

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

Rapport final ARI3

Analyses statistiques et rédaction: Patrick BERREBI*

Analyses moléculaires: Zhaojun SHAO*

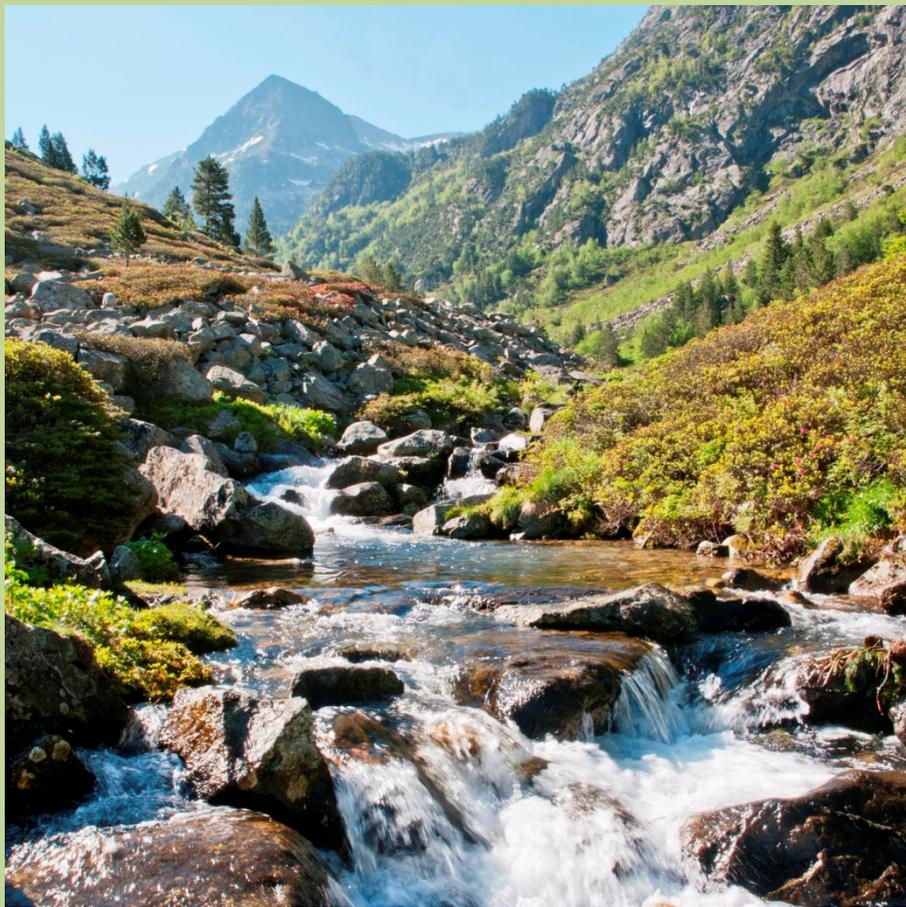
Données écologiques: Laurent GARMENDIA**

*Institut des Sciences de l'Evolution, Université de Montpellier

Tel: 04 67 14 37 32 Mél: patrick.berrebi@univ-montp2.fr

** FDAPPMA de l'Ariège - 09001 Foix cedex

Tel: 05 34 09 31 09 Mél: lgarmendia@peche-ariege.com



Le Nabre © 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 2014, constituant un échantillonnage de 10 stations dont la dernière a été faite tardivement, justifiant la présente version augmentée du précédent rapport ARI3A de mars 2014.

2. Echantillonnage

Les 292 truites de Haute Ariège sont parvenues à l'Institut des Sciences de l'Evolution (ISEM) de l'Université Montpellier 2 (UM2) en septembre 2013 et en octobre 2014. 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 aux Figures 1 et 2, et les caractéristiques des échantillons au Tableau 1. Aux échantillons de Haute Ariège ont été rajoutés des échantillons de truites domestiques, déjà analysés dans le passé (Tableau 1). Ils serviront à interpréter les résultats obtenus.

