

# Analyse génétique des truites du haut bassin de l'Ariège, affluents Siscar, Bésines, Nabre, Mourgouillou et Najar

## Projet ARI3

Analyses statistiques et rédaction: Patrick BERREBI

Analyses moléculaires: Zhaojun SHAO

Institut des Sciences de l'Evolution, Université Montpellier 2

Tel: 04 67 14 37 32

Mél: [patrick.berrebi@univ-montp2.fr](mailto:patrick.berrebi@univ-montp2.fr)



© FD09



## 1. Introduction

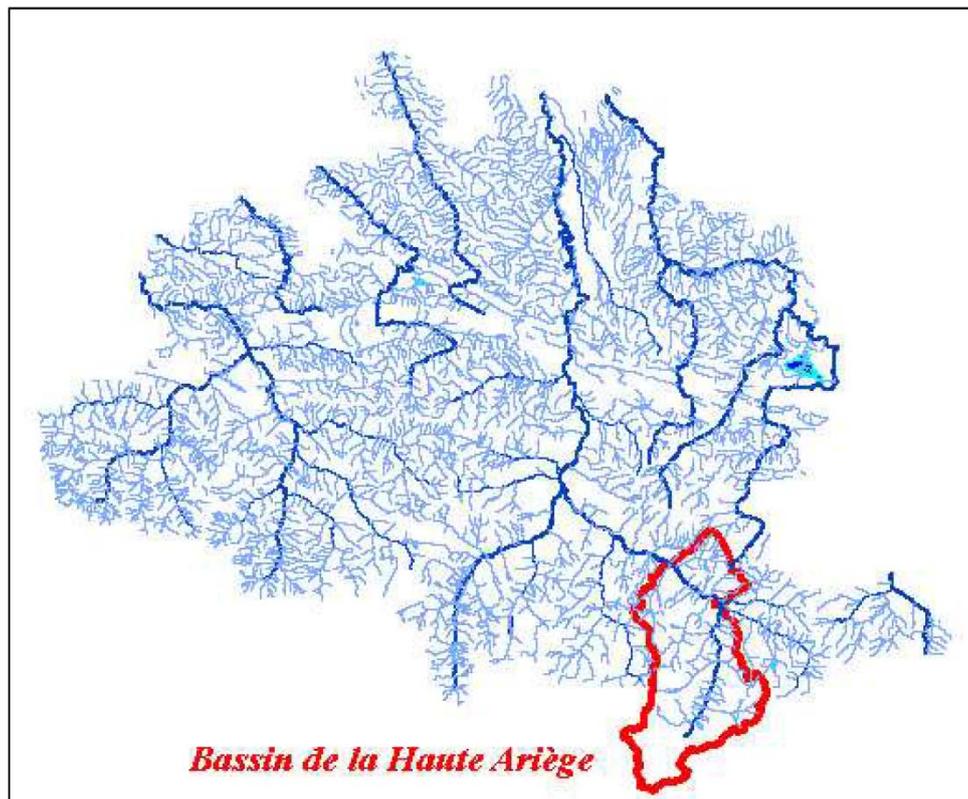
Le projet ARI3 participe à la description génétique des truites du département de l'Ariège. Cette connaissance scientifique de base est nécessaire à la gestion raisonnée des populations naturelles de nos rivières.

Plus spécifiquement, des pêches ont été effectuées dans la Haute Ariège et ses affluents entre août 2008 et août 2013, constituant un échantillonnage de 9 stations qui pourront éventuellement être complétées.

