

A la recherche de populations de truites sauvages dans les rivières d'Indre-et-Loire (2016: Choisille de Chenusson et ruisseau du Doigt)

Projet IetL3



Ruisseau du Doigt (affluent de l'Indre) © FD37

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

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



1. Introduction

La gestion moderne des truites *Salmo trutta* en France nécessite de justifier chaque action. Il est nécessaire d'établir des plans de gestion couvrant plusieurs années dans lesquels les différences de traitement de chaque zone doit être expliquée par les connaissances accumulées par les gestionnaires locaux.

C'est dans ce cadre que la génétique des populations de truites, par une description objective du cheptel, peut aider à faire des choix adaptés. Ainsi telle région ou tel affluent peuplé de truites ancestrales (celles qui habitaient là avant l'arrivée de l'homme) peut justifier une protection énergétique (réserve ou limitation des prélèvements par les pêcheurs) et tel rivière, abritant quasiment qu'une population d'origine domestique, peut justifier la poursuite des rempoissonnements à partir de la production d'une pisciculture.

Le présent rapport présente les résultats d'analyse sous trois angles principaux: (i) il fournit une estimation de la proportion de gènes domestiques détectés dans les deux stations échantillonnées, puis, faisant abstraction de l'apport artificiel éventuel (ii) il décrit la structure géographique des différentes lignées génétiques naturelles habitant la zone étudiée, permettant de mettre en garde contre un mélange de souches naturelles, considéré comme néfaste au maintien de la biodiversité de l'espèce. Enfin (iii) les paramètres populationnels de la diversité génétique permet de détecter les populations en difficulté démographique ou ayant subi des mélanges récents.

2. Echantillonnage

Dans le présent travail, 20 truites provenant de 2 stations de l'Indre-et-Loire ont été échantillonnées par la Fédération Départementale pour la Pêche et la Protection du Milieu Aquatique d'Indre-et-Loire (FD37). Les échantillons de nageoires conservés dans l'alcool ont été livrés à l'Institut des Sciences de l'Evolution de Montpellier (ISEM) situé sur le campus Triolet de l'Université de Montpellier (UM) le 9 septembre 2016. Monsieur Grégoire Ricou est le correspondant de la FD37 auprès de l'ISEM.

Aux nouveaux échantillons, ont été rajoutés des échantillons de référence pour représenter les lignées Loire moyenne (Brenne), Indre (Calais), Loir (Clarté Dieu et Thironne), Creuse (Rémillon), Vienne (amont) ainsi que domestiques. Si ces lignées sont présentes dans les nouveaux échantillons, elles pourront être reconnues.

La liste des échantillons est précisée au Tableau 1 et leur localisation à la Figure 1.

N° carte	Station	Nb	ss bassin	Date	Dept	Rapport	N° ISEM	Indiv. ISEM
1	Choisille de Chenusson	10	Loire moyenne	juin-16	37	letL3	L722	T29707-T29716
2	Doigt	10	Indre	juin-16	37	letL3	L723	T29717-T29726
3	Clarté Dieu	10	Loir	août-15	37	letL2	L671	T28716-T28725
4	Brenne	10	Loire moyenne	août-15	37	letL2	L672	T28726-T28735
5	Rémillon	20	Creuse	oct.-14	37	GT-letL	L637	T27583-T27602
6	Calais	7	Indre	oct.-14	37	GT-letL	L636	T27576-T27582
7	Thironne	10	Loir	juin-13	28	GT-EetL	L187	T25043-T25052
8	Vienne	10	Vienne	nov.-08	87	GSALM2	L227	T16038-T16047
9	pisciculture en Isère	10	-	juin-05	38	GSALM2	L266	T16926-T16935

Tableau 1: caractéristiques des deux échantillons nouveaux (en jaune), des échantillons de référence (en blanc) et d'un échantillon de pisciculture nationale (en gris).

