

Analyse génétique des truites de la RNN de Prats-de-Mollo-La-Preste

-
Rapport PRATS



© FD66

Analyses statistiques et rédaction: **Patrick BERREBI**

Genome-Recherche & Diagnostic, 697 avenue de Lunel, 34400 Saint-Just

Boîte vocale: 04 67 52 47 82,

Mél: patrick.berrebi@laposte.net

Banque de données: <https://data.oreme.org/trout/home>

Site web: <https://websself-genome-rd-64.websself.net>

Analyses moléculaires: **David SCHIKORSKI**

Laboratoire Genindexe, 4 Rue Théodore Botrel, 22603 Loudéac Cedex

Tél: 02 96 28 63 43,

Mél: d.schikorski@genindexe.com

1. Introduction

Distinguer du premier coup d'œil entre truites sauvages et domestiques est un exercice parfois aisé, mais parfois hasardeux tant la truite naturelle a une robe diversifiée, parfois différente entre deux affluents d'un même sous bassin. C'est encore plus hasardeux dans les Pyrénées Orientales où quatre souches domestiques ont été utilisées, dont deux atlantiques distinctes et deux méditerranéennes distinctes dont une créée à partir de truites sauvages locales.

Lorsque sa gestion nécessite l'établissement d'un plan d'action justifié, en particulier quand il faut choisir entre gestion halieutique ou patrimoniale, l'appui de l'analyse génétique est souvent utile. Les analyses génétiques procurent aux gestionnaires deux types d'information: la distribution géographique des lignées naturelles différenciées et le niveau d'hybridation entre lignées sauvages et domestiques. La première information permet de prévenir des mélanges inappropriés et la seconde permet d'adapter la gestion à l'état du cheptel.

2. Les échantillons analysés

Les 20 fragments de nageoires dans l'alcool des truites de la Réserve Naturelle Nationale de Prats-de-Mollo-La-Preste (correspondant Pascal Gaultier) ont été livrés à Labofarm (responsable des génotypes David Schikorski) le 25 février 2020. L'étude statistique a été effectuée par le bureau d'étude Génome-Recherche & Diagnostique (directeur Patrick Berrebi).

N° carte	Station	Année	Nbre	Lignée	Bassin	Rapport	N° GRD échantillon	N° GRD individus
1a	Tech RNN Prats (Ouillat 1)	2018	1	à déterminer	Tech	PRATS	L887	T33898
1b	Tech RNN Prats (Ouillat 2)	2018	1	à déterminer	Tech	PRATS	L886	T33897
1c	Tech RNN Prats (Ouillat 3)	2018	1	à déterminer	Tech	PRATS	L890	T33902
1d	Tech RNN Prats (Ouillat 4)	2018	1	à déterminer	Tech	PRATS	L889	T33901
1e	Tech RNN Prats (Ouillat 5)	2018	2	à déterminer	Tech	PRATS	L888	T33899-T33900
1f	Tech RNN Prats (6 Amont cascade)	2015	4	à déterminer	Tech	PRATS	L885	T33893-T33896
1g	Tech RNN Prats (7 Aval cascade)	2015	10	à déterminer	Tech	PRATS	L884	T33883-T33892
2	Tech (amont barrage La Preste)	2012	10	Tech	Tech	PO7	L546	T24157-T24166
3	Tech (St Sauveur)	2016	15	Tech	Tech	PO2016	L741	T30116-T30130
4	Parcigoule	2016	15	Tech	Tech	PO2016	L742	T30131-T30145
5	Carança (réserve amont)	2009	15	Carança	Têt	PO5	L275	T17222-T17236
6	Têt (Millas)	2015	20	Têt	Têt	PO9	L720	T29669-T29688
7	Err (village)	2013	15	Sègre	Ebre	EYN2	L207	T25116-T25130
8	pisciculture Isère	2008	20	domestique atlantique actuelle	dept. 38	GSALM2	L266	T16926-T16945
9	Nohède (amont - Pla del Gorg)	2008	10	domestique atlantique ancienne	Têt	PO4	L174	T13456-T13465
10	Emissère du lac des Dougnes	2014	8	domestique atlantique ancienne	Sègre	PO8	L708	T29515-T29522
11	pisciculture Roquebillière	2008	20	domestique méditerranéenne du Doubs	dept. 06	GSALM2	L156	T13061-T13083

Tableau 1 : Détail des échantillons analysés. En jaune les échantillons du haut Tech; en blanc les échantillons de référence servant aux comparaisons; en gris les références domestiques.