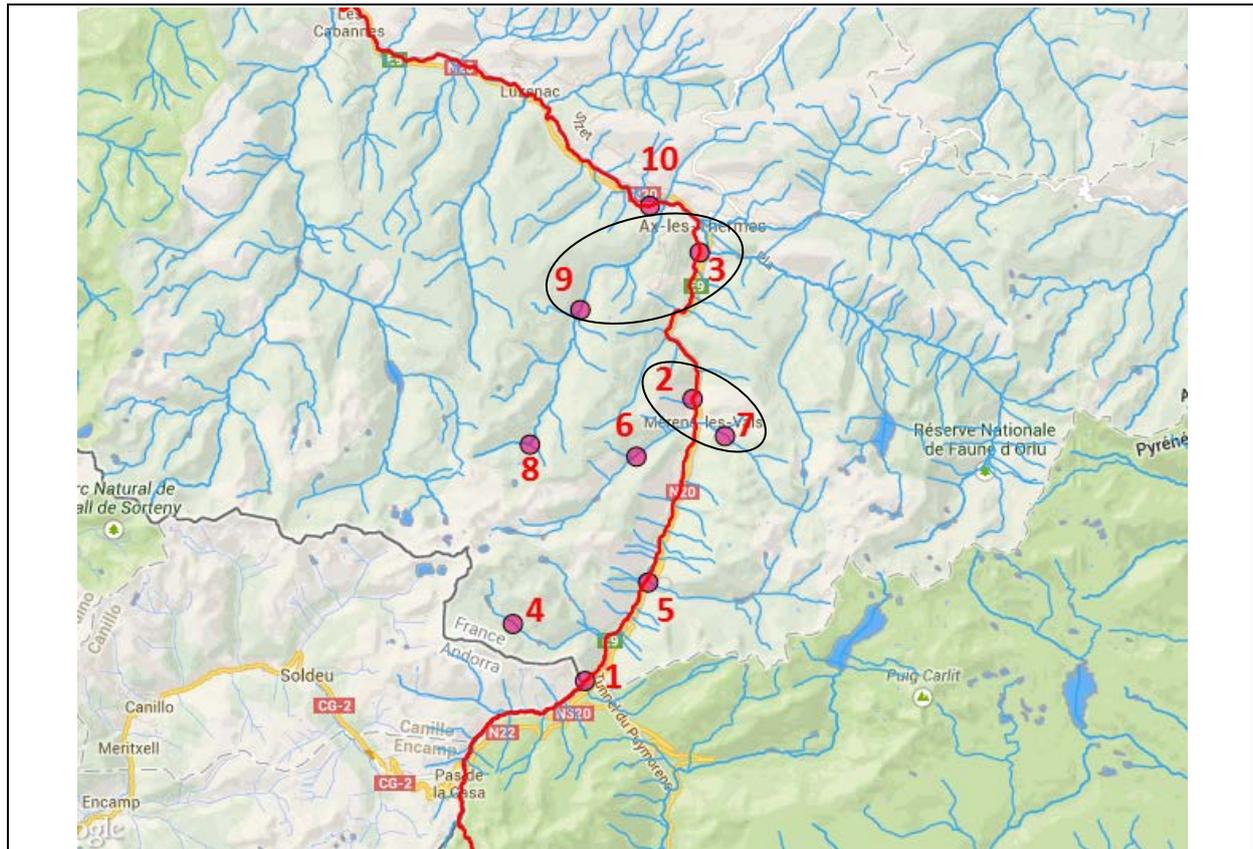
## 2. Echantillonnage

Les 264 truites de Haute Ariège sont parvenues à l'Institut des Sciences de l'Evolution (ISEM) de l'Université Montpellier 2 (UM2) le 26 septembre 2013. Mr Laurent Garmendia est le correspondant de la Fédération de Pêche de l'Ariège (09) auprès de l'ISEM.

La répartition géographique des localités d'échantillonnage est présentée dans les Figures 1 et 2, et les caractéristiques des échantillons dans les Tableaux 1 et 2. Aux échantillons de Haute Ariège ont été rajoutés des échantillons de référence, de types connus, déjà analysés dans le passé (Tableaux 1 et 2). Ils serviront à interpréter les résultats obtenus.



**Figure 1 :** Positionnement de la zone étudiée dans le département de l'Ariège.



**Figure 2** : Localisation géographique des échantillons analysés (voir première colonne du Tableau 1). Les ellipses sont des continuités génétiques détaillées dans la discussion.