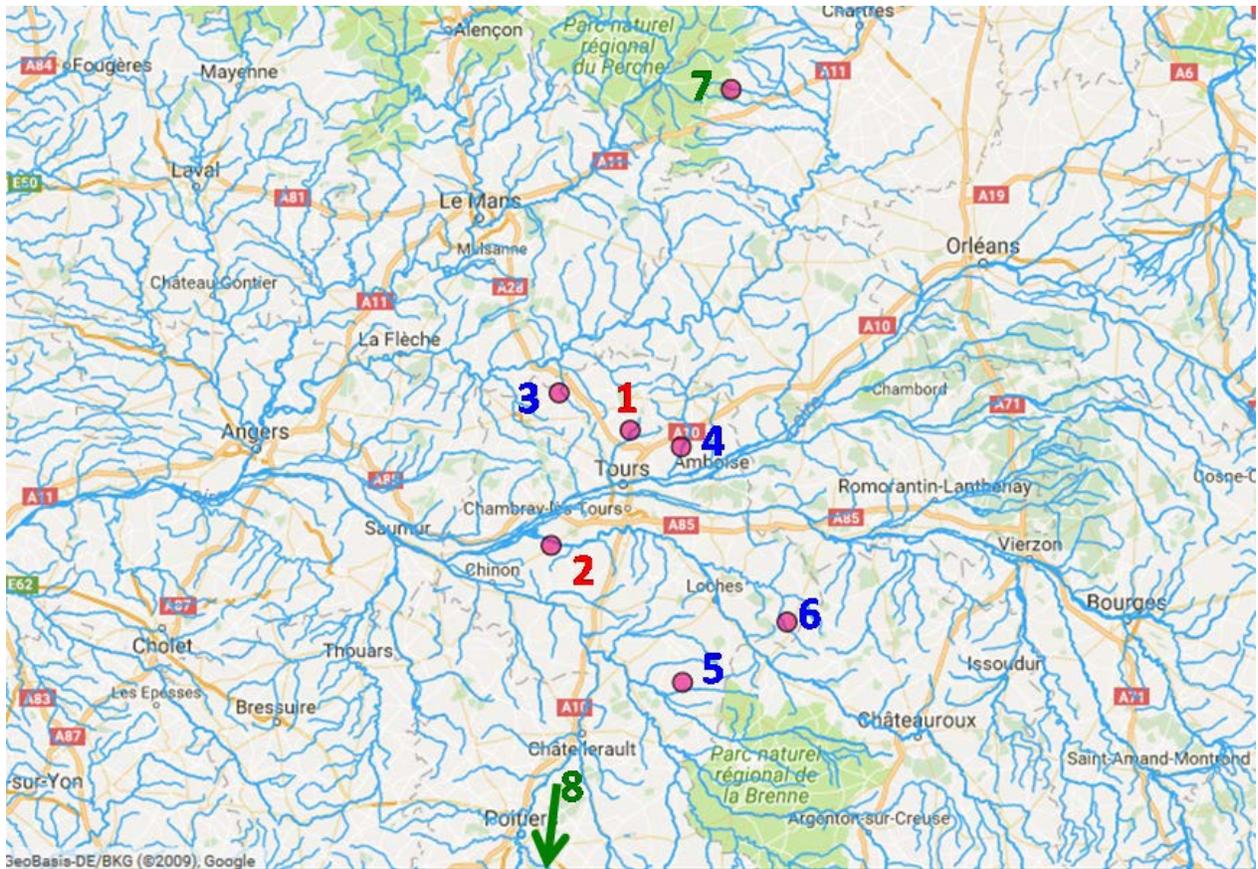


Figure 1: Localisation des deux nouveaux échantillons (en rouge) et des stations de référence (en bleu). La station de la Vienne amont (n°8) se trouve loin au sud et l'échantillon de pisciculture (n°9) n'est pas représenté. La Loire est en rouge.

3. Méthodes

3.1. Méthode moléculaire

Chaque truite est caractérisée par son génotype: c'est l'ensemble des variants aux différents gènes (les allèles) légués par son père et par sa mère (donc 2 allèles par gène).

Pour des raisons pratiques, les gènes étudiés sont des microsatellites. On parle de locus car ce sont des gènes neutres, sans fonction connue.

Pour la présente étude (étendue géographique limitée), il est préconisé d'analyser 6 locus microsatellites. L'expérience passée a permis de choisir les locus suivants: One μ 9, Mst85, SSoSI-311, Omy21Dias, Mst543 et SSoSI-438. L'ensemble des allèles (12) aux locus analysés (6) permet de décrire le génotype de chaque truite.

