Suivi génétique 2016 des truites de l'Orb et de la Mare

-

Rapport d'analyses ORB8

La Mare en amont de Villemagne l'Argentier © http://heraultinsolite.blogspot.fr/2016_06_01_archive.html

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, peux 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 énergique (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 des analyses sous trois angles principaux: (i) il fournit une estimation de la proportion de gènes domestiques détectés à chaque station échantillonnée, puis, faisant abstraction de l'apport artificiel (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 maintient 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, 40 truites provenant de 2 stations de l'Orb ont été échantillonnées par la Fédération Départementale pour la Pêche et la Protection du Milieu Aquatique de l'Hérault (FD34). 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 28 novembre 2016. Monsieur Eric Ravel est le correspondant de la FD34 auprès de l'ISEM.

La liste des échantillons est précisée au Tableau 1 et leur localisation à la Figure 1. Outre les deux échantillons de 2016, elle comprend des échantillons de référence pour les lignées locales Orb, Mare et Gravezon, la lignée voisine de la Lergue ainsi que les souches domestiques Gravezon, Lergue, Cauterets et la souche commerciale nationale.

N° carte	Station	Nbre	Date	Rapport	N° ISEM des échantillons	N° ISEM des individus
1	**Mare** (no kill)	20	2016	ORB8	L753	T30260-T30279
2	**Orb** (Salvagnac)	20	2016	ORB8	L754	T30280-T30299
3	**Mare** (Castanet le Haut)	15	2012	ORB4	L084	T24686-T24700
4	**Orb** (amont Firou)	20	2013	ORB5	L437	T25993-T26012
5	**Gravezon** (confluence Orb)	20	2013	ORB5	L440	T26013-T26032
6	Pisciculture Babeau (**souche Gravezon**)	20	2014	ORB6	L619	T27643-T27662
7	Pisc. Fontcaude **Male Brèze** x **Fem. Lergue**	10	2015	ORB7	L712	T29582-T29591
8	Pisc. Babeau (**Cauterets 2014**)	20	2014	MAE1	L556	T28112-T28131
9	**Pisc. nationale** (Isère)	20	2008	GSALM2	L266	T16926-T16945

Tableau 1: *Caractéristiques des deux nouveaux échantillons de 2016 (en jaune) et des échantillons de référence dont 4 proviennent de piscicultures (en gris).*

Figure 1: *Position géographique des échantillons de rivières utilisées dans le présent rapport. La rivière en rouge est l'Orb. Les caractéristiques des échantillons sont données au Tableau 1.*

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.

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: Oneμ9, Mst85, SSoSl-311, Omy21Dias, Mst543 et SSoSl-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 analysées 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 donc 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 elle 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 l'objectif 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 celui qui coïncide le mieux avec les échantillons et la logique biologique. Un logiciel d'aide à la décision STRUCTURE HARVESTER peut être employé mais 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 les fait que 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 multidimensionnelle de la Figure 2 montre la forte proximité génétique des trois lignées locales: Orb, Gravezon et Mare.

- La souche de pisciculture Gravezon, située en haut à gauche, très compacte car peu polymorphe, semble attirer l'échantillon Mare - no kill (n°1) alors que la lignée Mare est plutôt au centre du graphique. Il y a donc certainement présence de la souche domestique méditerranéenne dans l'échantillon 1.

- L'échantillon de l'Orb à Salvignac (n°2) est également anormalement déporté vers la souche Gravezon. L'analyse d'assignation pourra chiffrer cette influence.

