

Composition génétique des truites de la Bidouze

Étude complémentaire au rapport Genetrutta de 2013 dans les Pyrénées-Atlantiques

Rapport PA2



© <http://alblogrj.over-blog.org/>

Analyses statistiques et rédaction: Patrick BERREBI
Institut des Sciences de l'Evolution, Université Montpellier 2, Tél: 04 67 14 37 32,
Mél: patrick.berrebi@univ-montp2.fr

Analyses moléculaires: David SCHIKORSKI,
Laboratoire Genindexe, 6, Rue des Sports, 17000 La Rochelle, Tél: 05 46 30 69 66,
Mél: d.schikorski@genindexe.com

Analyse écologique: Fabrice MASSEBOEUF,
Fédération des Pyrénées-Atlantiques pour la Pêche et la Protection du Milieu Aquatique, 12, Bvd Hauterive - 64000
PAU, Tél: 05 59 84 98 53,
Mél: f.masseboeuf@federationpeche64.fr



1. Introduction

La gestion raisonnée des truites de nos rivières nécessite de pouvoir distinguer d'une part les truites sauvages des domestiques issues d'alevinages, et d'autre part les différentes lignées génétiques naturelles d'une région. Cette description de la structure génétique des truites est un outil nécessaire à l'application de gestions adaptées à chaque cas. Une zone à truites très majoritairement naturelles montre, si les populations sont en bonne santé démographique, que tout alevinage est inutile. Deux populations naturelles génétiquement distinctes, même voisines, même amont/aval d'une rivière, ne devraient pas subir de translocation (à l'occasion de pêche de sauvetage par exemple). Une population essentiellement domestique à la limite aval de la zone salmonicole a probablement besoin d'un maintien de l'alevinage. Chaque population analysée doit être considérée différemment.

Les analyses effectuées sur les truites du présent projet fournissent ces données de base nécessaires à la gestion adaptée de ces populations. Les diverses analyses statistiques appliquées ici ont pour but de décrire la présence domestique dans la région, de rechercher les structures géographiques naturelles, d'alerter sur les populations apparemment trop peu diversifiées (mortalité récente...) et de décrire tout autre phénomène génétique ou démographique qui pourrait intéresser les gestionnaires.

La présente étude avait 2 objectifs :

- Compléter la précédente étude GENETRUTTA 2013, (GT2013) et notamment l'échantillonnage du bassin de la Bidouze (qui provenaient de 2 affluents et sous-affluents) avec un échantillon provenant du cours d'eau principal pour le resituer par rapport aux autres populations pyrénéennes.
- Intégrer la pisciculture de Lées-Athas (INRA) non étudiée jusqu'à présent afin de la comparer avec les échantillons de précédentes études (GT2013, notamment), nombres de cours d'eau ayant été alevinés dans le département à partir de celle-ci (gave d'Aspe ou Saison, par exemple).

2. Echantillonnage

L'échantillonnage des truites analysées ici a été constitué d'une part par Joëlle Chat (INRA de St-Pée-sur-Nivelle) pour les échantillons de la pisciculture de Lées-Athas de février 2014 et par la Fédération Départementale pour la Pêche et la Protection du Milieu Aquatique des Pyrénées-Atlantiques (FD64) lors des pêches électriques de mars 2014. Un total de 20 extraits d'ADN (pisciculture) et de 20 échantillons de nageoires conservés dans des tubes d'alcool (Bidouze) ont été remis à l'Institut des Sciences de l'Évolution (ISEM) de l'Université de Montpellier (UM) respectivement les 4 avril et 30 juin 2014. Fabrice Masseboeuf est le correspondant de la FD64 auprès de l'ISEM.

La distribution géographique des stations est précisée à la Figure 1. La composition et les caractéristiques des échantillons sont présentées au Tableau 1. Aux nouveaux échantillons ont été

rajoutés pour comparaison des échantillons de truites de rivières géographiquement proches (des Pyrénées Atlantiques) déjà analysés dans le passé et un échantillon domestique national. L'ensemble des données permettra de produire des résultats interprétables.

La difficulté a été de trouver des échantillons de référence déjà analysés au niveau de 12 microsattellites (grande précision). De ce fait, l'essentiel des échantillons de référence proviennent des analyses de Genetrutta (Tableau 1).