La génétique des populations appliquée à la gestion des truites nécessite des échantillons de références, généralement déjà analysés par l'ISEM et donc sans frais, de types bien connu (différents types domestiques et sauvages de la région étudiée). Ils permettent de caractériser les nouveaux échantillons par comparaison.

L'ensemble des truites analysées et des échantillons de référence constituent la matrice de génotypes à la base de tous les calculs permettant de comprendre la structure du cheptel étudié.

3.2. Méthodes statistiques

Il est nécessaire de traiter statistiquement la matrice de génotypes pour comprendre la composition, la structure et l'origine des truites nouvellement analysées. Pour cela une suite de trois méthodes est appliquée suivant les travaux scientifiques les plus récents.

3.2.1. L'analyse multidimensionnelle

C'est la première méthode employée car elle permet un débroussaillage global de l'échantillonnage et des références. L'analyse choisie est l'Analyse Factorielle des Correspondances (AFC), traitée par le logiciel GENETIX, qui permet de placer dans un graphique toutes les truites analysées par des points dont la position dépend du génotype: plus deux truites sont génétiquement semblables, plus elles seront proches sur le graphique, plus deux truites sont différentes et plus elles seront éloignées. Les regroupements de points ou "nuages" correspondent aux lignées présentes dans l'échantillonnage.

3.2.2. L'analyse d'assignation

Plus sophistiquée, l'analyse d'assignation utilise l'intelligence artificielle. Par apprentissage, le logiciel (ici c'est STRUCTURE) teste un grand nombre de découpages de l'échantillonnage en K sous-unités. Sous le modèle du meilleur équilibre génétique populationnel, le logiciel améliore chaque découpage successif pour aboutir à la meilleure solution, qui correspond aux différentes lignées présentes dans l'échantillonnage. Plusieurs niveaux de partition (K) sont testés et le meilleur nombre de sous-groupe est suggéré par un logiciel d'aide à la décision STRUCTURE HARVESTER. Les autres valeurs de K sont cependant étudiées.

3.2.3. L'analyse des paramètres populationnels

Les paramètres populationnels sont nombreux en génétique des populations. Deux d'entre eux ont été choisis (i) les paramètres de diversité génétique des échantillons (Hnb, Ho et A) et (ii) un paramètre de panmixie (Fis: il teste si les truites d'une population se sont reproduites entre elles, ce qui permet de détecter les immigrations comme lors d'un repeuplement).

4. Résultats

4.1. Analyse multidimensionnelle

L'analyse présentée en Figure 2 montre l'analyse multidimensionnelle de 8 échantillons: la référence Vienne était trop différente des tous les autres échantillons et gênait l'analyse. On remarque un étirement des points le long de l'axe 1, horizontal, le plus informatif. A droite les truites domestiques et à gauche les truites sauvages de Loire moyenne (Choisille et Brenne). Dans l'amas de droite, séparés par l'axe 2 vertical, on observe une cohérence géographique: les échantillons du Loir se distinguent vers le haut (Clarté Dieu et Thironne), ceux de l'Indre vers le bas (Doigt et Calais). L'échantillon de la Creuse (Rémillon) et domestique sont au milieu.

Beaucoup d'échantillons semblent "attirés" par la lignée domestique, démontrant a priori des truites hybridées. Mais pour en être sûr, l'analyse d'assignation qui suit est nécessaire.