N° de station	Code station	Cours d'eau	Station	Commune
<b>1</b>	Ar/Ar/1	<b>Ariège 1</b>	Frontière	L'Hospitalet près l'Andorre
<b>2</b>	Ar/Ar/2	<b>Ariège 2</b>	Pont Arène	Mérens les Vals
<b>3</b>	Ar/Ar/3	<b>Ariège 3</b>	Pont de Savignac les Ormeaux	Savignac les Ormeaux
<b>4</b>	Ar/Sis	<b>Siscar 1</b>	Refuge	L'Hospitalet près l'Andorre
<b>5</b>	Ar/B/2	<b>Bésines 2</b>	Jasse du Pla	Mérens les Vals
<b>6</b>	Ar/Mo/1	<b>Mourgouillou 1</b>	pont de Pierre	Mérens les Vals
<b>7</b>	Ar/Nab/2	<b>Nabre 2</b>	Amont cascade	Mérens les Vals
<b>8</b>	Ar/Nj/1	<b>Najar 1</b>	Esquer d'en dessous	Savignac les Ormeaux
<b>9</b>	Ar/Nj/2	<b>Najar 2</b>	Prat Redoun	Savignac les Ormeaux
<b>10</b>		<b>Ariège GT</b>		Savignac les Ormeaux
<b>11</b>		<b>Hers</b>		Peyrat
<b>12</b>		<b>Arize</b>		Rodes
<b>13</b>		<b>Pisc. Fontanès</b>		
<b>14</b>		<b>Pisc. Seine-Marit.</b>		

**Tableau 1** : Caractéristiques géographiques des échantillons analysés (en jaune) et des échantillons de référence dont des échantillons de piscicultures (en gris)

N° de station	Cours d'eau	N° ISEM des échantillons	N° ISEM des individus	Nombre	Date	Rapport	GS ou GT
1	Ariège 1	L279	T25327-T25361	35	juil-12	ARI3	
2	Ariège 2	L282	T25362-T25391	30	juil-12	ARI3	
3	Ariège 3	L290	T25392-T25424	33	juil-13	ARI3	
4	Siscar 1	L309	T25538-T25569	32	août-13	ARI3	
5	Bésines 2	L293	T25425-T25447	23	juil-12	ARI3	
6	Mourgouillou 1	L317	T25570-T25599	30	sept-09	ARI3	
7	Nabre 2	L302	T25508-T25537	30	juil-12	ARI3	
8	Najar 1	L299	T25478-T25507	21	oct-12	ARI3	
9	Najar 2	L296	T25448-T25477	30	août-08	ARI3	
10	Ariège GT	L405	T20065-T20094	30	août-11	GT2013	GT.005
11	Hers	L322	T25635-T25669	35	août-13	TFP1	
12	Arize	L319	T25600-T25634	35	août-13	TFP1	
13	Pisc. Fontanès	L397	T19962-T19991	30	juin-11	ARI2	
14	Pisc. Seine-Marit.	L267	T16956-T16985	30	2008	GSALM2	GS-36

*Tableau 2 : Caractéristiques techniques des échantillons analysés. Les titres des rapports sont donnés en fin de texte. La colonne "GT ou GS" fait respectivement référence aux nomenclatures des projets nationaux GENESALM et GENETRUTTA.*

### 3. Analyses moléculaires

Les 264 truites ont été analysées au niveau de 6 marqueurs moléculaires: les microsatellites Omy9, 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), effectuées 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;