Figure 1 : Répartition géographiques des échantillons nouveaux (Lées-Athas et Bidouze) et de référence analysés dans le présent rapport. Les numéros de stations et les détails techniques sont donnés au Tableau 1.

n° carte	Station	Bassin	Sous-bassin	Nombre	Date	Rapport	Référence Genesalm (GS) ou Genetrutta (GT)	n° ISEM échantillon	n° ISEM individus
1	Nive d'Arnéguy	ADOUR	Nive	12	20/03/2014	TFP1	-	L568	T26165-T26176
2	Bidouze	ADOUR	Bidouze	20	19/03/2014	TFP1 & PA2	-	L566	T26125-T26144
3	Harambelzko erreka	ADOUR	Bidouze	10	02/10/2012	GT2013	GT.073B	L140	T24781-T24790
4	Hestapeko erreka	ADOUR	Bidouze	10	02/10/2012	GT2013	GT.073A	L105	T24771-T24780
5	Saison	ADOUR	Oloron	20	27/06/2012	GT2013	GT.071	L092	T24731-T24750
6	Gave d'Aspe	ADOUR	Gave d'Oloron	33	01/09/2011	GT2014	GT.004	L412	T20267-T20299
7	Souye	ADOUR	Luy	20	04/09/2012	GT2013	GT.072	L101	T24751-T24770
8	pisciculture Léés Athas	P	64	20	11/02/2014	TFP1 & PA2	GT.100	L443	T26033-T26052
9	pisciculture Isère	P	38	30	2008	GSALM2	GS-37	L266	T16926-T16955

Tableau 1 : caractéristiques des échantillons analysés lors de la présente étude (en jaune). Ont été rajoutés des échantillons de référence dont un échantillon de pisciculture (en gris). Le rapport PA2 est le présent document.

3. Méthodes

3a. Méthodes moléculaires

Chaque truite a été génotypée (détermination des deux allèles provenant de ses deux parents) au niveau de 12 loci microsatellites (Oneμ9, Mst85, Ss0SL-311, Omy21DIAS, Mst543, SSoSI-438, Sf01, Ssa197, Omm1105, SSoSI-417, Str591, et StrBS 131). Ce haut niveau de précision (les analyses courantes sont à 6 marqueurs) a été décidé dans l'espoir de différencier l'impact des déversements de truites domestiques dans la Bidouze en essayant de reconnaître celles provenant de la pisciculture locale (positionnée sur le Gave d'Aspe) de Léés-Athas.

Les génotypes obtenus ont permis de construire la matrice de données à la base de tous les calculs qui suivent.

3b. Méthodes statistiques

Classiquement, trois types d'analyses statistiques permettent de comprendre la structure, la composition et parfois l'histoire des peuplements analysés.

- L'**analyse multidimensionnelle** (ici l'Analyse Factorielle des Correspondances ou AFC traitée par le logiciel GENETIX) est considérée comme un débroussaillage rapide des données faisant apparaître les grandes lignées présentes dans les échantillons analysés et dans les échantillons de référence.

- L'**analyse d'Assignment** (ici avec le logiciel STRUCTURE) recherche le meilleur découpage de l'ensemble des truites analysées de façon à regrouper celles qui se ressemblent le plus et pourraient appartenir à la même population (sous-groupes à l'équilibre génétique). La partie la plus délicate est de déterminer le nombre de sous-groupes le plus pertinent (K). K est automatiquement déterminé par la méthode d'Evanno grâce au logiciel en ligne STRUCTURE HARVESTER, mais les autres valeurs de K peuvent aussi être explorées.

- Les **paramètres populationnels** sont de divers types. Certains décrivent la diversité génétique de chaque population; un autre décrit l'équilibre panmictique (reproduction au hasard

de toutes les truites de la population); un autre détermine la quantité de différence génétique entre populations prises 2 à 2 (voir chapitre 4c).

Ces paramètres permettent d'interpréter les résultats génétiques.

4. Résultats

4a. Analyse multidimensionnelle

La Figure 2 positionne chaque truite (= un point) dans un hyperspace mathématique. Ce diagramme permet de voir les regroupements (= nuages) caractéristiques des types génétiques en présence dans l'échantillonnage total (échantillons de la présente étude et échantillons de référence).

Cette analyse est globale et donne les grands traits de la structure de l'échantillonnage.