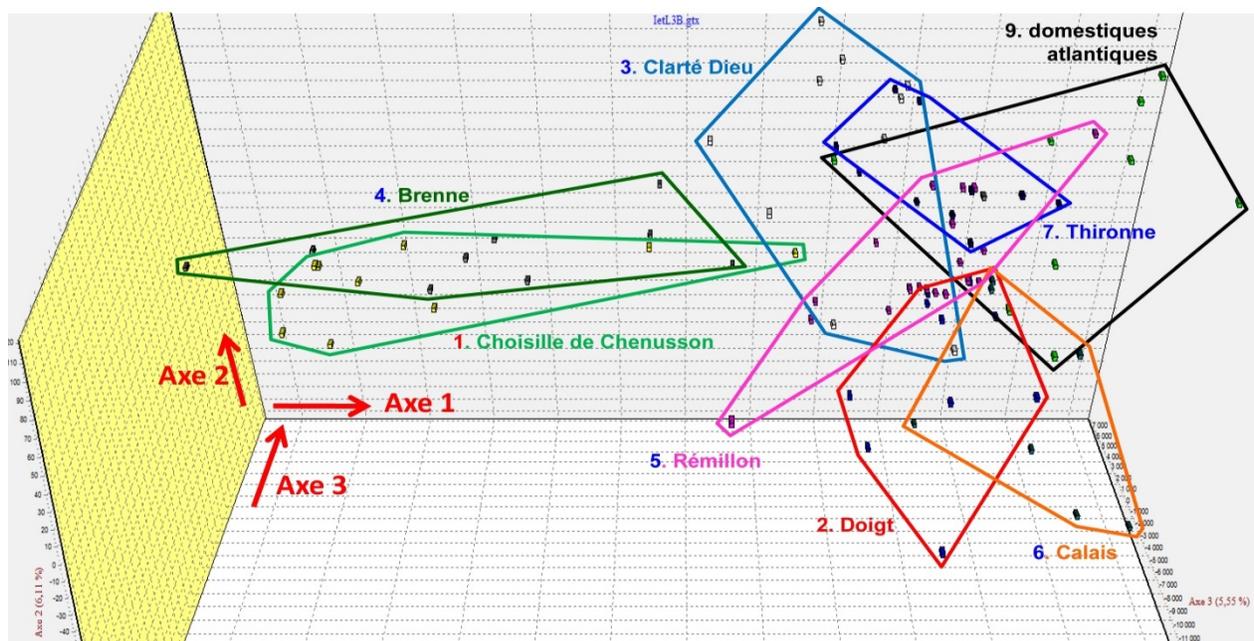


Figure 2: Analyse multidimensionnelle donnant un aperçu de la diversité génétique observée: Loire moyenne à gauche (en vert), domestiques à droite (en noir), Loir en haut en bleu), Indre en bas (en rouge-orange) et Creuse au milieu (en rose).

4.2. Analyse d'assignation

Cette analyse a de fortes capacités pour distinguer les lignées, mais parallèlement elle est délicate à utiliser. Ici, les 97 truites ont été analysées avec 50 000 découpages aléatoires de "chauffe" (burn in) suivis de 100 000 découpages de recherche de la meilleure partition en $K=2$ à 7 sous-groupes. Chaque analyse est répétée 5 fois pour tester la stabilité des résultats. STRUCTURE HARVESTER reconnaît la partition en $K=7$ comme la plus informative, cependant, en analysant les découpages de 2 à 12, la partition en $K=6$ correspond le mieux à une structure géographique logique (Figure 3): les lignées Loire moyenne, Creuse, Indre, Loir, Vienne et domestique sont parfaitement reconnaissable et le doute sur la nature sauvage de la lignée Loire moyenne n'ont plus lieu d'être puisque la lignée Indre est caractérisée.

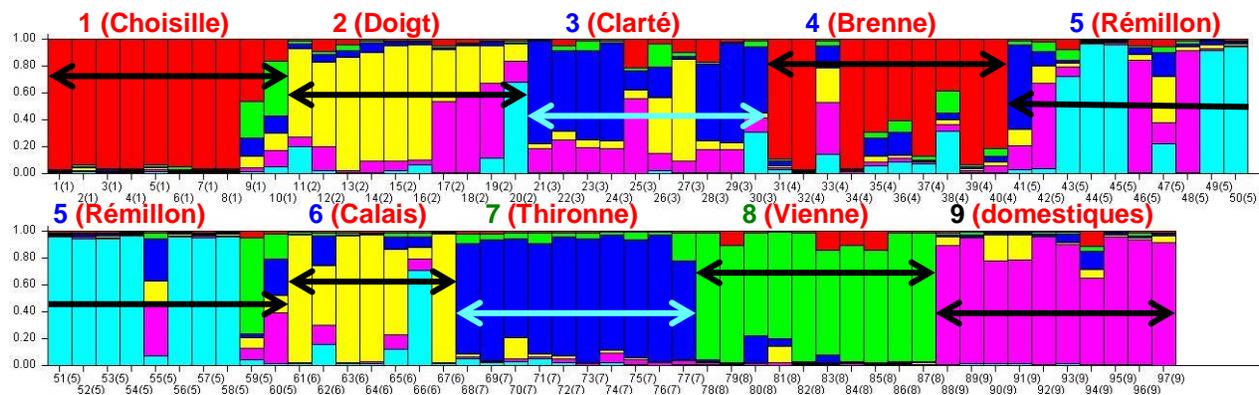


Figure 3: Analyse d'assignation mettant en évidence les différentes lignées sauvages et la lignée domestique en rose. Chaque rectangle vertical correspond à une truite. Le décompte exact de ces lignées et donnée au Tableau 2.