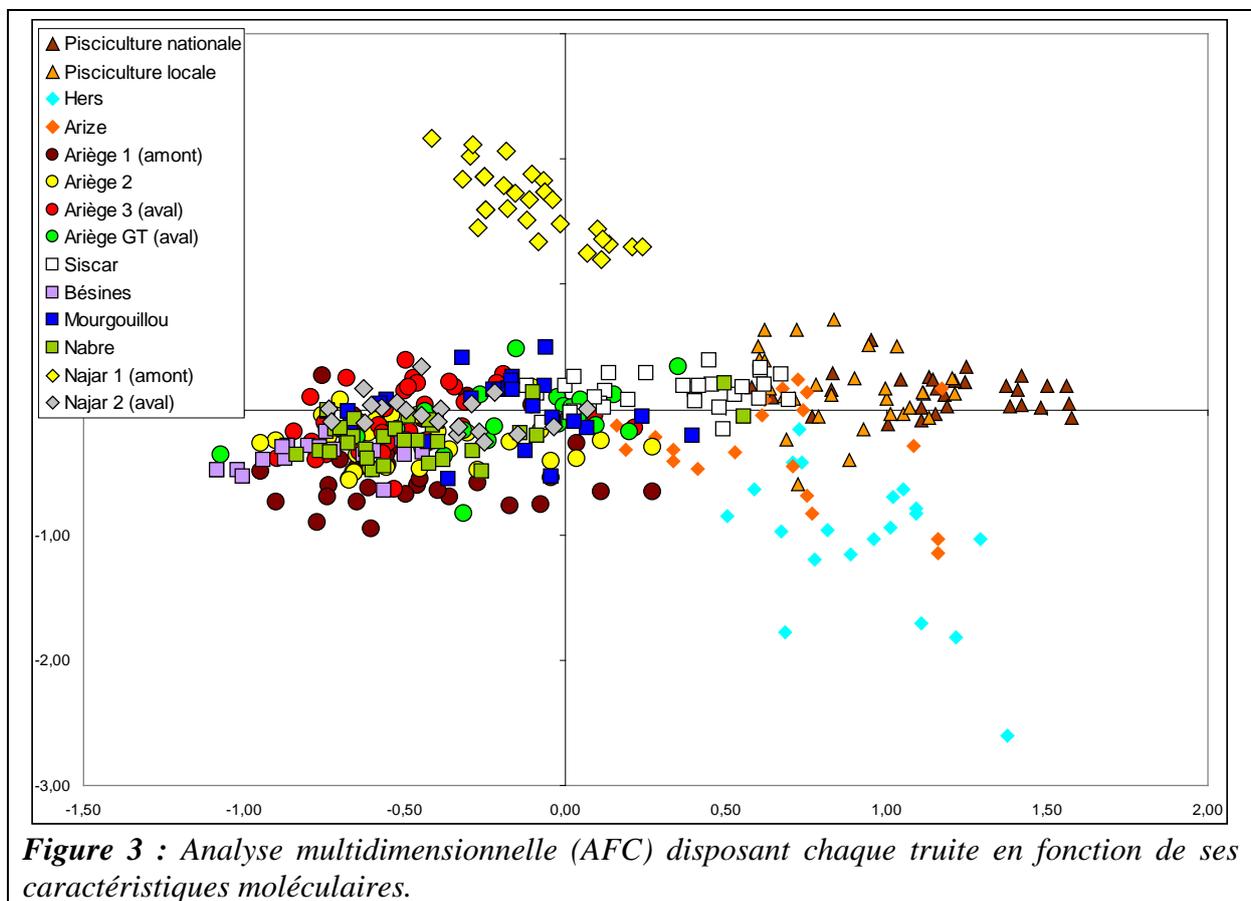
- les paramètres populationnels (ici la diversité génétique  $H_o$  et  $H_{nb}$ , la panmixie  $F_{is}$  et le niveau de différenciation  $F_{st}$ ) sont calculés avec le logiciel GENETIX et permettent d'interpréter les résultats en termes biologiques.

## 5. Résultats

### 5.1. Analyses multidimensionnelles

La Figure 3 positionne toutes les truites analysées en fonction de l'ensemble de leurs génotypes au niveau des 6 marqueurs microsatellites analysés. Ce diagramme permet déjà de distinguer l'essentiel des truites de Haute Ariège qui sont groupées à gauche, opposées aux truites domestiques à droite. Seules les truites du Siscar (carrés blancs) semblent impactées par les formes domestiques. Les truites du Najar amont (losanges jaunes) sont fortement différenciées des truites de l'aval de ce même affluent, mais aussi de tout le reste de l'échantillonnage.