Les analyses statistiques nécessitent de comparer les génotypes des 20 truites de la réserve à ceux de truites de type connu. Ainsi, aux échantillons de 2015-2018 ont été rajoutés deux échantillons de pisciculture (échantillons 8 et 11, en gris au Tableau 1), deux échantillons naturels reconnus comme provenant d'introductions anciennes (9 et 10) et 6 échantillons illustrant les lignées présentes dans le Pyrénées Orientales: les lignées Têt (et la variante Carança), Tech (3 échantillons pour cette lignée du même bassin que les truites étudiées ici) et Sègre (Affluent de l'Ebre). Les caractéristiques des échantillons analysés sont détaillées au Tableau 1. Les localisations des origines des truites de la réserve sont précisées à la Figure 1.

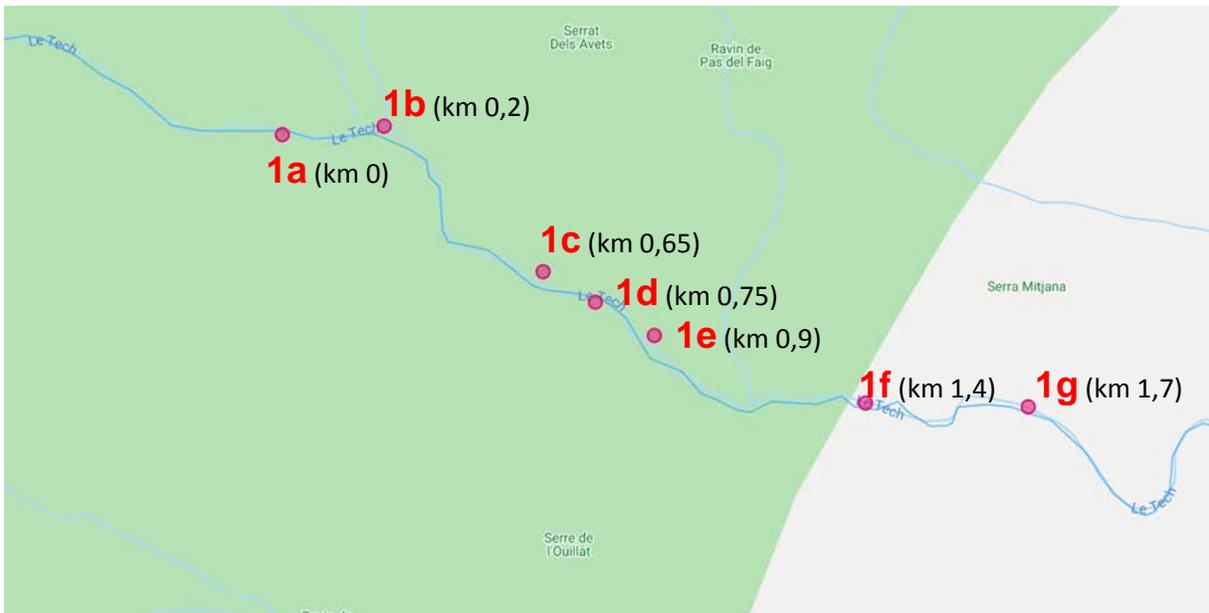


Figure 1 : Position géographique des stations échantillonnées. Les chiffres réfèrent à la première colonne du Tableau 1. Est indiquée la distance en kilomètres par rapport à la station 1 à partir des coordonnées GPS fournies par les pêcheurs. Le territoire de la réserve est indiqué en vert.

3. Les méthodes moléculaires

Les techniques biomoléculaires permettent d'extraire l'ADN contenu dans les nageoires. Par amplification et migration sont révélés les variants héréditaires (allèles) portés par chaque truite au niveau d'endroits connus des chromosomes (les locus). Pour être informatifs, des locus hypervariables sont choisis, les microsatellites. Ici, nous avons choisi 6 locus microsatellites nommés Oneu9, Mst85, Ss0SL-311, Omy21DIAS, Mst543, SSoSl-438. Leurs allèles constituent les génotypes des truites.

Les génotypes sont assurés par Labofarm, laboratoire privé en Bretagne. Les locus sont d'abord amplifiés (par PCR) puis l'ADN est mis à migrer en gel d'acrylamide dans les capillaires du séquenceur. La taille des ADN amplifiés est mesurée afin de nommer les allèles. Les résultats sont donnés sous la forme d'une matrice croisant locus et truites et indiquant un génotype à deux allèles à chaque intersection (un allèle du père et un allèle de la mère du poisson). Cette matrice de génotypes est le point de départ de toutes les analyses statistiques détaillées aux chapitres suivants.

