

Analyse génétique de 24 truites de l'Aigüeze, BV de l'Ardèche dans le département du Gard

Rapport GAR6



© <http://www.les-plus-beaux-villages-de-france.org/fr/aigueze>

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



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. 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 de l'Aiguèze à la suite de la pêche de mai 2015, 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.

2. Echantillonnage

L'échantillonnage des truites analysées ici a été constitué par la Fédération Départementale pour la Pêche et la Protection du Milieu Aquatique du Gard (FD30) lors de la pêche électrique de mai 2015. Un total de 24 échantillons (morceaux de nageoires conservés dans des tubes d'alcool) a été remis à l'Institut des Sciences de l'Evolution (ISEM) de l'Université de Montpellier (UM) le 9 juin 2015. Pascal Dance est le correspondant de la FD30 auprès de l'ISEM.

La position géographique de la station est précisée à la Figure 1. A l'échantillon de l'Aiguèze ont été rajoutés pour comparaison des échantillons de truites de rivières géographiquement proches déjà analysés dans le passé et deux échantillons domestiques susceptibles d'être intervenus dans la rivière. Les caractéristiques des échantillons sont présentées au Tableau 1.

N° carte	Station	ss bassin	Dépt	Nombre	Date de capture	N° ISEM d'échantillon	N° ISEM d'individu	Rapport
1	Aiguèze	Ardèche	Gard	24	21/05/2015	L558	T28345-T28368	GAR6
2	Ardèche amont	Ardèche	Ardèche	20	01/09/2006	L051	T09512-T09533	ARD1
3	Cèze	Cèze	Gard	20	19/07/2011	L375	T19722-T19741	GAR2
4	p. Roquebillière	-	Alpes-M.	20	30/06/1905	L156	T1361-T1380	GSALM2
5	pisciculture	-	Isère	20	2008	L266	T16926-T16945	GSALM2

Tableau 1 : caractéristiques des échantillons analysés dont celui de l'Aiguèze (en jaune). Ont été rajoutés des échantillons de référence dont deux échantillons de pisciculture (en gris).