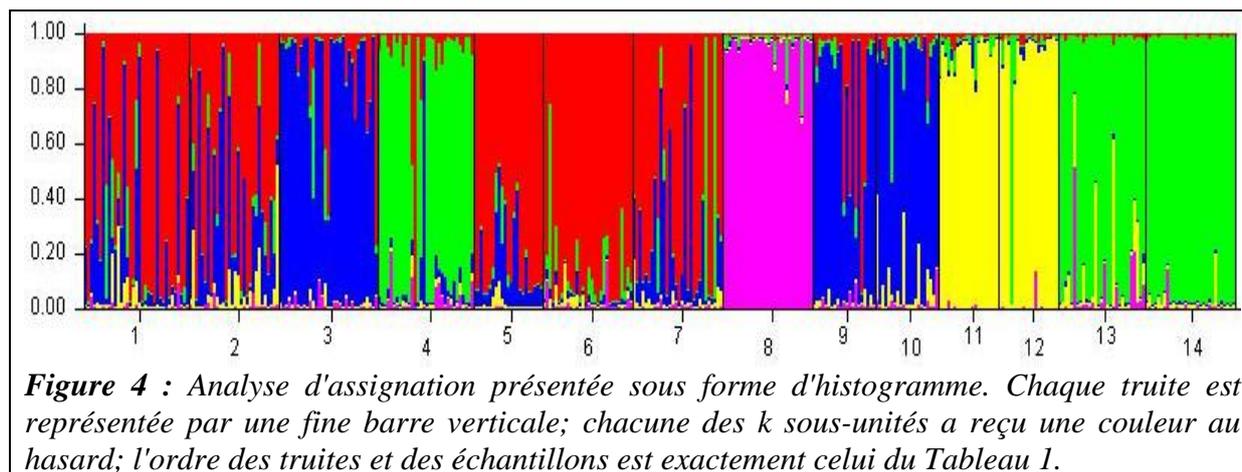
La méthode statistique qui suit (assignation) va permettre de confirmer et de chiffrer les proportions de ces lignées génétiques dans chaque échantillon.



**Figure 3 :** Analyse multidimensionnelle (AFC) disposant chaque truite en fonction de ses caractéristiques moléculaires.

### 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). 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 3 sous forme de pourcentages.



	Ariège amont	Ariège aval	Najar amont	Hers	Domestique
Ariège 1	65	25	1	3	5
Ariège 2	56	32	1	7	4
Ariège 3	12	82	2	1	3
Siscar 1	9	6	3	2	80
Bésines 2	68	28	1	2	3
Mourgouillou 1	87	2	2	2	7
Nabre 2	66	22	1	2	9
Najar 1	1	1	95	1	3
Najar 2	19	74	2	2	3
Ariège GT	3	81	2	8	6
Hers	1	2	1	92	4
Arize	1	1	1	89	7
Pisc. Fontanès	1	1	5	9	84
Pisc. Seine-Marit.	1	1	1	2	95

**Tableau 3 :** Transposition de l'histogramme de la Figure 4 sous forme de pourcentage d'assignation de chaque échantillon analysé aux  $k$  sous-unités détectées. Les couleurs de la Figure 4 ont été conservées. Les valeurs inférieures à 5% peuvent être considérées comme du "bruit de fond" non significatif.

### 5.3. Paramètres populationnels

Le Tableau 4 expose les valeurs des paramètres populationnels des échantillons nouveau et des échantillons de référence à des fins de comparaison. Ces valeurs sont discutées dans le chapitre "Interprétation". Les colonnes à entêtes orange rendent compte de la diversité génétique; les colonnes à entêtes bleues renseignent sur la panmixie (= un type de truite se reproduisant au hasard). Les écarts à la panmixie (valeur significative, dernière colonne) sont explicables par les repeuplements ou des phénomènes biologiques comme la migration.