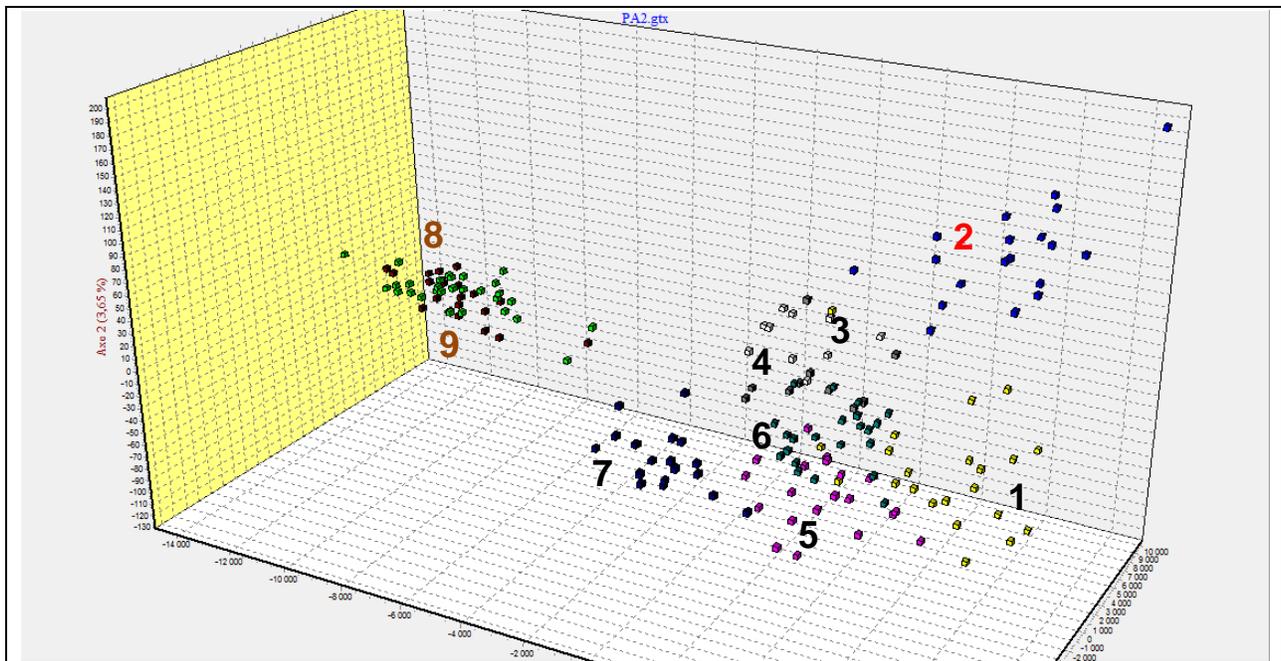


Figure 2 : Positionnement de toutes les truites génotypées (de la présente étude et des échantillons de référence) dans un hyperspace dont le graphique présente une version simplifiée à deux dimensions. Globalement cette analyse met en relief l'isolement des truites domestiques (numéros bruns à gauche) vis-à-vis de l'ensemble des truites de rivière (numéro rouge = Bidouze; numéros noirs = échantillons sauvages de référence). La Bidouze apparaît comme entièrement sauvage et proche des échantillons 3 et 4.

4b. Analyse d'assignation

L'analyse d'assignation permet de découper l'échantillonnage total (truites de la présente étude et des échantillons de référence) en K sous-unités en équilibre populationnel, sans tenir compte de l'appartenance de chaque truite à un échantillon géographique. Le logiciel d'aide à la décision, STRUCTURE HARVESTER, suggère que K=2, mais ce niveau de découpage ne nous apporte rien et les autres valeurs de K peuvent aussi être explorées.

La Figure 3 donne l'histogramme obtenu pour K=5. Il permet de déterminer la composition de chaque échantillon en pourcentages des K sous-unités détectées.

La Figure 4 représente l'évolution des sous-groupes quand K augmente de 1 à 8. Elle permet de suivre les regroupements et de remarquer que le groupe des deux piscicultures ne se scinde jamais alors que tous les autres échantillons sont isolés.

Le Tableau 2 transpose l'histogramme coloré en pourcentages pour K=5.