N° carte	Station	ss bassin	Loire moy.	Creuse	Indre	Loir	Vienne	Domestique
1	Choisille de Ch.	Loire moyenne	83	2	3	3	8	2
2	Doigt	Indre	3	11	56	3	2	24
3	Clarté Dieu	Loir	6	4	14	59	4	13
4	Brenne	Loire moyenne	71	8	4	7	5	5
5	Rémillon	Creuse	2	58	6	10	7	17
6	Calais	Indre	1	15	70	6	2	5
7	Thironne	Loir	1	3	3	82	9	3
8	Vienne	Vienne	5	1	2	3	88	1
9	piscic. Isère	-	2	1	4	3	1	88

Tableau 2: Transposition de l'histogramme de la Figure 3 en pourcentages. Les couleurs des cellules des pourcentages d'assignation. Le "bruit de fond" de la méthode statistique est de 5%. Une lignée n'est présente que si son pourcentage est au-dessus de 5%. Au-dessus de 10%, la présence de la lignée correspondante est considérable. Les couleurs des entêtes reproduisent celles de l'histogramme de la Figure 3.

4.3. Analyse des paramètres populationnels

Les deux cours d'eau analysés en 2016 montrent une diversité normale, voire élevée, et un équilibre panmixique (toutes les truites se reproduisent ensemble, sans impact des apports extérieurs) (Tableau 3). Ce sont les valeurs attendues pour des populations en bonne santé.

N° carte	Station	Hnb	Ho	A	Fis	signif.
1	Choisille de Chenusson	0,60	0,61	3,2	-0,01	ns
2	Doigt	0,70	0,67	4,8	0,05	ns
3	Clarté Dieu	0,75	0,83	5,8	-0,11	ns
4	Brenne	0,66	0,63	5,5	0,04	ns
5	Rémillon	0,70	0,62	6,8	0,12	*
6	Calais	0,64	0,50	3,5	0,23	*
7	Thironne	0,53	0,55	3,7	-0,05	ns
8	Vienne	0,67	0,67	6,2	0,00	ns
9	pisciculture en Isère	0,65	0,63	4,3	0,03	ns

Tableau 3: Paramètres populationnels calculés sur les 9 échantillons. Les deux échantillons de rivière de 2016 ont une diversité comparable à celles de la région (entêtes jaunes) et sont en équilibre de panmixie (entêtes orange).

5. Interprétation et discussion

5.1. Impact des repeuplements

Les pourcentages de présence domestique se trouvent au Tableau 2: négligeable dans la Choisille de Chenusson, important dans le Doigt (24%).

Dans le ruisseau du Doigt, les 4 dernières truites sont des hybridées entre la lignée locale (en jaune, Figure 3) et la forme domestique (en rose). La présence de la lignée Creuse (bleu clair) dans le ruisseau du Doigt n'est pas explicable et correspond peut-être à un artefact. Cette présence de truites hybrides (assez faible : 2 truites hybrides) montre que dans le passé, certaines truites

domestiques se sont croisées avec les sauvages. Sur l'ensemble de l'analyse, 7 truites sur 97 (soit 7 %) sont des poissons hybrides ce qui est relativement faible sur des cours d'eau qui ont tous fait l'objet de déversements de poissons. La présence domestique décelée surtout dans le ruisseau du Doigt (24%), le Rémillon (17%) (28 % dans le rapport de 2014) et la Clarté Dieu (13%) (3 % dans le rapport 2015) correspond à des hybridations sauf deux truites du Rémillon purement domestiques (nées en pisciculture) donc récemment déversées.

Les variations de pourcentages de lignées des mêmes échantillons dans les rapports 2014, 2015 et le présent rapport sont inhérents à la méthode relative utilisée (il n'y en a pas d'autres): ces pourcentages ne sont obtenus que par comparaison (méthode relative) et dépendent des autres truites mises dans l'analyse. Les truites analysées ensemble en 2014, 2015 et aujourd'hui ont changé, les pourcentages aussi.