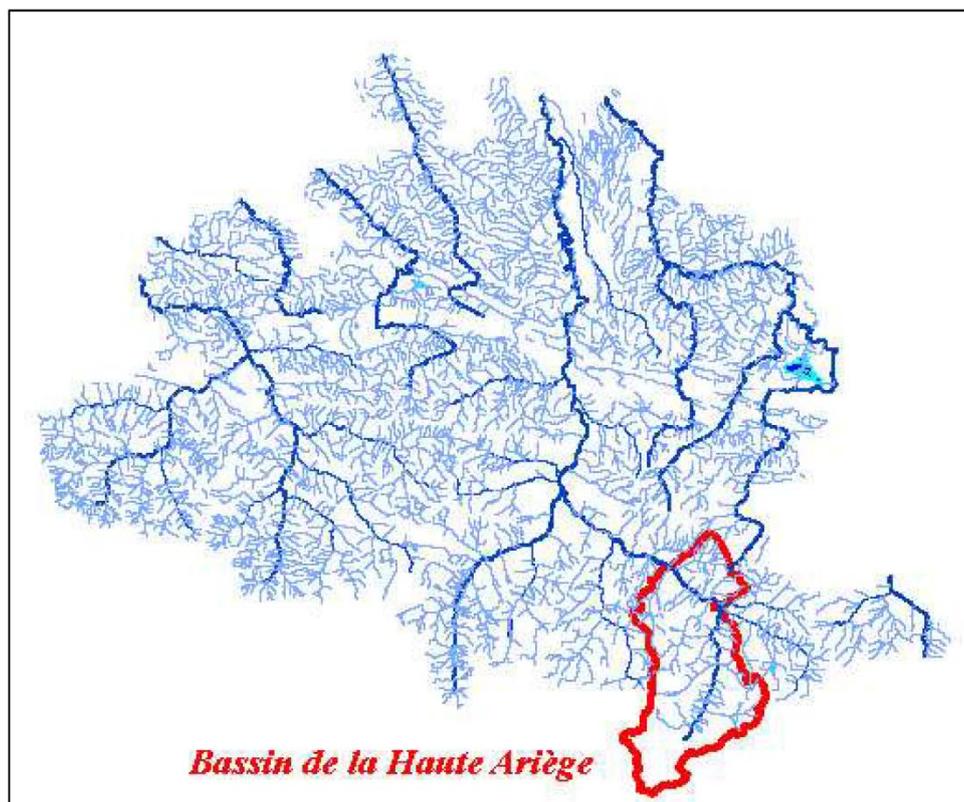


Figure 1 : Positionnement de la zone étudiée dans le département de l'Ariège.