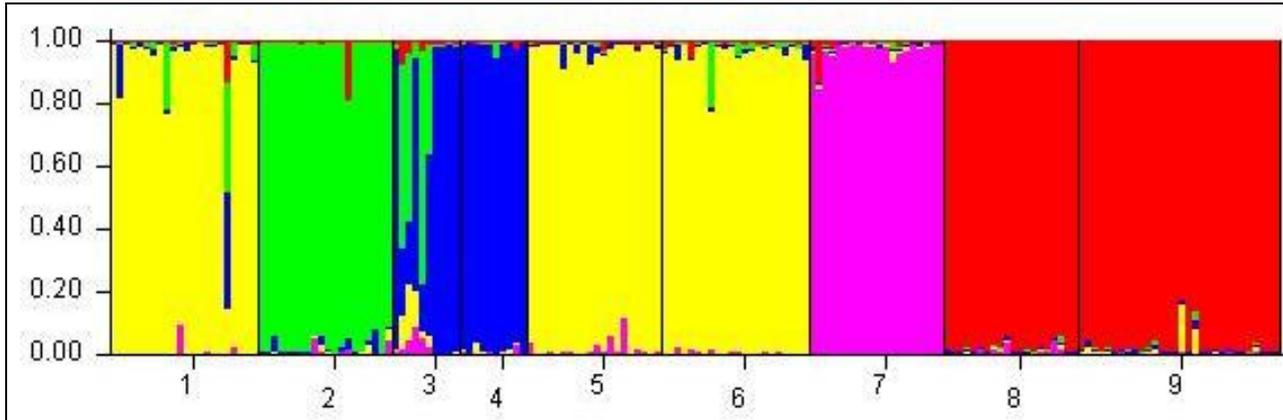


Figure 3 : Présentation de l'analyse d'assignation sous forme d'histogramme coloré. Les couleurs sont distribuées au hasard aux K sous unités détectées. Chaque truite est représentée par une fine ligne verticale. Les numéros des échantillons sont ceux du Tableau 1.

K=1	K=2	K=3	K=4	K=5	K=6	K=7	K=8	
					1	1	1	Piémont
			1+5+6	1+5+6		5	5	
					5+6			
		1+5+6+7				6	6	
			7	7	7	7	7	Souye
	1 à 7			2	2	2	2	Bidouze 1
		2+3+4	2+3+4				3	Bidouze 2
				3+4	3+4	3+4		
							4	
	8+9	8+9	8+9	8+9	8+9	8+9	8+9	domestiques

Figure 4 : Présentation de l'analyse d'assignation sous forme arbre détaillant chaque niveau de découpage de K=2 à K=8. Les types génétiques observés pour K=5 sont nommés à droite. Les couleurs des groupes respectent celles de la Figure 3. De cet arbre, on peut déduire que la

souche domestique ne se rapproche d'aucun échantillon de truites de rivière (donc pas d'impact domestique) puisqu'elle se sépare des truites de rivière dès $K=2$, que les types Souye et Piémont sont proche entre eux, de même que les deux types Bidouze sont très ressemblants (seul l'étape $K=8$ les sépare).

n° carte	Station	Piémont	Bidouze 1	Bidouze 2	Souye	domestiques
1	Nive d'Arnéguy	91	4	3	1	1
2	Bidouze	1	96	1	1	1
3	Harambelzko erreka	5	23	68	3	2
4	Hestapeko erreka	1	1	97	1	1
5	Saison	96	1	2	2	1
6	Gave d'Aspe	95	2	1	1	1
7	Souye	1	1	1	97	1
8	pisciculture Léés Athas	0	0	1	1	98
9	pisciculture Isère	1	0	1	0	97

Tableau 2 : Composition de chaque échantillon analysé et des échantillons de référence en pourcentages des K sous-unités génétiques détectées. Les valeurs égales ou inférieures à 5 sont à la limite de sensibilité de la méthode (= bruit de fond). Les couleurs des entêtes sont celles de la Figure 3. Les cellules à pourcentage majoritaire pour l'échantillon sont en jaune.

Toutes ces représentations répondent aux questions posées, à savoir :

- Les truites domestiques sont bien génétiquement séparées des populations étudiées
- Les poissons du Gave d'Aspe et du Saison ne proviennent pas de la pisciculture de Léés-Athas
- Il semble y avoir une logique de différenciation génétique des populations du BV de la Bidouze assez conforme à leur éloignement géographique (Cours d'eau principal < affluent direct (Harembeltz) < sous-affluent (Hestape))

4c. Paramètres populationnels

Les analyses de composition ou de structure (multidimensionnelle et d'assignation) ne sont pas les seules à apporter des informations. Les paramètres populationnels sont particulièrement importants pour obtenir des informations biologiques sur les populations analysées.