5.2. Structure géographique naturelle

L'analyse précédente (IetL2) avait placé les stations Clarté Dieu, Brenne, Calais et Rémillon dans la même lignée dite "Loire moyenne". La présente analyse reconnaît 4 lignées locales: Loire moyenne (Choisille de Chenusson et Brenne), Creuse (Rémillon), Indre (Doigt et Calais) et Loir (Clarté Dieu), ce qui constitue une forte diversité des lignées en Indre et Loire. Ceci illustre la difficulté à choisir le nombre de lignées dans les analyses d'assignation. C'est pourquoi en passant de 4 à 5 sous-groupes dans l'analyse IetL2, on retrouve la lignée Indre (Figure 4).

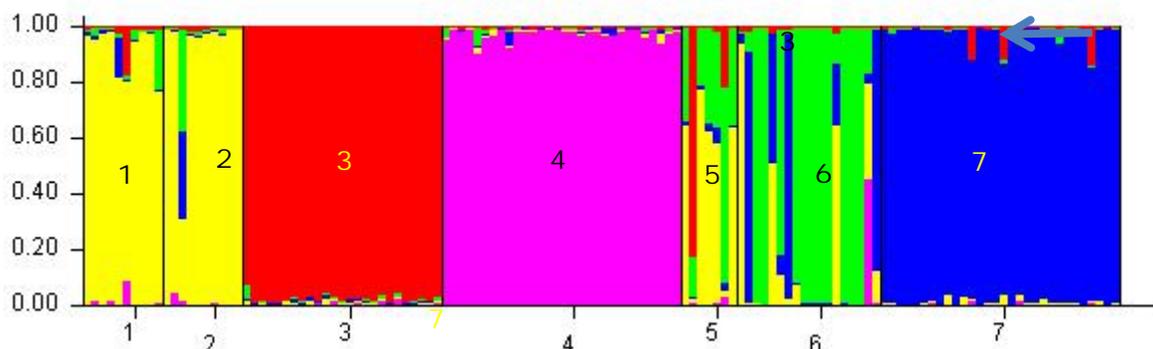


Figure 4: Reprise de l'analyse d'assignations du projet Iet L2 de 2015: avec $K=5$, nous retrouvons les lignées Loire moyenne en jaune (1 = Clarté Dieu ; 2 = Brenne), Indre en vert (5 = Calais qui apparaît ici mitigé Loire/Indre alors qu'il est clairement de lignée Indre à la Figure 3, 6 = Rémillon), Loir en rouge (3 = Thironne), Vienne en rose (4 = Vienne amont) et lignée domestique en bleu.

Le Choisille de Chenusson et le Doigt sont les 5ème et 6ème petit cours d'eau d'Indre-et-Loire analysés par la méthode génétique des microsatellites. Tous sont remarquablement conservateurs de quatre lignées de truites sauvages. Ce constat de lignées purement sauvages est assez rare sur des cours d'eau qui ont fait l'objet de repeuplement de truites par le passé. Ces résultats doivent encourager une gestion patrimoniale de ces cours d'eau. En effet, si nous retrouvons ces lignées ancestrales, c'est que l'anthropisation croissante de nos cours d'eau (repeuplements, pollutions diverses, modifications physiques) n'a pas éliminé ces lignées, après plus d'un siècle de pratiques diverses. Néanmoins même si l'impact des apports de truites domestiques sur la génétique des populations sauvages est globalement assez faible, il aura tendance à s'accroître inexorablement par effet cumulatif si les repeuplements en truites domestiques perdurent. Ces formes résilientes de vie méritent à présent une protection spécifique.

D'autre part, les paramètres populationnels (Tableau 3) montrent un polymorphisme élevé propre aux populations en bonne santé génétique. Un haut polymorphisme (H_{nb} supérieur ou égal à 0.6) et une panmixie ($F_{is} = 0$) sont les attributs des populations de taille suffisante pour se pérenniser. Le fait qu'on obtient ces résultats élevés sur de petites populations peut être le signe d'une relative bonne continuité écologique. Il est probable que les reproducteurs fréquentent indifféremment des frayères différentes d'une année à l'autre homogénéisant les truites sur une longue partie de la rivière: la population s'étend donc sur des kilomètres.