4. Les méthodes statistiques

Il existe une multitude de méthodes statistiques permettant de faire parler la matrice de génotypes. Les méthodes choisies ici sont d'une part efficaces et très utilisées en génétique des populations, et d'autre part visuelles, pour que le lecteur non spécialiste puisse suivre les résultats et le raisonnement.

- *L'analyse multidimensionnelle* permet de positionner sur un graphique chaque truite en fonction de l'ensemble de ses caractéristiques génétiques (génotypes). La méthode choisie est

l'Analyse Factorielle des Correspondance (AFC) traitée avec le logiciel GENETIX. Les regroupements de points (= truites) sur le graphique, appelés "nuages", correspondent aux différentes lignées présentes dans l'échantillonnage global. Cette méthode est considérée comme un débroussaillage des données moléculaires permettant de comprendre rapidement quelles sont les lignées en présence et leur éventuelle hybridation.

- *L'analyse d'assignation* permet de découper l'échantillonnage global en sous-groupes qui sont les lignées présentes. Cette méthode plus délicate d'emploi a l'avantage de chiffrer (%) la composition de chaque échantillon en différentes lignées. L'analyse d'assignation est effectuée avec le logiciel STRUCTURE. Le nombre objectif de sous-unités est déterminé par le logiciel STRUCTURE HARVESTER (aide à la décision);

- *Diversité génétique et panmixie* sont deux mesures utiles. La bonne santé et donc la survie future d'une population, surtout dans un contexte de réchauffement, nécessitent une diversité génétique importante afin de s'adapter aux nouvelles conditions écologiques. D'autre part, la mesure de la panmixie qui caractérise une population en équilibre dont tous les membres se reproduisent au hasard permet de détecter des immigrations ou des conditions écologiques extrêmes.