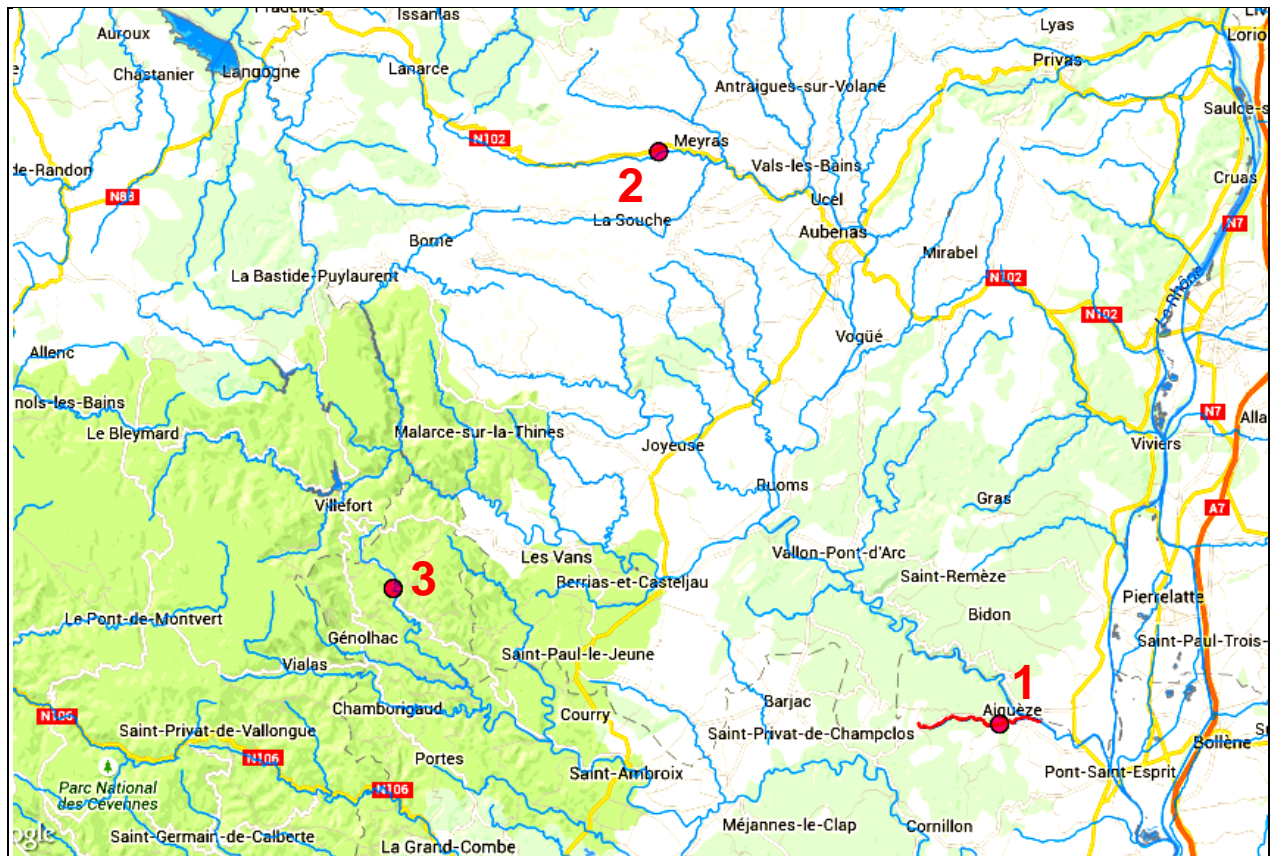


Figure 1 : Répartition géographique de l'échantillon de l'Aiguèze et des deux échantillons de référence locaux. Les numéros des stations et les détails techniques sont donnés au Tableau 1.

3. Méthodes

3a. Méthodes moléculaires

Chaque truite a été génotypée (détermination des deux allèles provenant de ses deux parents) au niveau de 6 locus microsatellites (Oneµ9, Mst85, SSoSI-311, Omy21Dias, Mst543 et SSoSI-438).

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'assignation** (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 doivent aussi être explorées.

- Les **paramètres populationnels** sont de divers types. Certains décrivent la diversité génétique de chaque population (Hnb, Ho et A); un autre décrit l'équilibre panmictique (reproduction au hasard de toutes les truites de la population) avec le Fis; un autre détermine la quantité de différence génétique entre populations prises 2 à 2 (le Fst).

Ces paramètres permettent d'interpréter les résultats génétiques.