Fait à Montpellier le 16 novembre 2016

6. Littérature citée

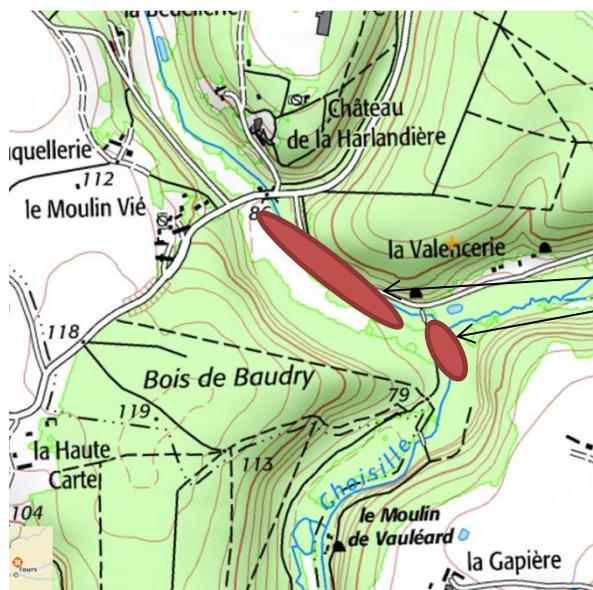
- Berrebi P., Cherbonnel C. 2009. Cartographie génétique des populations sauvages de truites françaises - Programme GENESALM - tome 1 - version du 15 décembre 2009. 22p. Rapport **GSALM2**.
- Berrebi P, and Genindex. 2013. Analyse génétiques des truites de deux rivières d'Eure-et-Loir dans le cadre du programme national Genetrutta (12 microsattellites) - Programme **GT-EetL** - Rapport d'août 2013: Rapport pour la FD28, Université Montpellier 2. 7p.
- Berrebi P, and Schikorski D. 2015. Etude génétique des truites d'Indre-et-Loire - le Calais (Indre) et le Rémillon (Creuse) dans le cadre du projet national Genetrutta - Rapport **GT-IetL**: Rapport d'étude pour la FD37, Université de Montpellier,
- Berrebi P., Schikorski D. 2015. Etude génétique des truites d'Indre et Loire: La Brenne (affluent de la Loire) et la Clarté Dieu (sous affluent du Loir) - Rapport **IetL2**. Rapport d'analyse pour la FD37. Université de Montpellier. 10p.

7. Annexes - Fiches de terrain

Choisille de Chenusson (affluent de la Loire) -2^{ème} catégorie piscicole-

Sondage piscicole réalisé le 24/5/16 et 8/5/16

Commune : Nouzilly



Secteur de prospection : 600 m

AAPPMA gestionnaire : Aucune

Gestion piscicole pratiquée localement : Des riverains ont déversés des poissons entre 1964 et 1964 (700 truites fario sur 3 ans). Sur un affluent assez proche (ruisseau de l'Arche) il est régulièrement déversé des truites fario adultes

Description sommaire du cours d'eau et de poissons capturés:

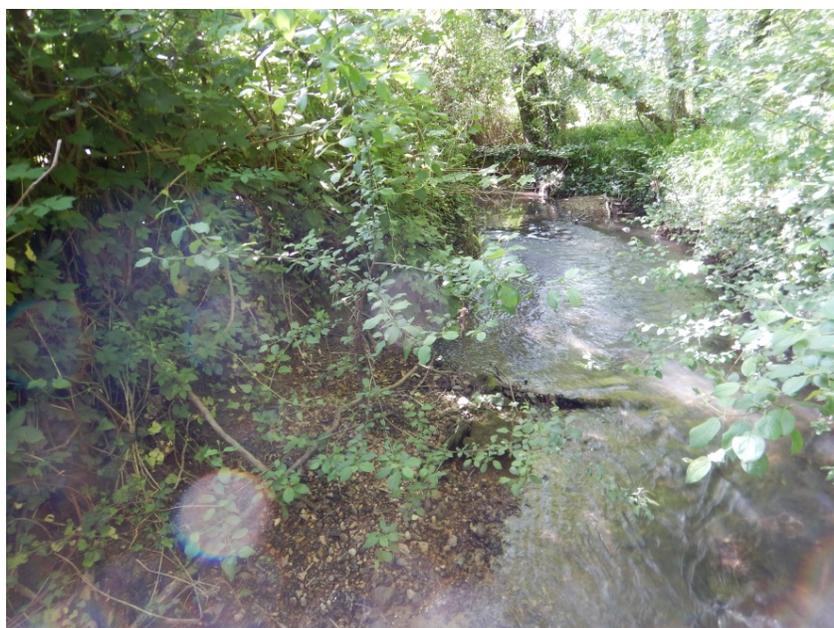
Le ruisseau présente une bonne diversité des écoulements, et vient de faire l'objet de recharge granulométrique (graviers/cailloux).

