

Suivi génétique des truites sauvages et domestiques de l'Orb

-
Méta-analyse ORB7



Diversité des truites du Bouissou (photos de 2011 dans le rapport ORB3) © **FD34**

Analyses statistiques et rédaction: **Patrick BERREBI**
ISEM, Université Montpellier 2, cc065, place Bataillon, 34095 Montpellier Cedex 05
Tél: 04 67 14 37 32, Mél: patrick.berrebi@umontpellier.fr

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

La gestion de la truite est une activité complexe du fait de la multitude des pratiques passées et de la diversité naturelle de l'espèce. La gestion actuelle nécessite l'établissement d'un plan d'action justifié et la satisfaction des pêcheurs qui ont des points de vue parfois opposés. Les gestions halieutique ou patrimoniale s'appliquent en France en fonction de chaque situation. Les analyses génétiques peuvent aider à faire un choix. Elles 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 87 échantillons de nageoires dans l'alcool ont été livrés à l'Institut des Sciences de l'Evolution de Montpellier (ISEM) de l'Université de Montpellier (UM) le 8 février 2016 par la Fédération des Associations Agréées de Pêche et de Protection du Milieu Aquatique (AAPPMA) de l'Hérault (FD34). Monsieur Eric Ravel est le correspondant de la FD34 auprès de l'ISEM.

N° carte	Station	Nombre	Bassin	ss bassin	année	Rapport	N° ISEM échantillon	N° ISEM individus
1	Orb (Furou)	20	LR	Orb	2013	ORB5	L437	T25993-T26012
2	Orb (Furou)	22	LR	Orb	2015	ORB6	L291	T28191-T28213
3	Gravezon (amont)	10	LR	Orb	2012	ORB4	L078	T24661-T24680
4	Gravezon (Joncel)	20	LR	Orb	2010	ORB2	L356	T19018-T19027
5	Gravezon (Joncel)	20	LR	Orb	2014	ORB6	L618	T27042-T27061
6	Gravezon (Joncel)	45	LR	Orb	2015	ORB6	L292	T28214-T28258
7	Rec de Mélac	4	LR	Orb	2010	ORB2	L357	T19028-T19031
8	Rec de Sourlian (Archer)	6	LR	Orb	2010	ORB2	L358	T19032-T19037
9	Gravezon (amont village)	20	LR	Orb	2015	ORB7	L718	T29629-T29648
10	Gravezon (confl. Orb)	20	LR	Orb	2013	ORB5	L440	T26013-T26032
11	Mare (Castanet le Haut)	30	LR	Orb	2012	ORB4	L084	T24686-T24700
12	Mare (Castanet le Haut)	18	LR	Orb	2014	ORB6	L617	T27024-T27041
13	Mare (Castanet le Haut)	14	LR	Orb	2015	ORB6	L557	T28259-T28272
14	Rongas	5	LR	Orb	2012	ORB4	L082	T24681-T24685
15	Bouissou (moulin d'Orques)	20	LR	Orb	2010	ORB2	L318	T18259-T18272
16	Bouissou (moulin d'Orques)	14	LR	Orb	2015	ORB7	L719	T29644-T29668
17	Rec de Madale (Rosis)	20	LR	Orb	2015	ORB7	L714	T29602-T29621
18	Cavenac	1	LR	Orb	2015	ORB7	L715	T29622
19	Cassillac	1	LR	Orb	2015	ORB7	L716	T29623
20	Esperazo	5	LR	Orb	2015	ORB7	L717	T29624-T29628
21	Pisciculture Foncaude	10	LR	Orb	2015	ORB7	L712	T29582-T29591
22	Pisciculture Foncaude	10	LR	Orb	2015	ORB7	L713	T29592-T29601
23	Babeau (souche Gravezon)	41	P	34	2014	MAE1	L619	T27643-T27683
24	Babeau (Cauterets 2014)	28	P	34	2014	MAE1	L556	T28112-T28140
25	pisciculture Isère	30	P	38	2008	GSALM2	L266	T16926-T16955

Tableau 1 : Détail des échantillons analysés. En jaune les échantillons à analyser pour ORB7; en blanc les échantillons de référence servant aux comparaisons; en gris la référence domestique atlantique.

Les analyses statistiques nécessitent de comparer les génotypes des truites des 87 échantillons constitués en 2015 avec des truites de type connu. Ainsi, aux échantillons à analyser ont été rajoutés d'autres échantillons déjà analysés par l'ISEM dans divers affluents de l'Orb représentant les lignées déjà détectées localement (Tableau 1).