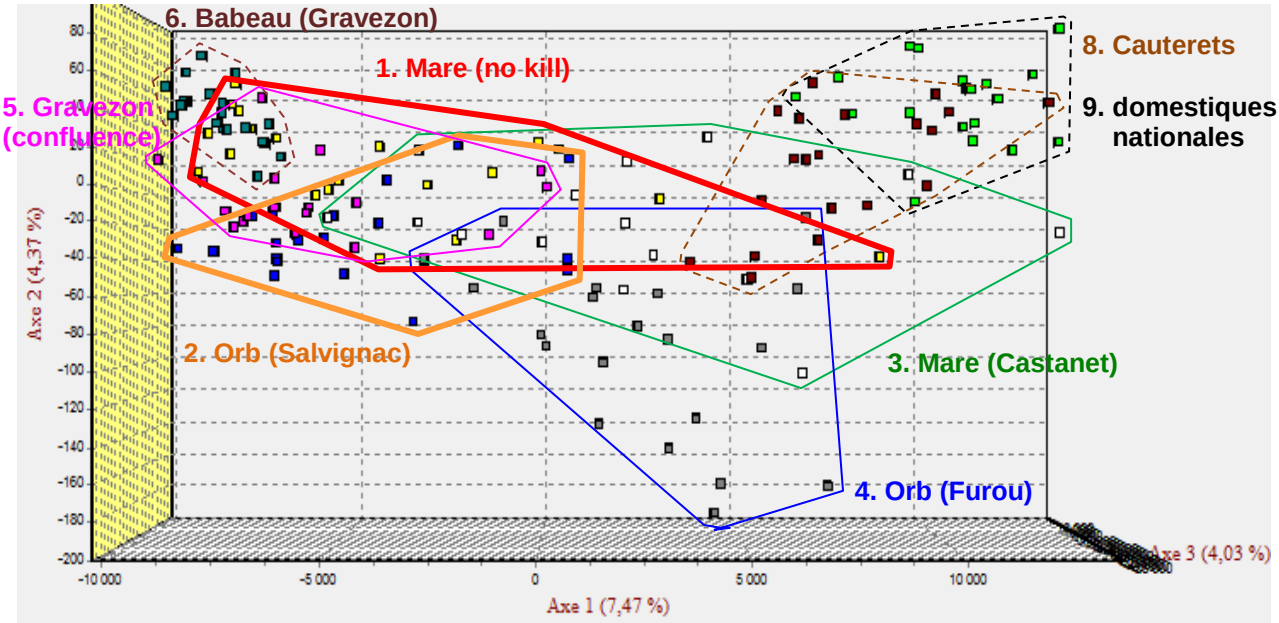

Figure 2: *Représentation graphique (analyse multidimensionnelle AFC) des échantillons 2016 et des nombreuses références de rivière (traits pleins) ou de pisciculture (pointillés). En haut à gauche la lignée Gravezon; au milieu la lignée Mare; au milieu en bas la lignée Orb; en haut à droite les truites atlantiques domestiques. Les nombreuses superpositions d'enveloppes montrent la proximité génétique des trois lignées locales.*

4.2. Analyse d'assignation

L'analyse d'assignation a été effectuée avec 100 000 puis 200 000 répétitions pour K=2 à 8 sous-groupes. C'est à partir de K=4 que les lignées principales apparaissent.

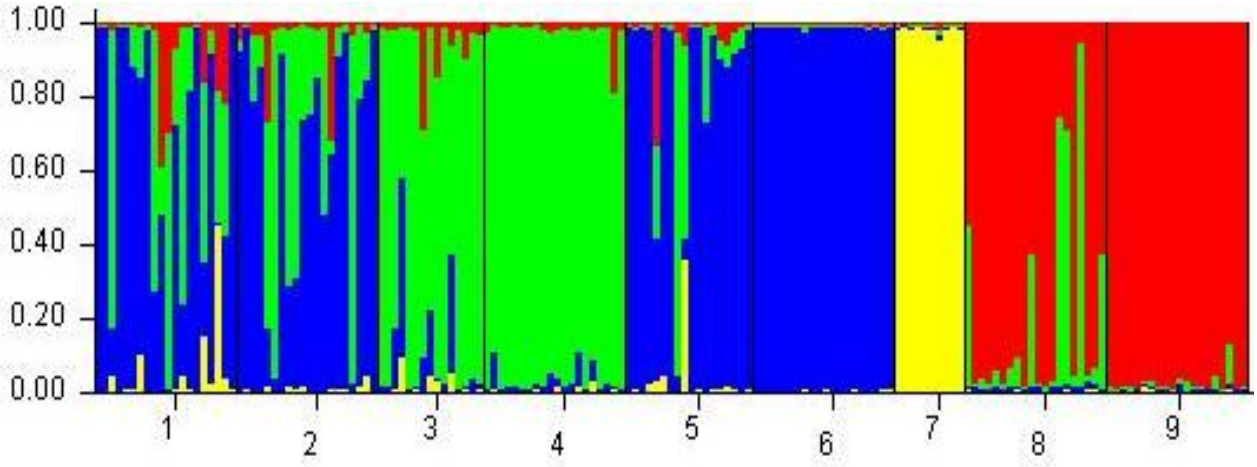

Figure 3: *Histogramme d'assignation pour K=4. On observe que les échantillons de 2016 (n°1 et 2) sont fortement influencés par la souche domestique Gravezon (en bleu marine) mais le sont très faiblement par la souche atlantique en rouge et par la souche Lergue en jaune. Voir le Tableau 2 pour le chiffrage.*