	Hnb	Ho	A	Fis	signif.
Ariège 1	0,72	0,70	8,8	0,02	ns
Ariège 2	0,72	0,66	8,5	0,09	**
Ariège 3	0,73	0,71	8,2	0,02	ns
Siscar 1	0,62	0,54	6,2	0,13	**
Bésines 2	0,48	0,43	6,0	0,10	ns
Mourgouillou 1	0,58	0,53	6,0	0,09	*
Nabre 2	0,68	0,60	7,0	0,11	**
Najar 1	0,38	0,38	3,7	0,00	ns
Najar 2	0,75	0,62	7,2	0,17	***
Ariège GT	0,70	0,68	6,8	0,03	ns
Hers	0,77	0,66	7,2	0,15	***
Arize	0,70	0,68	6,0	0,03	ns
Pisc. Fontanès	0,74	0,74	7,8	-0,01	ns
Pisc. Seine-Marit.	0,76	0,69	6,5	0,09	**

**Tableau 4 :** Paramètres populationnels des échantillons de Haute Ariège et des échantillons de référence. Les entêtes orange correspondent aux paramètres de polymorphisme; les entêtes bleues aux paramètres d'équilibre panmictique. \*, \*\* ou \*\*\*, indiquent le niveau de significativité du Fis: ns = non significatif (= panmictique). En jaune les populations les plus polymorphes et en vert une population exceptionnellement peu polymorphe.

Le Tableau 5 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 populations comparées.

	AR1	AR2	AR3	SIS	BE2	MOU	NAB2	NAJ1	NAJ2	ARGT	HER	ARZ	PF	PSM
Ariège 1	0	0,03	0,06	0,20	0,12	0,10	0,06	0,31	0,05	0,18	0,20	0,24	0,20	0,21
Ariège 2		0	0,06	0,18	0,13	0,09	0,01	0,32	0,04	0,16	0,20	0,20	0,19	0,20
Ariège 3			0	0,18	0,17	0,16	0,09	0,28	0,00	0,10	0,20	0,22	0,18	0,19
Siscar 1					0,32	0,28	0,20	0,39	0,16	0,26	0,25	0,21	0,15	0,20
Bésines 2					0	0,26	0,17	0,50	0,19	0,27	0,34	0,35	0,32	0,34
Mourgouillou 1						0	0,11	0,37	0,13	0,26	0,29	0,28	0,25	0,24
Nabre 2							0	0,35	0,06	0,19	0,20	0,22	0,20	0,21
Najar 1								0	0,28	0,37	0,40	0,41	0,33	0,35
Najar 2									0	0,11	0,18	0,19	0,16	0,17
Ariège GT										0	0,17	0,20	0,15	0,15
Hers											0	0,17	0,13	0,14
Arize												0	0,18	0,17
Pisc. Fontanès													0	0,05
Pisc. Seine-Marit.														0

**Tableau 5 :** Matrice triangulaire des Fst par paire d'échantillon. Seules les comparaisons en vert ne sont pas significatives. Toutes les autres comparaisons concluent à des différences génétiques réelles entre échantillons testés.

## 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 l'analyse multidimensionnelle (Figure 3) nous montre que la structure génétique globale est essentiellement un continuum entre la lignée naturelle locale (que nous appellerons lignée Ariège) à gauche du diagramme et la lignée domestique à droite. Deux autres lignées sont observables: une est surprenante, constituée par l'amont du Najar et l'autre, dite Hers, réunit les deux stations extérieures (affluents de la Garonne): l'Hers et l'Arize.

L'analyse d'assignation subdivise la lignée Ariège en deux lignées amont et aval. Le Tableau 3 montre bien les proportions de ces lignées qui s'inversent entre Ariège-1 avec 65% de la lignée amont et Ariège-3 et Ariège-GT avec plus de 80% de la lignée aval.