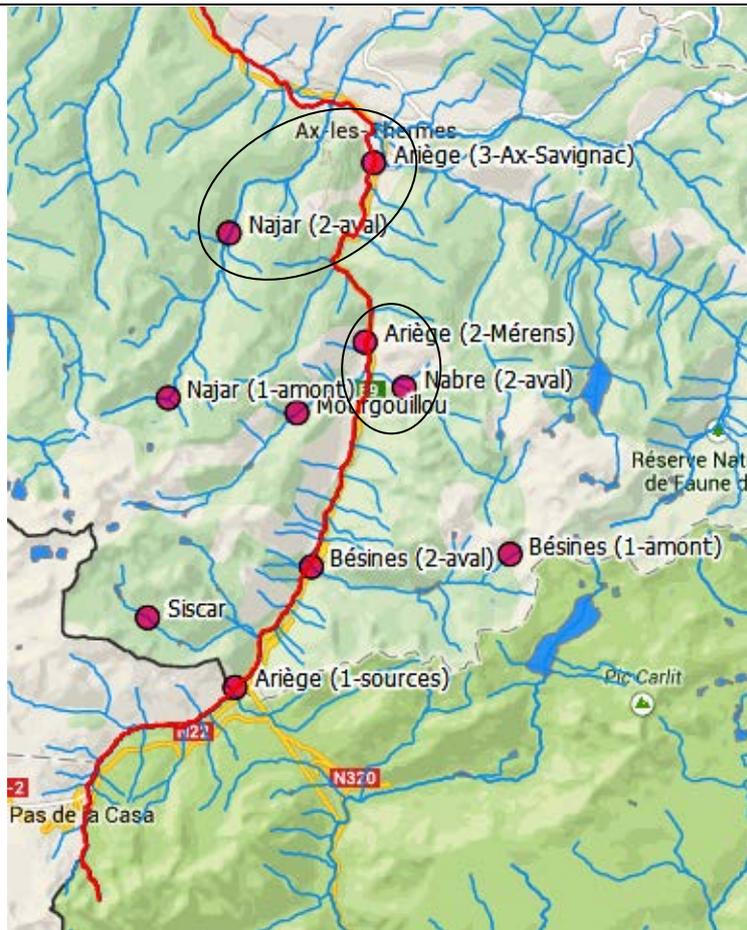


Figure 2 : Localisation géographique des échantillons analysés (détails au Tableau 1). En rouge l'amont de l'Ariège. Les deux ellipses sont des zones de continuité (voir discussion).

N°	Rivière	Station	Altitude	Isolée de l'aval	Nbre	Date	Rapport	N° ISEM échantillons	N° ISEM individus
1	Ariège (1-sources)	Argental	sept.-03	NN AA	35	juil.-05	ARI3A	L279	T25327-T25361
2	Ariège (2-Mérens)	Merens les Vals	nov.-02	NN AA	30	juil.-05	ARI3A	L282	T25362-T25391
3	Ariège (3-Ax-Savignac)	Pont de Savignac	nov.-01	0	33	juil.-05	ARI3A	L290	T25392-T25424
4	Siscar	Jasse de la Vesine	sept.-05	NN A	32	juil.-05	ARI3A	L309	T25538-T25569
5	Bésines (1-amont)	amont queue du lac	mai-05	NN AA	28	juil.-05	ce rapport	L620	T27082-T27111
6	Bésines (2-aval)	amont immédiat conf	juil.-03	N	23	juil.-05	ARI3A	L293	T25425-T25447
7	Nabre (2-aval)	Pont de Vives	avr.-03	NN	29	juin-05	ARI3A	L302	T25508-T25537
8	Mourgouillou	Pont de Pierre	mai-04	NN	30	juil.-05	ARI3A	L317	T25570-T25599
9	Najar (1-amont)	Prat Rodon	nov.-04	NN AA	30	juin-05	ARI3A	L296	T25448-T25477
10	Najar (2-aval)	amont conf Ariège	nov.-01	0	21	juil.-05	ARI3A	L299	T25478-T25507
11	pisciculture Fontanès	-	-	-	29	2011	ARI2	L397	T19962-T19991
12	pisciculture Seine M.	-	-	-	30	2008	GSALM2	L267	T16956-T16985

Tableau 1 : Caractéristiques géographiques des échantillons analysés (en jaune) et des échantillons de référence de piscicultures (en gris). N=isolé de l'aval par un obstacle naturel, NN=plusieurs obstacles naturels, AA=plusieurs obstacles artificiels, 0=sans obstacle important.

3. Analyses moléculaires

Les 292 truites ont été analysées au niveau de 6 marqueurs moléculaires: les microsatellites Oneµ9, Mst85, SSoSI 311, Omy21Dias, Mst543 et SSoSI-438.

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 jaunes) semblent impactées par les apports domestiques. Les truites du Najar amont (losanges jaunes) sont fortement différenciées par rapport aux truites de l'aval de ce même affluent, mais aussi par rapport à 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.

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). Techniquement, il a fallu 50 000 runs de préchauffage suivis de 100 000 répétitions à chaque test répété 5 fois pour chaque valeur de K. La meilleure valeur K a été estimée à 2 grâce au logiciel STRUCTURE HARVESTER. Cependant les valeurs au dessus de 2 sont aussi explorées. La Figure 4 présente ces résultats sous forme d'un histogramme coloré et le Tableau 3 sous forme de pourcentages.