N° carte	Station	Gravezon	Orb/Mare	domestique Lergue	domestique atlantique
1	**Mare** (no kill)	63	25	5	7
2	**Orb** (Salvagnac)	66	28	1	4
3	**Mare** (Castanet le Haut)	9	84	2	5
4	**Orb** (amont Firou)	2	95	1	2
5	**Gravezon** (confluence Orb)	81	12	3	3
6	Pisciculture Babeau (**souche Gravezon**)	98	1	1	1
7	Pisc. Fontcaude **Male Brèze** x **Fem. Lergue**	1	1	98	1
8	Pisc. Babeau (**Cauterets 2014**)	1	20	1	78
9	**Pisc. nationale** (Isère)	1	2	1	97

Tableau 2: *Transposition de l'histogramme de la Figure 3 en pourcentages. Les couleurs des cellules correspondent à la dominance de la lignée. Les couleurs des entêtes sont celles de l'histogramme. Les valeurs égales ou inférieures à 5% ne sont pas sures et peuvent correspondre au "bruit de fond" de la méthode statistique (chiffres en gris).*

4.3. Analyse des paramètres populationnels

Le Tableau 3 nous indiquent que les références Mare et Orb amont ont une diversité élevée tandis que les deux échantillons de 2016 ont une diversité moyenne mais suffisante. Les Gravezon et surtout la souche domestique du Gravezon ont une diversité faible. Les échantillons de l'Orb et de la Mare sont en déséquilibre panmictique (possiblement dû à des introductions).

N° carte	Station	Hnb	Ho	A	Fis	signific.
1	**Mare** (no kill)	0,63	0,58	7,0	0,08	ns
2	**Orb** (Salvagnac)	0,61	0,51	6,7	0,17	***
3	**Mare** (Castanet le Haut) N33	0,79	0,64	7,7	0,19	***
4	**Orb** (amont Firou)	0,76	0,68	6,7	0,11	**
5	**Gravezon** (confluence Orb)	0,53	0,51	6,2	0,05	ns
6	Pisciculture Babeau (**souche Gravezon**)	0,40	0,41	2,8	-0,02	ns
7	Pisc. Fontcaude **Male Brèze** x **Fem. Lergue**	0,53	0,78	2,7	-0,51	(***)
8	Pisc. Babeau (**Cauterets 2014**)	0,79	0,78	7,3	0,02	ns
9	**Pisc. nationale** (Isère)	0,69	0,66	5,7	0,04	ns

Tableau 3: *Valeur des paramètres populationnels de diversité génétique (entêtes vertes) et d'équilibre panmictique (entêtes bleues). Les valeurs en orange sont considérées comme très élevées et en jaune comme suffisantes. Dans la dernière colonne, ** et *** sont deux niveaux de significativité des Fis pour un déficit en hétérozygotes (= introduction ou mélange), (***) est un excès en hétérozygotes qui est dû au croisement contrôlé ayant donné cette souche.*

N° carte	Station	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	**Mare** (no kill)	0	0,06	0,09	0,15	0,07	0,15	0,24	0,17	0,27
2	**Orb** (Salvagnac)		0	0,10	0,14	0,01	0,16	0,26	0,19	0,30
3	**Mare** (Castanet le Haut)			0	0,07	0,13	0,25	0,21	0,09	0,15
4	**Orb** (amont Firou)				0	0,17	0,29	0,26	0,08	0,16
5	**Gravezon** (confluence Orb)					0	0,16	0,29	0,23	0,33
6	Pisciculture Babeau (**souche Gravezo**n)						0	0,42	0,32	0,41
7	Pisc. Fontcaude **Male Brèze** x **Fem. Lergue**							0	0,28	0,37
8	Pisc. Babeau (**Cauterets 2014**)								0	0,07
9	**Pisc. nationale** (Isère)									0

Tableau 4: *Différences génétiques inter-échantillons. Seule la paire Orb-Salvagnac / Gravezon-confluence sont génétiquement identiques, toutes les autres paires d'échantillons sont significativement hétérogènes.*

5. Interprétation et discussion

5.1. Impact des repeuplements

Les deux échantillons de 2016 ne présentent pratiquement pas d'introgression domestique atlantique avérée, les valeurs égales ou inférieures à 5% pouvant n'être que du bruit de fond de la méthode statistique.

La présence d'une souche méditerranéenne issue du Gravezon et élevée à la pisciculture de Babeau est plus difficile à distinguer de la souche sauvage naturelle présente dans le Gravezon et dont l'étendue, hors du Gravezon, n'est pas connue. Toutefois, l'opposition génétique nette entre la population naturelle du Gravezon (échantillon 5, lignées Gravezon, Tableau 2) et celles de l'Orb et de la Mare (échantillons 3 et 4, lignée Orb/Mare) permet d'e suggérer que la présence de la lignée Gravezon dans les deux échantillons de 2016 est d'origine artificielle, malgré une présence de l'ordre de 65% qui est assez rare pour des alevinages récents.