4. Résultats

4a. Analyse multidimensionnelle

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

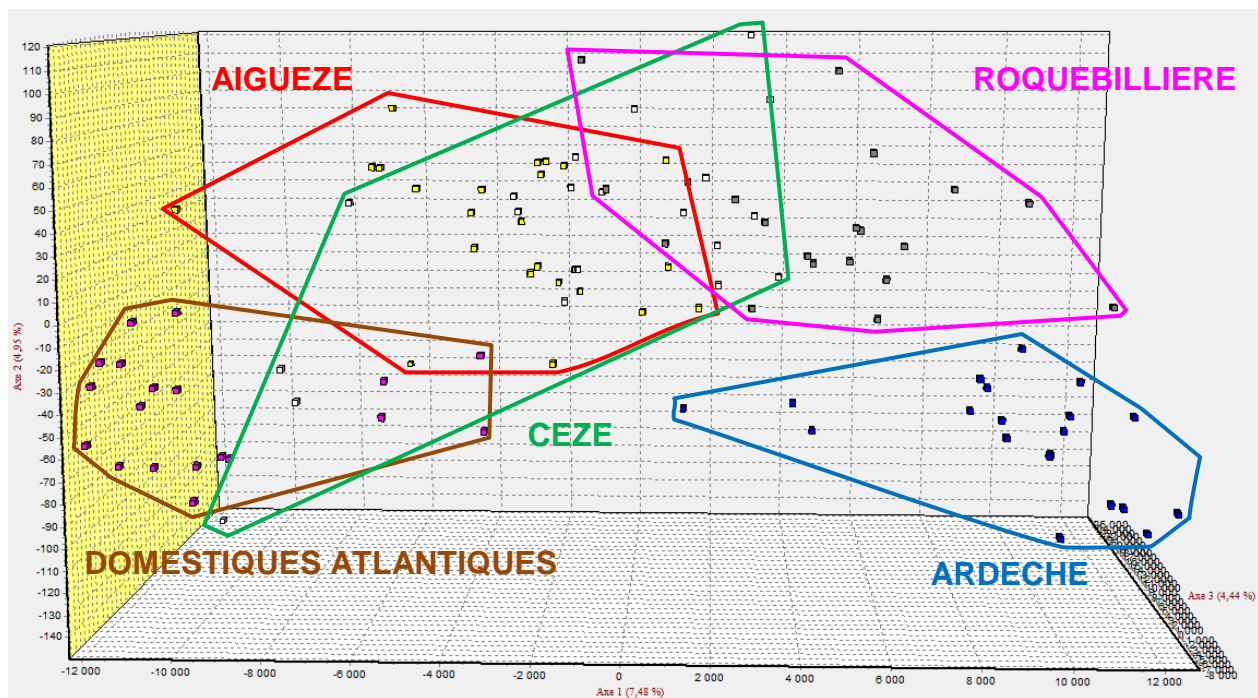


Figure 2 : Positionnement de toutes les truites analysées (de la présente étude et des échantillons de référence) dans un hyperespace dont le graphique présente une version simplifiée à deux dimensions. L'Aiguèze apparaît comme très proche de la Cèze et prise entre les deux piscicultures

Globalement la figure 2 met en relief l'opposition Ardèche sauvage à droite et domestique atlantique à gauche (le long de l'axe 1 horizontal, le plus informatif). Puis Cèze, Aiguèze et Roquebillière vers le haut (axe 2 vertical). Cèze puis Aiguèze semblent les plus influencés par les

truites domestiques. Contre toute attente, l'Aiguèze semble plus proche de la Cèze que de l'Ardèche et "en contact" avec les nuages domestiques. Ces impressions doivent être confirmées par l'analyse qui suit.

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=3, mais les autres valeurs de K peuvent aussi être explorées.

Ici 50000 runs de préchauffage (burn'in) ont été pratiqués suivis de 100000 runs d'affinage. K a été testé de 1 à 4 avec 3 tests pour chaque valeur de K.

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

Le Tableau 2 transpose l'histogramme coloré en pourcentages. Comme avec l'AFC, les truites de l'Aiguèze sont génétiquement plus proches de celles de la Cèze que de celles de l'amont de l'Ardèche.