Espèces piscicoles capturées :

Espèces d'eaux vives	Espèces d'eaux calmes	Poisson migrateur	Espèces susceptibles de provoquer des déséquilibres biologiques
Truites fario	Gardon	Anguille	
Chabot	Brochet		
Vairon	Perche commune		
Loche franche			
Chevesne			

Ci-dessous le tableau des caractéristiques des truites fario capturées :

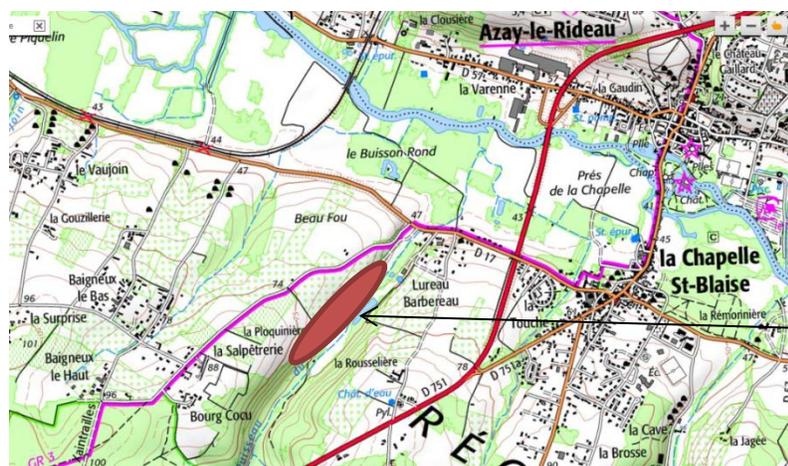
N° de la marque	Taille des truites fario (cm)	Avis sur les poissons
1	29	Truite issue de reproduction naturelle
2	23.9	Truite issue de reproduction naturelle
3	14.4	Truite issue de reproduction naturelle
4	24	Truite issue de reproduction naturelle
5	27	Truite issue de reproduction naturelle
6	17.5	Truite issue de reproduction naturelle
7	25	Truite issue de reproduction naturelle
8	19.6	Truite issue de reproduction naturelle
9	20	Truite issue de reproduction naturelle
10	20.5	Truite issue de reproduction naturelle



Etude Genetrutta 2016

Ruisseau du Doigt (affluent de l'Indre) -2^{ème} catégorie piscicole-
Sondage piscicole réalisé le 23/6/2016

Commune : Cheillé



Secteur de prospection : 220 m

AAPPMA gestionnaire : Aucune

Gestion piscicole pratiquée localement : D'après un propriétaire riverain, il y aurait eu des déversements de truites adultes déversées par le passé (moins de 20 ans).

Description sommaire du cours d'eau et de poissons capturés:

Le ruisseau présente une bonne diversité des écoulements, et vient de faire l'objet de recharge granulométrique (graviers/cailloux).

Espèces piscicoles capturées :

Espèces d'eaux vives	Espèces d'eaux calmes	Poisson migrateur	Espèces susceptibles de provoquer des déséquilibres biologiques
Truites fario	Gardon		Poisson chat
Chabot	Brochet		
Lamproie de planer			
Chevesne			
Goujon			

Ci-dessous le tableau des caractéristiques des truites fario capturées :

N° de la marque	Taille des truites fario (cm)	Avis sur les poissons
11	15.5	Truite issue de reproduction naturelle
12	21	Truite issue de reproduction naturelle
13	14	Truite issue de reproduction naturelle
14	16	Truite issue de reproduction naturelle
15	17	Truite issue de reproduction naturelle
16	18	Truite issue de reproduction naturelle
17	25	Truite issue de reproduction naturelle
18	33	Truite issue de reproduction naturelle
19	20	Truite issue de reproduction naturelle
20	20	Truite issue de reproduction naturelle