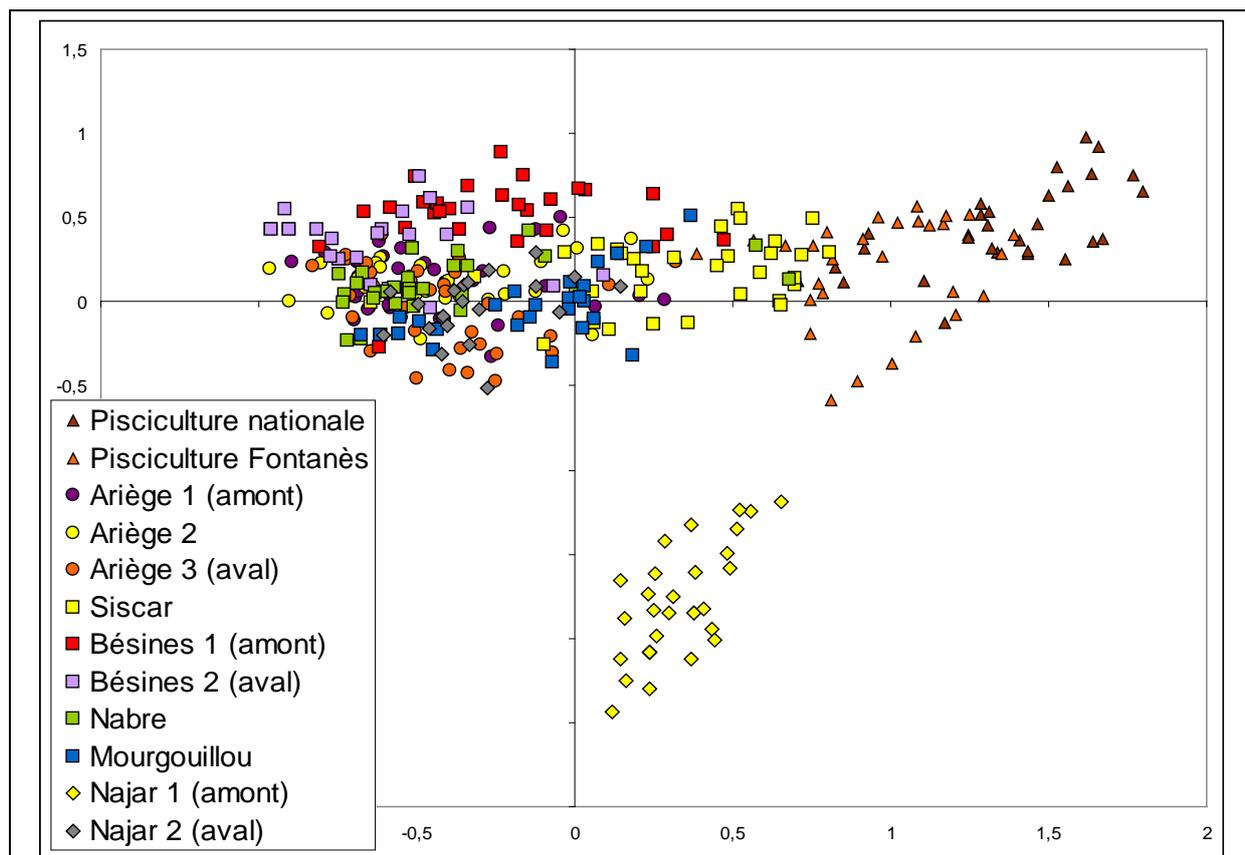
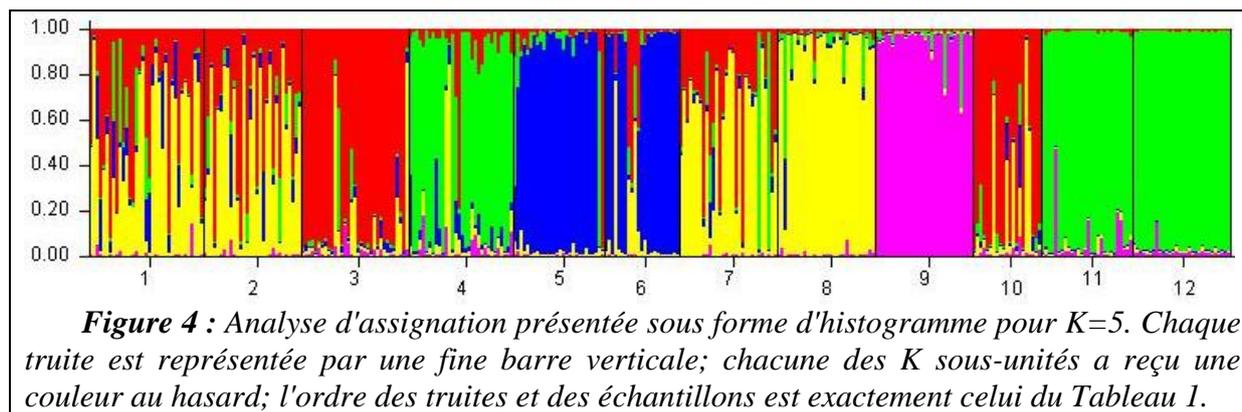