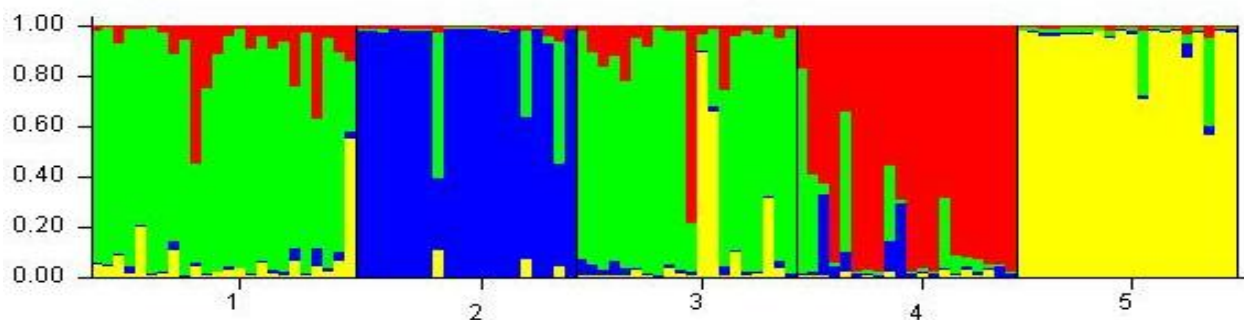


Figure 3 : Présentation de l'analyse d'assignation sous forme d'histogramme coloré. Les couleurs sont distribuées au hasard aux K sous unités détectées. Chaque truite est représentée par une barre ligne verticale. Les numéros des échantillons sont ceux du Tableau 1.

Station	Cèze	Ardèche	Roquebillière	domestique
Aiguèze	81	2	10	7
Ardèche amont	8	89	1	2
Cèze	78	2	9	11
Roquebillière	13	6	80	1
pisciculture Isère	4	1	1	94

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), elles sont indiquées en gris.

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.

Ainsi les paramètres H et A renseignent sur le polymorphisme de chaque population. Ho est la diversité génétique observée et Hnb est cette même diversité telle qu'elle serait si la population était panmixique (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.

N° carte	Station	Hnb	Ho	A	Fis	signif.
1	Aiguèze	0,77	0,82	8,33	-0,06	ns
2	Ardèche amont	0,60	0,57	4,83	0,06	ns
3	Cèze	0,75	0,65	8,33	0,14	***

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

Les Fst mesurent la différenciation génétique entre populations prises deux par deux (Tableau 4).

N° carte	Station	1	2	3
1	Aiguèze	0,00	0,21	0,05
2	Ardèche amont		0,00	0,21
3	Cèze			0,00

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

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 "pisciculture nationale" (ici un établissement de l'Isère). D'autre part, la FD30 signale que l'AAPPMA concernée déposait des boîtes Vibert chargées d'œuf de la pisciculture de Roquebillière (souche méditerranéenne du Doubs) chaque année depuis 8 ans. Un échantillon de référence de cette souche a donc été rajouté. Toutefois, si une autre souche inconnue a été utilisée dans la zone étudiée, les estimations seront faussées sans que nous le sachions.

D'après le Tableau 2, l'Aiguèze est faiblement impactée par les piscicultures atlantiques: 7% environ, surtout dû à la présence d'une truite à 56% domestique: la dernière portant le numéro 24. La population, récemment alevinée avec la souche méditerranéenne de Roquebillière, présente

10% de cette lignée, avec une truite F1 (hybride 50/50) et 3 backcrosses (25% Roquebillière et 75% sauvage).

La population de truites de l'Aiguèze est donc **sauvage méditerranéenne à 83%**.

La composition génétique de chaque truite est donnée en Annexe 1.

5b. Structure des peuplements naturels

En faisant abstraction de l'impact des repeuplements en truites domestiques, les truites de l'Aiguèze sont homogènes génétiquement malgré la présence d'au moins deux types morphologiques (voir photos en Annexe 2).

Le résultat surprenant de cette étude est la proximité des truites de l'Aiguèze des truites de la Cèze mais aussi des truites atlantiques (le Fst entre Aiguèze et Cèze est égal à 0,05 (5%) et entre Aiguèze et domestiques 8%).

Cela laisse planer un doute sur la nature réelle de ces populations. Il existe deux méthodes pour tirer cela au clair:

- le séquençage de l'ADN mitochondrial;
- un marqueur ancien (l'enzyme LDH-C1), dont on vient de mettre au point l'analyse directement sur l'ADN (Chat et al. 2008), et dont l'analyse est plus rapide et moins chère.

5c. Autres questions

D'autres questions intéressantes peuvent être abordées grâce aux données obtenues. Ainsi selon le Tableau 3, la population de l'Aiguèze est fortement polymorphe et en équilibre panmictique (Fis non significatif). Ces caractéristiques sont celles d'une population en équilibre et en bonne santé démographique et génétique.