5. Résultats

5.1. Débroussaillage par AFC

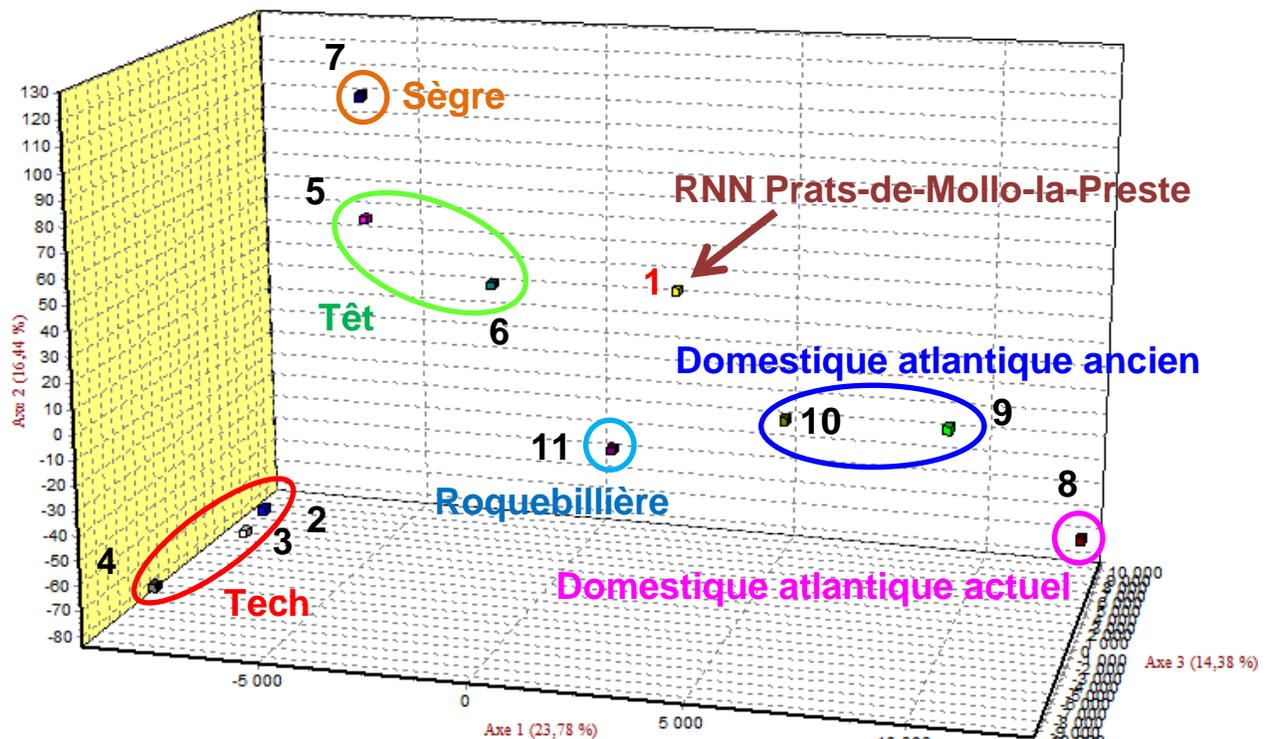


Figure 2 : Analyse multidimensionnelle (AFC) disposant tous les échantillons d'après leurs caractéristiques génétiques. Les truites de la réserve apparaissent entre les lignées Têt et atlantique ancien, mais loin de la lignée Tech.

5.2. Chiffrage par assignation

L'analyse d'assignation permet de classer et de chiffrer la composition génétique de chaque échantillon et de chaque truite. Ici les tests ont comporté 100 000 itérations sans enregistrement (=burn'in) et 200 000 avec enregistrement. Cette méthode par apprentissage (intelligence artificielle) a été répétée 5 fois pour chaque valeur de K (= nombre de sous-groupes imposés) allant de 1 à 8. Selon STRUCTURE HARVESTER, le découpage le plus informatif est obtenu pour K = 4. Cependant les autres découpages sont intéressants à observer, c'est pourquoi deux histogrammes sont présentés à la Figure 3: avec K=4 et K=7 (où le maximum de lignées est décrit).

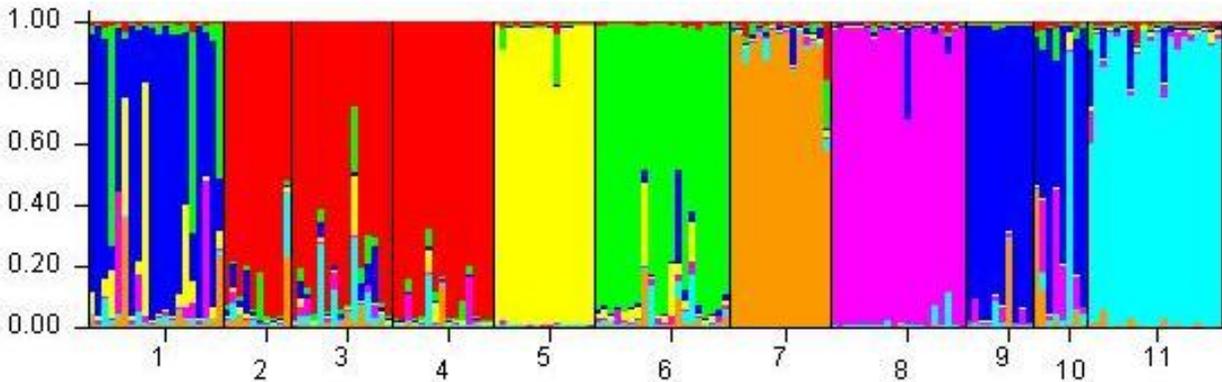


Figure 3: Histogramme de la composition génétique de chaque truite (fines barres verticales) et de chaque échantillon quand on subdivise l'échantillonnage total en 7 lignées (K=7, histogramme du bas).

Signification des couleurs:

- rouge = lignée Tech; Vert = Têt (et jaune = Carança); orange = Sègre;
- rose = lignée domestique atlantique commerciale actuelle; bleu-marine = lignée domestique atlantique ancienne trouvée dans tout le département; bleu-clair = souche domestique méditerranéenne de Roquebillière.

		Tech	Têt	Carança	Sègre	domestique Roquebillière méditerranéen	domestique atlantique ancien	domestique atlantique actuel
1	RNN Prats-de-Mollo-la-Preste	1	11	12	4	2	64	6
2	Tech (amont barrage La Preste)	86	1	2	4	3	3	1
3	Tech (St Sauveur)	81	2	4	2	6	3	2
4	Parcigoule	91	2	2	2	2	1	2
5	Carança (réserve amont)	1	96	2	0	0	0	0
6	Têt (Millas)	1	11	77	3	3	3	2
7	Err (village)	2	1	2	90	2	2	1
8	pisciculture Isère	1	0	1	1	1	2	93
9	Nohède (amont - Pla del Gorg)	1	0	3	4	1	89	3
10	Emissère du lac des Dougnes	1	1	11	8	13	55	11
11	pisciculture Roquebillière	1	1	2	1	89	4	2

Tableau 2: Transformation de la Figure 3 en pourcentages. Les couleurs des entêtes sont celles de la Figure 3. Le dégradé de jaune-orange renseigne sur les lignées dominantes dans chaque échantillon. Les valeurs égales ou inférieures à 5% sont considérées comme du bruit de fond de la méthode et ne doivent pas être prises en compte.