Figure 3 : Analyse multidimensionnelle (AFC) disposant chaque truite en fonction de ses caractéristiques moléculaires. A droite la lignée domestique, à gauche la lignée Haut-Ariège, en bas la particularité "lignée Najar" isolée en amont. Les carrés rouges représentent le nouvel échantillon (Bésines 1, amont).

Ariège 1	1				
Ariège 2	2			1+2+7+8	Ariège amont
Ariège 3	3		1+2+3+7+8+10		
Siscar	4	1+2+3+5+6+7+8 +10	1+2+3+5+6+7 +8+10	3+10	Ariège aval
Bésines 1	5				
Bésines 2	6		5+6	5+6	Bésines
Nabre	7				
Mourgouillou	8		9	9	Najar
Najar 1	9	4+9+11+12			
Najar 2	10		4+11+12	4+11+12	domestiques
pisc. Fontanès	11				
pisc. nat.	12				
		K=2	K=3	K=4	K=5

Figure 4 : Détails du découpage progressif des 12 échantillons (à gauche) en 5 sous-groupes (à droite) par l'analyse d'assignation. Cette présentation de l'assignation en arbre des échantillons est présentée sous forme d'historique (pour K=5) à la Figure 5 et en pourcentages au Tableau 3.



		Ariège amont	Ariège aval	Bésines	Najar	domestique
Ariège 1	1	50	35	9	1	6
Ariège 2	2	52	36	5	1	5
Ariège 3	3	10	83	2	2	4
Siscar	4	8	8	6	3	76
Bésines 1	5	2	6	83	1	8
Bésines 2	6	11	9	77	1	3
Nabre	7	56	30	3	1	9
Mourgouillou	8	88	2	3	1	6
Najar 1	9	1	1	1	95	3
Najar 2	10	18	73	4	2	4
pisc, Fontanès	11	1	1	1	5	92
pisc, nat,	12	1	1	1	1	97

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 attribuées aux entêtes des colonnes. Les valeurs inférieures à 5% peuvent être considérées comme du "bruit de fond" non significatif et mises en gris.

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 (une population en panmixie ne contient qu'une lignée génétique qui se reproduit au hasard). Les écarts à la panmixie (valeur significative, dernière colonne) sont explicables par les repeuplements ou des phénomènes biologiques comme la migration.

Le Tableau 5 donne les valeurs de F_{st} entre chaque paire d'échantillons analysés. Ces valeurs peuvent être considérées comme des distances génétiques indiquant la différenciation entre les populations comparées. Elles sont toutes significatives à l'exception des comparaisons [Ariège 2 (Merens) - Nabre] et [Ariège 3 (Ax) - Najar 2 (aval)] qui donnent une idée de l'étendue des populations de truites non perturbées par un barrage. Ces deux zones de continuité sont représentées par des ellipses en Figure 2.

	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	0,62	0,54	6,2	0,13	**
Bésines 1	0,67	0,61	7,0	0,09	ns
Bésines 2	0,48	0,43	6,0	0,10	ns
Nabre	0,68	0,60	7,0	0,11	**
Mourgouillou	0,58	0,53	6,0	0,09	*
Najar 1	0,38	0,38	3,7	0,00	ns
Najar 2	0,75	0,62	7,2	0,17	***
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 domestiques.