Fait à Montpellier le 31 août 2015

6. Références bibliographiques

- Berrebi P., Dubois S. 2006.** Etude génétique des truites fario sur quinze stations du département de l'Ardèche - Rapport final - Novembre 2006. Rapport d'étude pour la Fédération de Pêche de l'Ardèche, p. 13 p. ([ARD1](#))
- Chat J, Manicki A, and Merchernek N. 2008.** Typing for brown trout *LDH-C1** alleles together with microsatellites by automated sequencing. *Conservation Genetics* **9**: 1669-1671.
- Berrebi P, and Cherbonnel C. 2009.** Cartographie génétique des populations sauvages de truites françaises - Programme Genesalm - tome 1 - version du 15 décembre 2009: Université Montpellier 2, rapport de contrat du projet Genesalm, 22p. ([GSALM2](#))
- Berrebi P., Shao Z. 2011.** Analyses génétiques des truites du bassin versant méditerranéen du département du Gard - Cèze (Rhône) et Arre (Hérault), p. 11. Rapport d'analyses pour la Fédération du Gard. Université Montpellier 2. ([GAR2](#))
- Bohling J, Shao Z, Haffray P, and Berrebi P. en révision 2015.** Genetic diversity and population structure of domestic brown trout (*Salmo trutta*) in France. *Aquaculture*.

7. Annexes

Annexe 1 : Assignation de chaque truite étudiée selon les 4 lignées détectées. Les couleurs des cases sont indiquent des fréquences (0,50=50%, 1=100%):

	Cèze	Ardèche	Roquebillière	domestique
Aiguèze	0,81	0,02	0,10	0,07
Ardèche amont	0,08	0,89	0,01	0,02
Cèze	0,78	0,02	0,09	0,11
Roquebillière	0,13	0,06	0,80	0,01
pisciculture Isère	0,04	0,01	0,01	0,94

AIG01	0,92	0,01	0,02	0,06
AIG02	0,94	0,01	0,01	0,04
AIG03	0,84	0,01	0,07	0,09
AIG04	0,94	0,03	0,01	0,02
AIG05	0,78	0,01	0,01	0,21
AIG06	0,97	0,01	0,01	0,01
AIG07	0,95	0,00	0,03	0,02
AIG08	0,74	0,04	0,11	0,11
AIG09	0,93	0,01	0,06	0,01
AIG10	0,40	0,01	0,54	0,05
AIG11	0,73	0,01	0,25	0,01
AIG12	0,86	0,01	0,11	0,02
AIG13	0,92	0,01	0,04	0,03
AIG14	0,95	0,00	0,01	0,04
AIG15	0,89	0,01	0,09	0,01
AIG16	0,89	0,01	0,04	0,06
AIG17	0,88	0,01	0,09	0,02
AIG18	0,92	0,01	0,06	0,01
AIG19	0,64	0,05	0,24	0,07
AIG20	0,96	0,01	0,02	0,01
AIG21	0,52	0,07	0,37	0,05
AIG22	0,92	0,01	0,05	0,03
AIG23	0,80	0,03	0,10	0,07
AIG24	0,28	0,03	0,14	0,56

*Tableau des pourcentages des trois lignées aux 24 truites de l'Aiguèze.
En jaune mélange modéré. En orange forte hybridation.*

Annexe 2 : Les types de robes des truites de l'Aiguèze.



Truite 03, type dominant dans l'Aiguèze (17 truites sur 24) de lignée Cèze



Truite 08, type méditerranéen (seulement 2 truites sur 24) légèrement hybridée avec Roquebillière



Truite 19, type exceptionnel sans tache (1/24) 25% Roquebillière



Truite 24, aspect atlantique, génétiquement 56% atlantique et 14% Roquebillière (4/24)