Avec un découpage en 4 n'apparaissent que les lignées Tech, Têt, domestique atlantique et domestique méditerranéenne, ce qui représente la structure la plus forte, mais pas la plus informative. Puisqu'il a fallu pousser le découpage jusqu'à 7 pour faire ces observations et que l'aide à la décision préconise de tenir compte de $K=4$, cela signifie que ces informations (distinction des lignées Têt/Carança, domestiques atlantiques anciennes/actuelles) sont basées sur des différences génétiques très faibles.

	Secteur de pêche (voir Figure 1)	Tech	Têt	Carança	Sègre	domestique atlantique actuel	domestique atlantique ancien	domestique Roquebillière méditerranéen
Truite n° 01	Ouillat 1	1	7	2	3	0	85	1
Truite n° 02	Ouillat 2	0	1	1	1	1	96	1
Truite n° 03	Ouillat 3	2	5	4	1	1	79	9
Truite n° 04	Ouillat 4	1	16	73	1	1	7	2
Truite n° 05	Ouillat 5	0	1	1	4	35	58	2
Truite n° 06	Ouillat 5	3	39	2	37	0	18	1
Truite n° 07	Amont cascade	0	1	1	1	1	95	1
Truite n° 08	Amont cascade	1	4	1	1	11	77	4
Truite n° 09	Amont cascade	1	77	1	1	2	18	1
Truite n° 10	Amont cascade	1	1	1	1	1	96	1
Truite n° 11	Aval cascade	1	1	4	2	1	92	1
Truite n° 12	Aval cascade	1	1	1	1	2	93	2
Truite n° 13	Aval cascade	1	1	3	1	1	93	1
Truite n° 14	Aval cascade	1	5	3	5	1	85	1
Truite n° 15	Aval cascade	1	34	2	3	4	56	1
Truite n° 16	Aval cascade	3	7	65	1	5	16	2
Truite n° 17	Aval cascade	0	0	0	1	1	96	1
Truite n° 18	Aval cascade	1	2	2	2	44	48	1
Truite n° 19	Aval cascade	0	3	5	2	0	89	1
Truite n° 20	Aval cascade	1	7	49	23	1	19	2

Tableau 3: Assignation des 20 truites analysées une par une. La majorité est de type domestique atlantique ancien (14 à 15 truites), quatre sont dominées par la lignée Carança (la truite 9, bien que de lignée Têt, est assimilée à la lignée Carança du fait de la proximité génétique de ces deux lignées et de l'absence de repeuplement avec des truites de la Têt). Il n'y a pas de différence visible entre les deux années de capture ni entre les stations, même de part et d'autre de la cascade.

5.2. Diversité génétique et panmixie

La diversité génétique mesurée avec les paramètres Hnb (Hétérozygotie dite "calculée" sous l'hypothèse de panmixie, pondérée par la taille de l'échantillon) est de 75% d'hétérozygotie, ce qui est très élevé quand on la compare à celle de la souche domestique atlantique commerciale actuelle qui montre 69% d'hétérozygotie, ce qui est considéré comme un fort polymorphisme (Bohling et al. 2016). Parmi tous les échantillons de référence, seuls ceux représentant la souche domestique atlantique ancienne font mieux (77 et 84%).

La panmixie, mesurées par le paramètre Fis, montre un écart de 7% à la normale, ce qui n'est pas significatif. Malgré un échantillonnage décalé dans le temps (2015 et 2018) et dans l'espace (point de capture écartés de 1,7km avec une cascade au milieu, l'échantillon est panmictique, ce qui s'explique par une grande stabilité des composantes génétiques le long du cours d'eau et à trois ans d'écart.

6. Interprétation et Discussion

6.1. Quelles truites dans la réserve?

Les vingt truites du Tech au niveau de la Réserve Naturelle Nationale de Prats-de-Mollo-La-Preste sont essentiellement de type atlantique, appartenant à une souche domestique maintes fois rencontrée dans le département, et probablement utilisée avant l'usage de la souche domestique actuelle. Cette souche atlantique moderne ne se retrouve quasiment pas dans les truites analysées à l'exception des truites 18, 5 et 8 (par ordre décroissant d'implication). Après cette souche atlantique nationale, des souches méditerranéennes ont été employées: Roquebillière et Sahorre (souche Carança). Parmi ces dernières souches, seule la Carança se retrouve ici.