5.2. Structure géographique naturelle

La structure naturelle régionale est assez connus depuis les quelques rapports d'analyses des dernières années. Globalement, le haut de l'Orb comprend une lignée Orb (zone type au niveau de Furou), une lignée Mare (Castanet le Bas) et une lignée Gravezon (Joncel). Ces trois lignées distinctes ont été démontrées dans le rapport ORB5. Si les lignées Orb et Mare sont confondues ici (comme dans le rapport ORB7), c'est que ces populations sont génétiquement plus proches que vis a vis de celle du Gravezon: le Tableau 4 donne un Fst de 0,07 entre Orb et Mare (échantillons 3 et 4) mais presque deux fois plus entre ces populations et le Gravezon (respectivement 0,17 et 0,13).

Fait à Montpellier le 2 janvier 2017

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. (GSALM2)

Berrebi P, Shao Z. 2013. Composition génétique des truites des cours d'eau Gravezon, Rongas et Mare (Hérault 34) - Campagne de pêche 2012 - Projet ORB4 - Rapport de mars 2013: Université Montpellier 2. 9p.

Berrebi P, Schikorski D. 2014. Composition génétique des truites de l'Hérault (34) - Campagne de pêche 2013: Orb et Gravezon - Projet ORB5: Rapport d'étude pour la FD34, Université Montpellier 2. 6p.

Berrebi P. 2015. Structure génétique des truites naturelles et domestiques de l'Orb amont - marqueurs microsatellites- Rapport MAE1 (juin 2015): Rapport d'étape pour la thèse de Maëva Leitwein. Université de Montpellier. 9p.

Berrebi P, Schikorski D. 2015. Composition génétique des truites de l'Orb (34) - Campagne de pêche 2014 (Mare, Gravezon, souche Babeau) - Rapport ORB6. 10p.

Berrebi P., Schikorski D. 2016. Suivi génétique des truites sauvages et domestiques de l'Orb - Rapport ORB7. Rapport d'étude pour la FD34, Université de Montpellier, 6p.

7. Annexes

Annexe 1: *Origine des résultats divergents*

Il arrive fréquemment que des lignées soient parfois confondues ou que des pourcentages d'assignation du même échantillon varient d'un rapport à l'autre (ici entre ORB6/ORB7 et ORB8).

Les variations de distinction ou de pourcentages de lignées entre les mêmes échantillons selon les rapports sont inhérentes 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 (= références). Les truites analysées ensemble dans les trois analyses d'assignation ont changé, les pourcentages aussi.

Voici deux images permettant de comprendre:

1 - On vous donne 10 truites de 10-12 cm et 10 truites de 20-22 cm et on vous demande de les classer en petites et grandes: vous le faites sans problème.

On rajoute 10 truites de 30 à 32 cm et on vous demande de classer l'ensemble en petites et grandes: après une petite hésitation vous placez les 30-32 dans les grandes et les autres dans les petites.

Donc en rajoutant d'autres échantillons, les 20-22 sont passées de grandes à petites!

2 - On vous montre les portraits de 10 suédois (yeux bleus et cheveux blonds) et de 10 italiens (yeux bruns et cheveux bruns) et on vous demande d'en faire deux catégories: vous le faites sans hésitation: un groupe du nord et un groupe du sud.

Je rajoute 10 portraits de sénégalais (peau noire, yeux bruns et cheveux bruns) et on vous demande d'en faire deux catégories: vous allez hésiter entre opposer les suédois à tous les autres (su/it+se) et opposer les sénégalais à tous les autres (su+it/se) mais probablement allez choisir le second découpage

Donc en rajoutant les portraits des sénégalais, les italiens changent de groupe et passent du groupe sud au groupe nord.

C'est la même chose avec les méthodes multidimensionnelle et d'assignation: les positions ou pourcentages changent parce que les échantillons analysés ont été changées. Les classements des truites sont bien sûr bien plus complexes que les deux exemples donnés car la génétique des truites est basée sur une multitude de marqueurs et de variants.

Pour résoudre ce genre de contradictions, on considère :

- que **l'analyse impliquant le plus d'échantillons est la plus sure**. Dans notre cas, ORB8 réunit toutes les lignées de la région.
- que **l'analyse impliquant le plus de marqueurs est la plus sure**. Dans notre cas nous avons utilisé les mêmes marqueurs dans les diverses analyses.