Une première version du présent rapport avait donné quelques résultats surprenant (en particulier la présence d'une lignée "Hérault" dans le Bouissou de 2015). La présente version inclue tous les échantillons de l'Orb (et des piscicultures impliquées) ayant été analysés dans le passé sur 6 marqueurs microsatellites au moins: c'est donc une méta-analyse. Cela permettra de décrire l'originalité éventuelle des nouveaux échantillons. Les localisations des échantillons analysés sont détaillées à la Figure 1. Leurs caractéristiques sont précisées au Tableau 1.

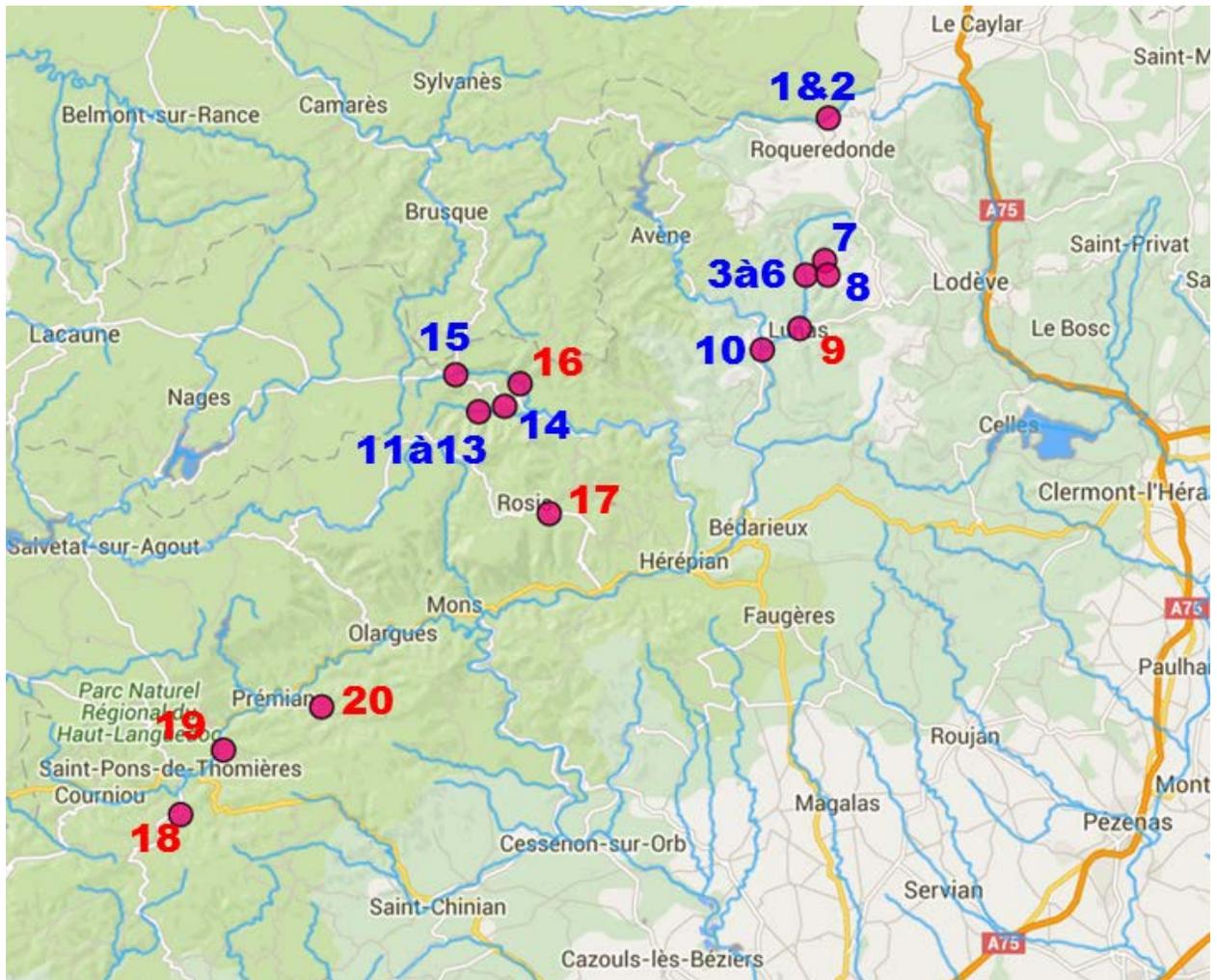


Figure 1 : Positionnement géographique des stations échantillonnées pour le présent rapport (numéros en rouge) ainsi que des stations de référence proches (en bleu). La signification des chiffres est donnée au Tableau 1.