Globalement, on trouve 64% de la souche domestique atlantique ancienne et 23% de la souche Carança. La souche domestique atlantique actuelle ne se retrouve qu'à 6%: la limite de détection.

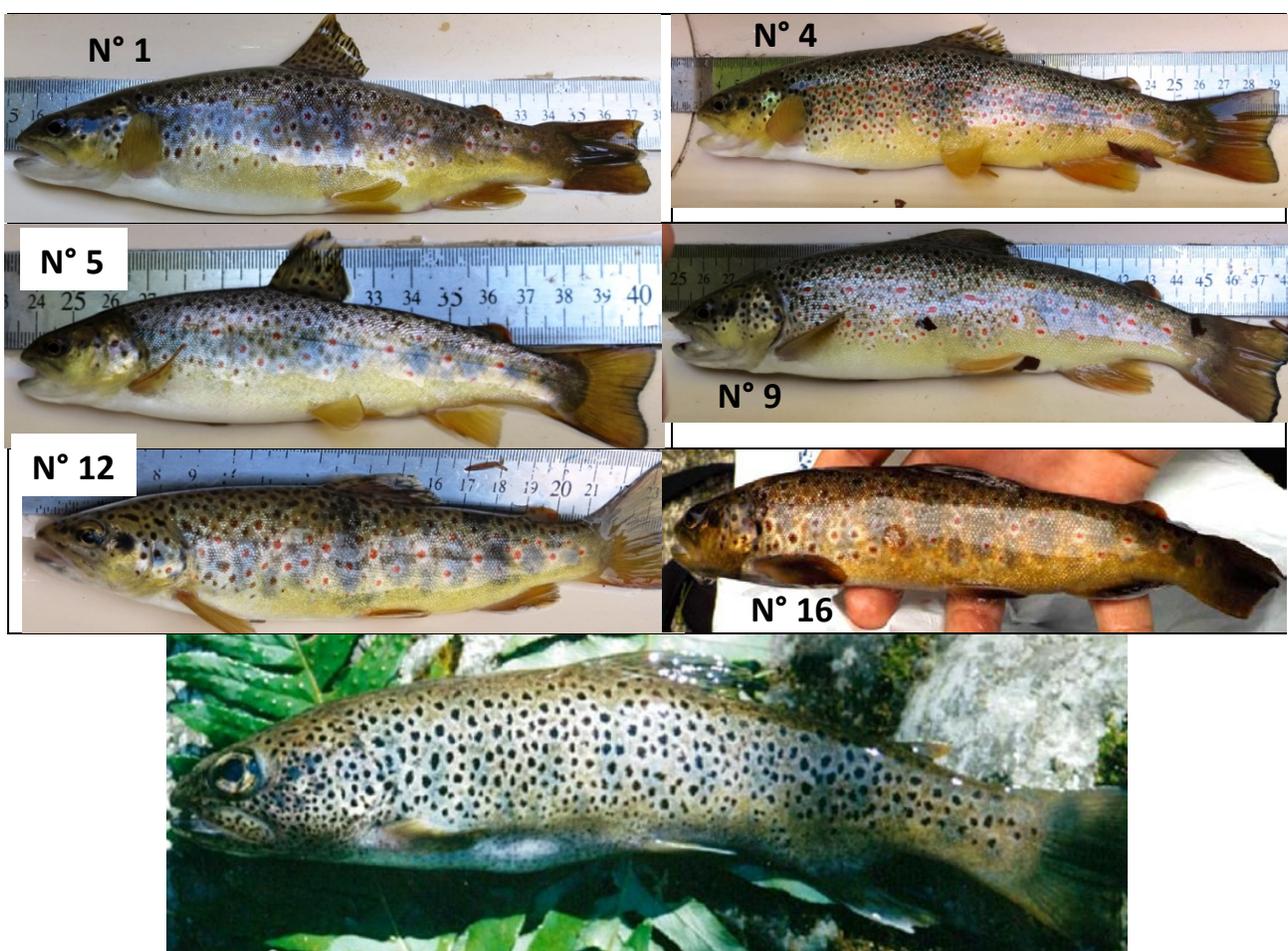


Figure 4: Robe des truites étudiées: à gauche la lignée domestique atlantique ancienne et à droite les truites à lignée Carança dominante. En bas, le type morphologique Tech, truite capturée en 2000 dans la rivière de Las Illas en amont de Maureillas.