n° carte	Station	Hnb	Ho	A	Fis	signific.
1	Nive d'Arnéguy	0,74	0,66	9,25	0,10	**
2	Bidouze	0,58	0,55	5,42	0,05	ns
3	Harambelzko erreka	0,62	0,54	4,17	0,13	*
4	Hestapeko erreka	0,65	0,59	4,50	0,09	ns
5	Saison	0,74	0,63	8,58	0,15	***
6	Gave d'Aspe	0,77	0,68	8,83	0,12	***
7	Souye	0,57	0,49	5,25	0,14	***
8	pisciculture Léés Athas	0,64	0,55	4,92	0,14	***
9	pisciculture Isère	0,67	0,67	6,25	0,00	ns

Tableau 3 : Paramètres populationnels donnant des informations sur le polymorphisme (en têtes orange), et la panmixie (entêtes bleues). ns = non significatif (=population en panmixie), *, ** et *** = niveau de significativité ou de sûreté de l'écart à la panmixie.

Ainsi les paramètres H (c'est l'hétérozygotie ou diversité génétique) et A (nombre moyen de variants, ou mutants, par marqueur microsatellite : au-dessus de 5 ou 6 le polymorphisme est considéré comme fort) renseignent sur le polymorphisme de chaque population. Ho est la diversité génétique brute observée et Hnb est cette même diversité telle qu'elle serait si la population était panmictique (reproduction au hasard entre tous ses membres, donc présence d'une seule lignée). L'écart entre Ho et Hnb permet de calculer le Fis qui renseigne sur cette panmixie. Le Tableau 3 donne les résultats obtenus ainsi que leur niveau de significativité. Au-delà de 0,10, l'écart à la panmixie est considéré comme fort, mais seulement si le Fis est significatif.

Les Fst mesurent la différenciation génétique entre populations prises deux par deux (Tableau 4). Avec une valeur maximale de 1 (quand aucun variant n'est commun, elle est considérée comme forte à partir de 0,10, mais seulement si elle est aussi significative, ce qui est toujours le cas ici.

n° carte	Station	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	Nive d'Arnéguy	0	0,17	0,11	0,15	0,06	0,05	0,20	0,18	0,18
2	Bidouze		0,00	0,17	0,20	0,19	0,15	0,26	0,28	0,26
3	Harambelzko erreka			0,00	0,18	0,13	0,11	0,24	0,19	0,19
4	Hestapeko erreka				0,00	0,11	0,10	0,22	0,21	0,21
5	Saison					0,00	0,02	0,16	0,17	0,16
6	Gave d'Aspe						0,00	0,18	0,14	0,14
7	Souye							0,00	0,24	0,25
8	pisciculture Léés Athas								0,00	0,03
9	pisciculture Isère									0

Tableau 4 : Matrice triangulaire des Fst par paire d'échantillon. Toutes les comparaisons sont hautement significatives (***) et concluent à des différences génétiques réelles entre échantillons testés.

5. Interprétation - discussion

Deux questions récurrentes méritent des commentaires.

5a. Impact des alevinages en truites domestiques atlantiques.

Les analyses génétiques ne sont possibles que par comparaison des truites de nature inconnue (celles qui font l'objet de cette étude) avec les truites de référence connue. En ce qui concerne les truites domestiques, une étude récente (Bohling et al. en cours de publication) a montré que ce qui peut être appelé "souche domestique atlantique nationale", issue de travaux de sélection de l'INRA dans les années 90, représentait la grande majorité des alevinages. C'est cette souche que

nous avons appelée ici "pisciculture nationale". Nous avons aussi ajouté une souche particulière (celle de la pisciculture de Lées-Athas) car sa participation aux alevinages locaux est connue. Toutefois, si une autre souche inconnue a été utilisée dans la zone étudiée, les estimations seront faussées sans que nous le sachions.

Dans la zone étudiée ici, les alevinages proviennent pour l'essentiel des piscicultures de Cauterets (65), de Lées-Athas (64) et de Pédéhourat (64, mais interrompue depuis 2006). La pisciculture de Cauterets ayant toujours entretenu plusieurs souches de type différent, il n'est pas possible de reconnaître son influence éventuelle. La pisciculture de Lées-Athas s'est montrée identique à la souche nationale (ici une pisciculture à forte production dans l'Isère) puisque ces deux échantillons ont été assignés à la même lignée pour $K=5$ (Figure 3 et Tableau 2) et même pour $K=8$ (Figure 4) et leur Fst très faible de 0,03 (Tableau 4)

Il ressort de cette étude que les échantillons naturels des Pyrénées Atlantiques ne présentent aucune trace de présence domestique. Les 1 et 2% rapportés au Tableau 2 sont du "bruit de fond" de la méthode (homoplasie, erreurs de lecture) sans significativité.