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 bien particuliers des chromosomes (les locus). Pour être informatifs, des locus hypervariables sont choisis, les microsatellites. Ici, nous avons choisi 6 locus microsatellites nommés Oneμ9, Mst85, SsOSL-311, Omy21DIAS, Mst543, SSoSI-438. Leurs allèles constituent les génotypes des truites.

Les génotypages sont assurés par Genindexe, laboratoire privé. Les résultats sont donnés sous la forme d'une matrice croisant locus et truites et indiquant un génotype à deux allèles dans chaque cellule de la matrice (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 visuelle 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 Correspondances (AFC) traitée avec le logiciel GENETIX. Les regroupements de points (= truites) sur le graphique, appelés "nuages", décrivent les 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. Elle permet aussi de décrire la composition en lignées de chaque truite (= taux d'hybridation). L'analyse d'assignation est faite avec le logiciel STRUCTURE. Le nombre objectif de sous-unités est déterminé par le logiciel STRUCTURE HARVESTER, mais plusieurs niveaux de découpage peuvent être explorés;

5. Résultats

5.1. Débroussaillage par AFC

La première image des analyses génétiques, par AFC (Figure 2), positionnant seulement les centres de gravité (et non pas les individus) de chaque échantillon, montre une opposition entre, à gauche, les truites domestiques atlantique, à droite les truites du Gravezon (la souche méditerranéenne de Babeau étant le plus à droite) et en haut à droite les truites de Fontcaude (en fait des truites du fleuve Hérault). Au centre, trois lignées proches: l'Orb amont, la Mare et le Bouissou et plus haut le Jaur. La distinction et le décompte de ces lignées présumées se fera par la méthode d'assignation au paragraphe suivant.