Les affluents ne contiennent pas de lignées distinctes et hébergent des truites du type présent à leur confluence avec l'Ariège: Bésines, Mourgouillou et Nabrè contiennent une large majorité de la lignée Ariège amont tandis que Najar aval est peuplée de la lignée Ariège aval.

Deux exceptions: le Najar amont contient une lignée distincte, et le Siscar est très fortement impacté par les truites domestiques (80%), à tel point qu'il est difficile de dire quel était son type d'origine (Ariège amont: 9%).

Si les échanges amont aval sont possibles mais limités, deux cas démontrent des échanges continus et libres ( $F_{st}$  non significatifs au Tableau 5). Les données génétiques démontrent des échanges continus entre l'Ariège-2 et la station Nabrè aval et entre l'Ariège-3 et Najar aval. Ces continuités sont représentées par des ellipses à la Figure 2.

### 6.2. Hypothèses sur l'origine des lignées observées

La présence domestique est très modeste dans la zone étudiée (3 à 9%) à l'exception notable du Siscar où elle domine à 80%. La diversité des pratiques de repeuplement et de déversement l'explique probablement.

Il est probable que les difficultés de migration entre les zones amont et aval de cette portion de l'Ariège expliquent la différenciation modérée mais significative entre les lignées génétiques Ariège amont et aval. Le fait que chaque station analysée présente un pourcentage de chaque lignée qui s'inverse avec l'altitude montre que le contact n'est pas coupé entre ces lignées. Des truites doivent s'échanger entre l'amont et l'aval, dans les deux sens puisque nous n'avons pas de lignée exclusive à l'amont.

Les affluents sont essentiellement habités par les truites se trouvant à la confluence avec l'Ariège, mais on ne peut pas dire que les échanges sont libres: toutes les populations des affluents sont moins polymorphes que l'Ariège qui contient le plus de variants génétiques (Tableau 4: les échantillons du lit de l'Ariège sont systématiquement plus polymorphes selon les trois paramètres utilisés).

La différenciation génétique du Najar amont s'explique par son isolement, mais aussi sa démographie très faible: il est connu que pour présenter des valeurs de polymorphisme si basses ( $H_{nb}$  et  $H_o$  inférieures à 0,4 et seulement 4 allèles par locus (A)), il faut que la population soit très petite (ou ait subi récemment une forte réduction d'effectif = bottleneck). L'amont du Najar est donc peuplé par une petite population isolée, ce qui accélère la différenciation par dérive génétique.

Il n'y a pas d'explication évidente aux déséquilibres panmictiques (Fis significatifs, Tableau 4) si ce n'est qu'ils sont localisés dans la zone moyenne de la région étudiée; mais plus de données biologiques seraient nécessaires.

La conclusion principale de cette étude est la composition complexe mais naturelle de l'essentiel des stations analysées: 6 des 9 stations analysées présentent moins de 5% de présence domestique, ce qui est à la limite des capacités de détection de la méthode; 2 stations (Mourgouillou et Nabre) sont légèrement impactées par moins de 10%; seul le Siscar en est dominé.

Cet état de fait rend très utile la gestion patrimoniale: le plupart des populations analysées ont prouvé leur pérennité sans apport de truites domestiques, quelque soit le régime de repeuplement appliqué.

*Fait à Montpellier le 19 mars 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.
- Berrebi P., Cherbonnel C., Garmendia L. 2012. Etude génétique des truites communes de 10 stations du sous-bassin de la Bruyante et de ses affluents (rus de Paillère, du Laurenti et de Quérigut). Département de l'Ariège. Rapport d'étude de juillet 2012 pour la Fédération de Pêche de l'Ariège. Université Montpellier 2. 10p.
- Berrebi P. 2013. Cartographie génétique (microsatellites) des peuplements de truites françaises - Programme GENETRUTTA - Rapport de juillet 2013 (GT2013) - 1/3: Rapport d'étude pour la FNPF. Université Montpellier 2. 16p.
- 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.