Morphologiquement, il y a peu de différence entre les truites de lignée domestique atlantique ou méditerranéenne dans cette partie du Tech: pour la lignée méditerranéenne (Figure 4, à droite), il y a plus de taches (noires surtout, mais rouge aussi) moins ocellées de blanc, spécialement sur

l'opercule. Cela semble être les seules différences. C'est très loin du type Tech, couvert d'une multitude de taches noires (Figure 4, en bas).

6.2. Impact des repeuplements

Les analyses génétiques ne sont compréhensibles que par comparaison des truites de rivière, de nature inconnue (celles qui font l'objet de cette étude), avec les truites de référence connue. La présence de truites domestiques est détectée par ressemblance génétique avec les truites de référence de pisciculture. Toutefois, si une autre souche inconnue (ou non signalée au laboratoire) a été utilisée dans la zone étudiée, les estimations peuvent être faussées sans que nous le sachions.

Le Tech conserve de nombreuses populations sauvages autochtones, comme l'a montré le rapport PO2017 (Figure 5). Cependant, l'amont du Tech (dont les truites de la réserve de Prats-de-Mollo-La-Preste) est très impacté par la gestion halieutique: la souche atlantique nationale commerciale actuelle a été répandue à partir de 1994 en provenance de plusieurs piscicultures: Cauterets, Cabillon, Savine Le Lac, La Canourgue). Mais cette dernière souche atlantique ne se retrouve quasiment pas dans les truites analysées ici à l'exception des truites 18, 5 et 8 (par ordre décroissant d'implication). Après cette souche atlantique nationale, des souches méditerranéennes ont été employées: Roquebillière et Sahorre (souche Carança). Parmi ces dernières souches, seule la Carança se retrouve ici (Tableau 2).