Les alevinages de la Bidouze provenaient de Pédéhourat (ancienne pisciculture fédérale 64 de 1996 à 2006). Dans la Pisciculture de Pédéhourat, la constitution du pool de géniteurs s'est faite à partir d'œufs produits à Cauteret et d'alevins de la pisciculture de l'AAPPMA de Campan (Hautes-Pyrénées comme Cauteret). Les alevins produits à Pédéhourat sont donc très probablement de la souche domestique nationale dite INRA-SEMII, similaire à l'échantillon 9 de la présente étude.

5b. Structure des peuplements naturels

La composition en lignées naturelles des truites étudiées fait apparaître 4 sous-unités sauvages principales (Figures 3 et 4; Tableau 2).

Comment comprendre cette structure génétique géographique: d'abord les Fst nous montrent qu'aucune paire d'échantillon ne contenait des truites génétiquement identiques (y compris entre les deux piscicultures élevant pourtant la même souche). C'est la marque d'une absence d'échanges récents, ce qui est attendu pour des sous-bassins, mais constitue une information pour les trois localités de la Bidouze.

L'arbre présenté en Figure 4 est une bonne description du problème: qu'est-ce qu'une lignée génétique? Pouvons-nous considérer que dans la zone étudiée il y a 7 lignées (pour $K=8$) ? Le choix a été d'aller assez loin pour que le sous-bassin de la Bidouze qui nous intéresse ici révèle sa structure : les affluents Harambeltzko et Hestapeko erreka sont génétiquement plus proche entre eux que vis-à-vis de la population centrale de la Bidouze.

Les truites vivant sur les pentes des Pyrénées (Nive d'Arnéguy, Saison et Gave d'Aspe) forment une lignée nommée ici "piémont".

La Souye est distincte.

Quand on compare ces résultats à ceux obtenus par assignation lors d'études précédentes :

- dans le rapport GT-PA1 : Saison et Gave d'Aspe étaient de la lignée "Saison" (donc équivalente à la lignée "Piémont" ici. Par contre la Nive d'Arnéguy formait sa propre lignée éponyme. La souille avait aussi sa propre lignée. Harambeltzko et Hestapeko erreka étaient dans la même lignée baptisée "Bidouze". Donc seule la Nive d'Arnéguy différait dans ce rapport.

Dans le rapport TFP1, seule la Nive d'Arnéguy était commune au présent échantillonnage.

En conclusion, il faut retenir de ce rapport que toutes les stations analysées sont purement sauvages (déjà observé sur certaines des stations dans les rapports GT-PA1 et TFP1). D'autre part, la structure génétique naturelle regroupe les stations de la Bidouze entre elles et les stations

du piémont pyrénéen (Arnéguy, Saison et Aspe) tandis que la Souye se distingue des autres localités.

Enfin, bien que différentes (Fst significatif), les deux piscicultures étudiées (Pyrénées Atlantiques et Isère) ne forment qu'une souche génétique.

Fait à Montpellier le 12 mars 2015

6. Références bibliographiques

- 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, and Genindex. 2013.** Analyse génétique de truites du département des Pyrénées Atlantiques (Luy de France, Saison et Bidouze) dans le cadre du programme national Genetrutta (12 microsatellites) - Projet GT-PA1 - Rapport de mai 2013: Etude pour la FD 64, Université Montpellier 2. 10p. ([GT-PA1](#))
- Berrebi P, Shao Z, and Schikorski D. 2014.** Cartographie génétique (microsatellites) des peuplements de truites françaises - Programme GENETRUTTA - Septembre 2014 (GT2014) - 2/3: Rapport d'étude pour la FNPF, Université Montpellier 2. 24p. ([GT2014](#))
- Berrebi P, Schikorski D. 2014.** Structuration génétique des truites pyrénéennes - Ariège, Haute Garonne et Pyrénées Atlantiques - Projet TFP1: Rapport d'étude pour l'association TFP, Université Montpellier 2. 6p. ([TFP1](#))
- Bohling J, Shao Z, Haffray P, Berrebi P. soumis 2015.** Genetic diversity and population structure of domestic brown trout (*Salmo trutta*) in France.