- Les entêtes orange correspondent aux paramètres de polymorphisme (**Hnb** est l'hétérozygotie non biaisée, c'est la diversité théorique qu'on aurait en panmixie, corrigée par la taille de l'échantillon; **Ho** est l'hétérozygotie observée c'est à dire la diversité réelle mesurée, **A** est le nombre moyen de variants ou mutants par marqueur);

- les entêtes bleues aux paramètres d'équilibre panmictique. *, ** ou ***, indiquent le niveau de significativité du Fis: ns = non significatif (= panmictique, c'est à dire que toute la population se reproduit au hasard entre ses membres).

- En jaune les populations les plus polymorphes et en vert une population exceptionnellement peu polymorphe.

	AR1	AR2	AR3	SIS	BE1	BE2	NAB	MOU	NAJ1	NAJ2	PFont	Pnat
Ariège 1	0	0,03	0,06	0,20	0,12	0,12	0,06	0,10	0,31	0,05	0,20	0,21
Ariège 2		0	0,06	0,18	0,13	0,13	0,01	0,09	0,32	0,04	0,19	0,20
Ariège 3			0	0,18	0,14	0,17	0,09	0,16	0,28	0,00	0,18	0,19
Siscar				0	0,20	0,32	0,20	0,28	0,39	0,16	0,15	0,20
Bésines 1					0	0,08	0,16	0,25	0,43	0,14	0,20	0,23
Bésines 2						0	0,17	0,26	0,50	0,19	0,32	0,34
Nabre							0	0,11	0,35	0,06	0,20	0,21
Mourgouillou								0	0,37	0,13	0,25	0,24
Najar 1									0	0,28	0,33	0,35
Najar 2										0	0,16	0,17
pisciculture de Fontanès											0	0,05
pisciculture nationale												0

Tableau 5 : Matrice triangulaire des Fst par paire d'échantillon. Seules les comparaisons en vert ne sont pas significatives (les deux populations comparées sont identiques). Toutes les autres comparaisons concluent à des différences génétiques réelles entre échantillons testés. Les valeurs en orange sont les plus élevées.

6. Interprétation des résultats, discussion

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 truites naturelles à gauche du diagramme et lignée domestique à droite. Une autre lignée se distingue, constituée par l'amont du Najar.

L'analyse d'assignation subdivise les truites de l'Ariège en deux lignées baptisées "amont" et "aval". Le Tableau 3 montre bien les proportions de ces lignées qui s'inversent entre Ariège-1 avec 35% et Ariège-3 avec plus de 80% de la lignée aval. Cette évolution progressive amont-aval est la marque d'une part de la fondation historique des populations de truites de tout le sous bassin (à l'origine, toutes les truites de la région étaient semblables) et d'autre part des échanges actuels, essentiellement amont-aval (dévalaisons), probablement limités.

Les affluents présentent des lignées distinctes dans le ruisseau des **Bésines**, de l'amont à la confluence (différenciation de niveau moyenne vis-à-vis des trois stations de l'Ariège: $F_{st}=0,13$) et dans le **Najar** amont (différenciation de niveau élevé avec $F_{st}=0,30$).

Le **Siscar** est dominé par les truites domestiques.

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 (voir ellipses en Figure 2).

6.2. Hypothèses sur l'origine des lignées observées

Faible présence domestique

La présence domestique est très modeste dans la zone étudiée (3 à 9%) à l'exception notable du Siscar où elle domine à 76%. La diversité des pratiques de repeuplement et de déversement l'explique sans doute.

Déséquilibres panmictiques

Il n'y a pas d'explication évidente aux déséquilibres panmictiques (F_{is} 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.

Structure naturelle

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 totalement coupé entre ces lignées.