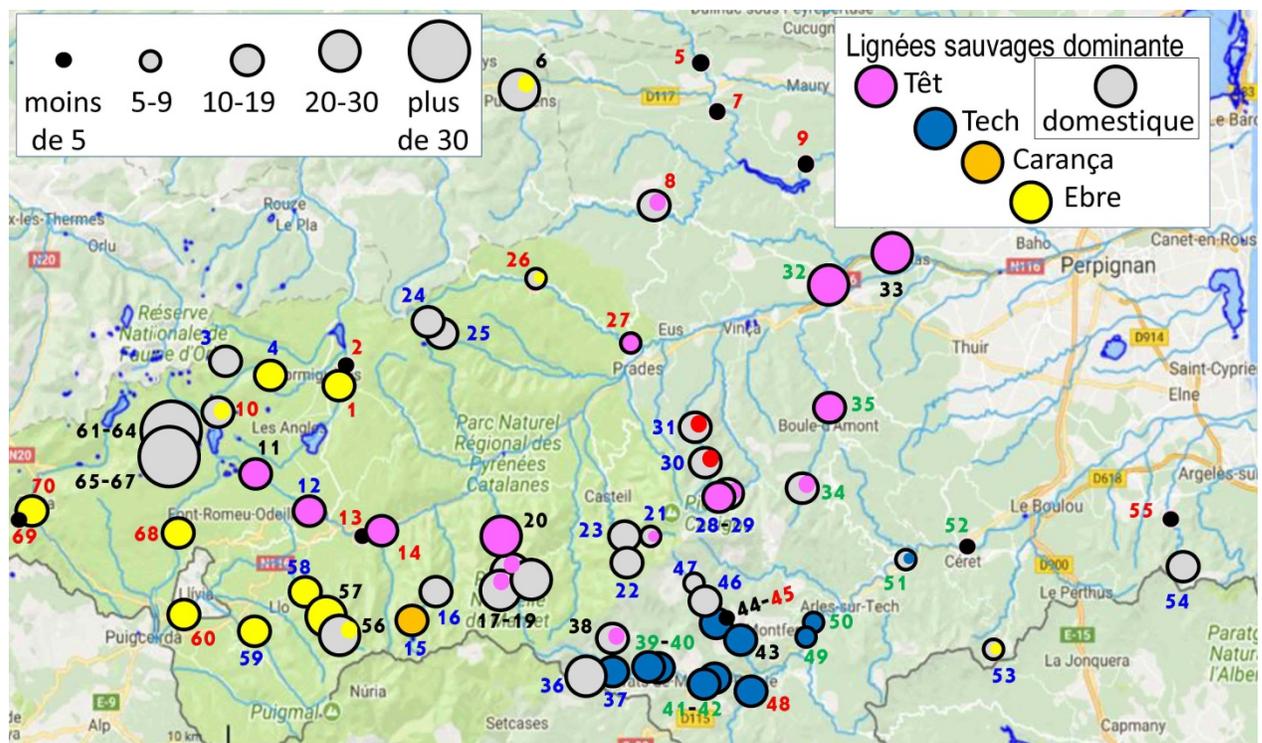


Figure 5: Carte tirée du rapport PO2017 montrant la persistance de la lignée sauvage Tech (en bleu) et la présence variable des formes domestiques (en gris). L'amont du Tech apparaît comme fortement impacté par les souches domestiques (station 36 = Soulanette, 38= Grafouil et 46-47= Coumélaide amont). C'est aussi le cas de la station 54 (amont de la rivière Riberette).

6.3. Conclusions

Les réserves Naturelles des Pyrénées Orientales semblent avoir perdu leur peuplement naturel de truites. Parmi les réserves déjà prises en compte dans le passé, la **Réserve Naturelle Nationale de Mantet** (sur le Mantet, affluent de la Têt) était peuplée en 2014 de truites hybrides composées à 50% de la lignée domestique Carança et de seulement 38% de la probable lignée naturelle appelée lignée Mantet (rapport MANT). La **Réserve Naturelle Régionale de Nyer**, échantillonnée en 2014 aussi présentait 28% de la souche Carança et 66% de la souche naturelle (dite Mantet). Il est vrai que ces deux réserves ont dû subir la crue dévastatrice de 2003 et ont repeuplé en conséquence.

Dans la **Réserve Naturelle Nationale de Prats-de-Mollo-La-Preste**, ce sont les lignées domestiques atlantiques qui dominent à 70%, suivie de la lignée Carança à 23%. La forme naturelle, probablement la lignée Tech, est totalement absente.

Fait à Saint-Just le 5 mars 2020

7. Références bibliographiques citées

*La plupart des rapports cités peuvent être trouvés sur le site <https://data.oreme.org/trout/home> dans l'onglet "Liste des rapports" (cliquez sur "France" puis sur les départements concernés). Pour les options cartographiques du site, *utilisez Firefox*.*

- Berrebi P, 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, and Reynaud N. 2010. Rapport d'analyse des truites des Pyrénées Orientales - microsatellites et séquençage de la Dloop - mai 2010 (Rapport [PO4](#)): Université Montpellier 2. 10p.
- Berrebi P, Cherbonnel C, and Shao Z. 2011. Analyse génétique des truites des Pyrénées Orientales - Etape 2 - Têt, Carança, Llech, Prat d'En Salze - Rapport [PO5](#) de juin 2011 Université Montpellier 2, Rapport d'analyses pour l'ONF, 14p.
- Berrebi P, and Genindex. 2013. Analyse génétiques des truites de la Réserve Naturelle d'Eyne - Seconde campagne - Projet [EYN2](#) - août 2013: Rapport d'analyse pour la Réserve Nationale de Vallée d'Eyne, Université Montpellier 2. 14p.

- Berrebi P, and Shao Z. 2013. Analyse génétique des 4 échantillons de truites des Pyrénées Orientales (Tech et Agly) - Projet [PO7](#) - Rapport de mai 2013: Université Montpellier 2, 16 p.
- Berrebi P, and Schikorski D. 2016. Origine génétique des truites des lacs et rivières du Massif du Carlit. Recherche de souches distinctes - Projet [PO8](#): Rapport d'étude pour la FD66, Université de Montpellier, 8p.
- Berrebi P, and Schikorski D. 2016. Origine génétique des truites capturées dans la vallée de la Têt - Rapport [PO9](#): Etude pour la FD66, Université de Montpellier. 10p.
- Berrebi P, and Schikorski D. 2016. Cartographie génétique des truites des Pyrénées Orientales en vue d'une gestion adaptée - Méta-analyse [PO2016](#): Rapport d'étude pour la FD66. Université de Montpellier. 13p.
- Berrebi P, and Schikorski D. 2018. Cartographie génétique des truites des Pyrénées Orientales en vue d'une gestion adaptée - Partie 2 - Méta-analyse [PO2017](#): Rapport d'analyse pour la FD66 par Genome - Recherche & Diagnostic, 14p.
- Bohling J, Haffray P, and Berrebi P. 2016. Genetic diversity and population structure of domestic brown trout (*Salmo trutta*) in France. *Aquaculture* 462: 1-9.



Le Tech au niveau de la Réserve Naturelle Nationale de Prats de Mollo - La Preste (© FD66)