclusion, l'identité entre les truites capturées après les inondations dans la Pique et dans la Garonne, à environ 12 km de distance montre une continuité sans obstacle pour les poissons. Une analyse similaire en temps de calmes serait nécessaire pour affirmer que cette continuité a été ou pas provoquée par la crue. Il n'y a pas d'évidence de truites déplacées puisque les deux échantillons sont essentiellement composés d'hybrides entre les formes en présence (Pique, Oueil, Garonne et Soueich), avec très peu de formes pures, de type sauvage local ou de type Soueich.

Les truites à Caubous (un km à l'aval de St Béat), bien qu'à seulement 4 km en amont de la confluence Pique-Garonne a une composition différente (80% de type Garonne et 10% de type Pique). Mais cet échantillon plus amont dans la Garonne a été constitué en octobre 2010, il n'est pas possible de savoir si cette différence est permanente ou causée par la crue.

Fait à Montpellier le 8 avril 2014

7. Littérature citée

- 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., Cherbonnel C. 2011. Estimation de l'impact des repeuplements dans les populations de truites de la zone salmonicole de la Garonne. Rapport d'avril 2011: 6p. Rapport d'analyse pour l'ENSAT. Université Montpellier 2. ([ENSAT2](#))
- Berrebi P., Genindexe. 2012. Caractéristiques génétiques des truites de la pisciculture de Soueich et de Garonne amont croisées avec l'étude ENSAT sur la scalimétrie: Rapport d'étude pour l'ENSAT, Université Montpellier 2. 8p. ([ENSAT3](#))
- Berrebi P., Shao Z. 2013. Analyse génétiques des truites du Canal d'Arlos et positionnement dans la diversité génétique locale (6 microsatellites) - Projet GARON1 - Rapport de février 2013: Université Montpellier 2, 11p. ([GARON1](#))
- Berrebi P., Schikorski D. 2013. Structuration génétique des truites pyrénéennes; première série: Neste d'Oueil, Arize et Hers - Projet provisoire TFP1A de décembre 2013. Université Montpellier 2. 5p. ([TFP1](#))

8. Annexe

	Piq	Oueil	Gam	SOU	P
PIQ01	0,931	0,016	0,028	0,012	0,012
PIQ02	0,56	0,402	0,025	0,008	0,006
PIQ03	0,468	0,396	0,105	0,015	0,016
PIQ04	0,638	0,173	0,161	0,016	0,012
PIQ05	0,903	0,026	0,042	0,019	0,009
PIQ06	0,048	0,548	0,047	0,164	0,193
PIQ07	0,606	0,047	0,057	0,141	0,149
PIQ08	0,727	0,158	0,03	0,073	0,012
PIQ09	0,821	0,141	0,019	0,012	0,007
PIQ10	0,571	0,047	0,339	0,028	0,016
PIQ11	0,076	0,863	0,017	0,025	0,02
PIQ12	0,118	0,528	0,076	0,249	0,029
PIQ13	0,606	0,241	0,096	0,049	0,009
PIQ14	0,718	0,254	0,014	0,008	0,006
PIQ15	0,748	0,146	0,067	0,013	0,026
PIQ16	0,049	0,619	0,289	0,027	0,015
PIQ17	0,68	0,137	0,052	0,016	0,115
PIQ18	0,947	0,013	0,023	0,01	0,007
PIQ19	0,943	0,026	0,015	0,008	0,008
PIQ20	0,092	0,038	0,074	0,659	0,137
PIQ21	0,057	0,905	0,013	0,018	0,007
PIQ22	0,501	0,225	0,247	0,015	0,013
PIQ23	0,028	0,912	0,016	0,024	0,019
PIQ24	0,669	0,273	0,032	0,013	0,012
PIQ25	0,852	0,021	0,072	0,045	0,01
PIQ26	0,186	0,749	0,042	0,014	0,009
PIQ27	0,279	0,596	0,104	0,012	0,009

	Piq	Oueil	Gam	SOU	P
EST01	0,447	0,094	0,199	0,072	0,189
EST02	0,878	0,038	0,067	0,008	0,01
EST03	0,035	0,11	0,046	0,205	0,605
EST04	0,039	0,042	0,27	0,631	0,018
EST05	0,137	0,808	0,016	0,025	0,013
EST06	0,049	0,021	0,106	0,696	0,129
EST07	0,878	0,041	0,052	0,02	0,009
EST08	0,026	0,009	0,223	0,716	0,026
EST09	0,211	0,73	0,042	0,009	0,008
EST10	0,883	0,035	0,062	0,009	0,01
EST11	0,718	0,127	0,142	0,008	0,005
EST12	0,128	0,526	0,186	0,094	0,067
EST13	0,546	0,321	0,049	0,043	0,041
EST14	0,143	0,782	0,062	0,007	0,006
EST15	0,07	0,104	0,021	0,731	0,073
EST16	0,859	0,093	0,035	0,007	0,006
EST17	0,728	0,145	0,096	0,02	0,01
EST18	0,326	0,042	0,551	0,073	0,008
EST19	0,639	0,306	0,033	0,013	0,009
EST20	0,175	0,553	0,182	0,083	0,008
EST21	0,245	0,645	0,074	0,028	0,008
EST22	0,557	0,073	0,323	0,026	0,021
EST23	0,018	0,93	0,011	0,024	0,017
EST24	0,042	0,026	0,02	0,782	0,13
EST25	0,858	0,056	0,061	0,015	0,01
EST26	0,084	0,872	0,022	0,015	0,006
EST27	0,624	0,079	0,202	0,031	0,065
EST28	0,287	0,621	0,063	0,016	0,013
EST29	0,142	0,09	0,672	0,04	0,055
EST30	0,654	0,286	0,042	0,01	0,008

Annexe : Composition génétique de chaque individu analysé selon les 5 types détectés par l'analyse d'assignation (voir Tableau 2).

Dans tout le tableau: en jaune les valeurs supérieures à 80% (donc possibilité que la truite soit née dans la zone correspondante) et en orange les valeurs supérieures à 90% (presque certitude).

Dans la seule colonne "SOU" (Soueich): les 4 truites en violet peuvent provenir de cette pisciculture. Les deux truites en rose ont moins de chance de provenir de Soueich.