Les affluents présentent soit des lignées propres, signe d'un isolement ancien (milliers d'années), comme le Najar amont et le ruisseau des Bésines, soit des populations dérivées de la lignée Ariège (amont ou aval). Les échanges entre l'Ariège et ses affluents non différenciés (donc hors Najar amont et Bésines) sont importants avec le Nabrè et le Najar aval (F_{st} nul) mais limité avec le Mourgouillou. Le Tableau 4 nous montre que toutes les populations des

affluents sont moins polymorphes que celles du lit de l'Ariège qui contient le plus de variants génétiques (Tableau 4: les échantillons du lit de l'Ariège sont systématiquement plus polymorphes aux trois paramètres utilisés).

Cas particuliers

Le cas du **Mourgouillou** est particulier. A cause de sa cascade aval de près de 30 mètres, il est impossible aux truites de remonter et probablement aussi de dévaler. Cette population à l'amont de la cascade est génétiquement proche de celle de l'Ariège, et spécialement de l'Ariège 2 (niveau Mérens) avec un F_{st} inférieur à 0.1 (Tableau 5). Il est donc probable que les truites au pied de la cascade soient génétiquement proches à la fois de la population amont et de celle de l'Ariège. Cette continuité de part et d'autre d'une cascade de 30 mètres est surprenante. La seule hypothèse serait que la population amont du Mourgouillou garderait très longtemps les caractéristiques génétiques ancestrales, une sorte de ralentissement évolutif. La situation est donc très différente de celle du Najar amont.

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 (paramètre A)), il faut que la population soit très petite (ou ait subi récemment une forte réduction d'effectif = un bottleneck). L'amont du Najar est donc peuplé par une petite population isolée, ce qui accélère la différenciation vis à vis de l'Ariège par dérive génétique. Les petites populations isolées sont fragiles car un accident climatique limité peut les faire disparaître. C'est surtout sa taille, plus que son faible polymorphisme, qui la met en danger (puisque le faible polymorphisme provient de sa petite taille). Toutefois aucune action humaine ne pourra changer cet état de fait: dans une petite rivière, ajouter des truites par alevinage ou translocation n'aura pour effet, au plus, que le remplacement des autochtones par des introduites (bien que peu probable pour les domestiques). Gardons à l'esprit que la capacité d'accueil de la rivière définie comme la surface d'habitat et de reproduction favorable couplée aux conditions environnementales régissant la réalisation du cycle biologique (la station Najar amont est à 1790m d'altitude) n'est pas modifiable.

Il est probable que le maintien d'une population artificielle dans le **Siscar** démontre des échanges très limités entre cet affluent et l'Ariège. Cette observation de ruisseaux d'altitude peuplés de truites domestiques a déjà été faite un peu partout en France (la station du Siscar étudiées ici est à 2100m d'altitude). Ce phénomène s'explique généralement par l'absence de truites naturelles dans ces zones pourtant salmonicole. La survenue d'évènements naturels très négatifs comme le gel total de ces cours d'eau, même tous les siècles ou tous les millénaires, couplée d'un obstacle infranchissable à la remontée à l'aval, rend de nombreux ruisseaux et torrents d'altitude stérile en truites. Le braconnage à l'eau de Javel peut avoir le même effet dans ce type de ruisseau. L'introduction de la moindre truite domestique dans ces zones permet le développement d'une population artificielle. Il est intéressant de noter que dans certains cas (comme le Siscar amont), cette lignée domestique réputée pour être peu robuste, peut fonder des populations pérennes (jusqu'au prochain gel ou assèchement total) y compris dans des conditions extrêmes. Le polymorphisme élevé des truites domestiques doit permettre à ces souches peu robustes de contenir quelques individus rustiques ayant conservé cette capacité d'adaptation. Ces rares individus peuvent donc devenir dominants dans ces circonstances extrêmes.

Synthèse

La conclusion principale de cette étude est la composition complexe mais naturelle de l'essentiel des stations analysées: 5 des 10 stations présentent 5% ou moins de présence domestique (5% est à la limite des capacités de détection de la méthode); 4 stations (Ariège

amont, Bésines amont, Nabre et Mourgouillou) sont légèrement impactées par moins de 10%; seul le Siscar en est dominé.

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

Fait à Montpellier le 26 janvier 2015

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.