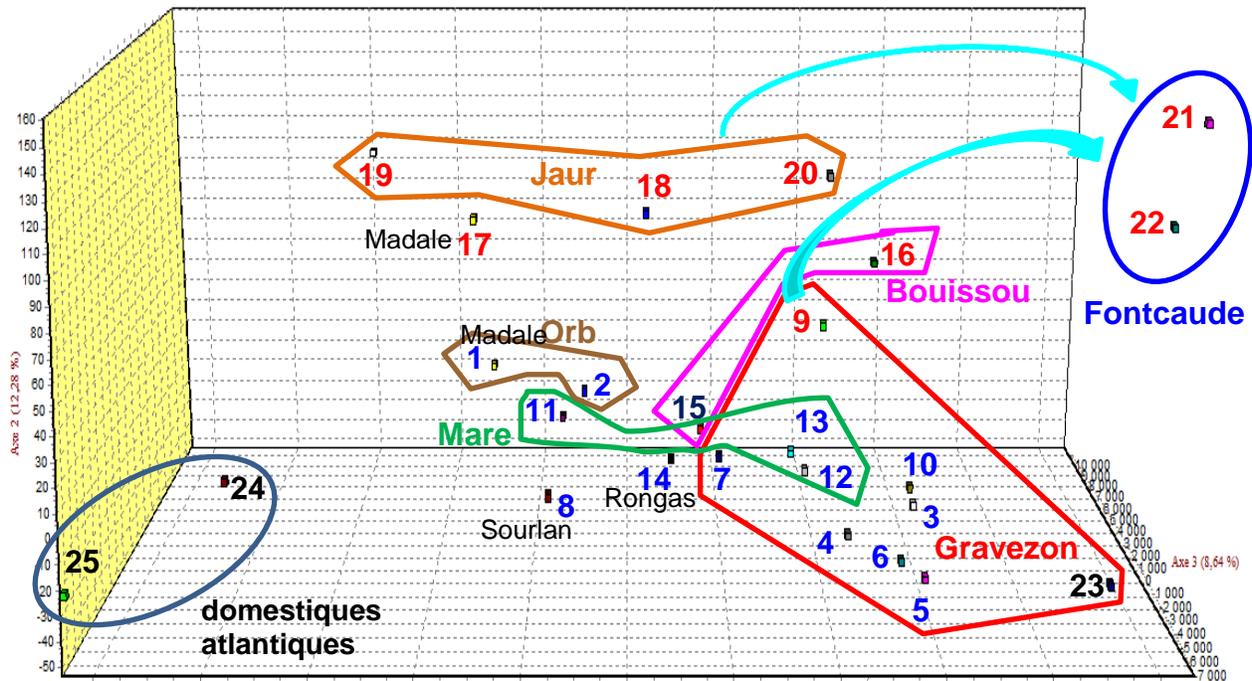


Figure 2 : Analyse multidimensionnelle (AFC) disposant toutes les truites considérées d'après leurs caractéristiques génétiques. Trois grandes lignées structure le diagramme en forme de triangle (Hérault, Gravezon et atlantiques). Les flèches bleues représentent l'influence de la lignée Hérault sur de Gravezon médian (échantillon 9), certains affluents du Jaur, mais surtout sur le Bouissou aval (16).

5.2. Chiffre par assignation

L'analyse d'assignation permet de classer et de chiffrer la composition génétique de chaque échantillon. Dans le cas présent le logiciel a été entraîné avec 100000 répétitions de "burn'in" suivi de 100000 itérations de recherche des meilleurs partitions. Les tests ont été faits pour un nombre de sous-groupes (=K) compris entre 1 et 8, avec 5 tests par valeur de K.

L'aide à la décision propose K=2 comme partition la plus vraisemblable, mais les autres valeurs de K ont été analysées arrivant à la seconde partition la plus cohérente pour K=4. Ensuite, sans apporter plus de cohérence à l'analyse, la partition k=5 est aussi intéressante car elle sépare la souche atlantique Cauterets (échantillon 24) de la souche nationale atlantique commerciale (25). Le décompte des lignées se fera donc pour K=5 (Figure 3 et Tableau 2).

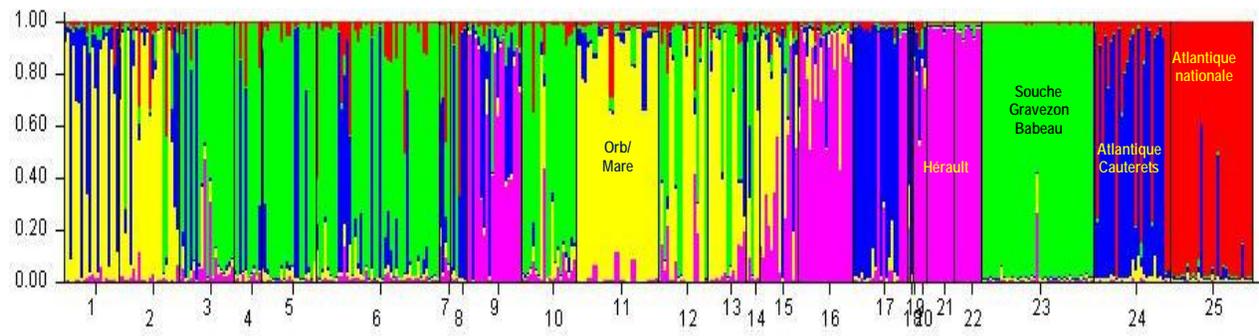


Figure 3: Histogramme de la composition génétique de chaque truite (fines barres verticales) et de chaque échantillon quand on subdivise l'échantillonnage total en 4 lignées.

Le chiffrage en pourcentages de la Figure 3 est présenté au Tableau 2.

N° carte	Station	année	Nombre	Orb/Mare	Gravezon	Hérault	Cauterets	Atlantique national	somme domestiques
1	Orb (Furou)	2013	20	55	2	2	39	2	41
2	Orb (Furou)	2015	22	59	13	2	18	7	26
3	Gravezon (amont)	2012	10	4	72	7	14	2	16
4	Gravezon (Joncel)	2010	20	2	72	2	17	7	24
5	Gravezon (Joncel)	2014	20	2	75	1	19	2	22
6	Gravezon (Joncel)	2015	45	3	71	2	16	8	24
7	Rec de Mélac	2010	4	5	44	8	31	13	44
8	Rec de Sourlan (Archer)	2010	6	1	31	1	50	16	66
9	Gravezon (amont village)	2015	20	3	7	61	27	2	29
10	Gravezon (confl. Orb)	2013	20	10	78	6	3	4	7
11	Mare (Castanet le Haut)	2012	30	85	3	3	6	3	9
12	Mare (Castanet le Haut)	2014	18	46	40	7	2	5	7
13	Mare (Castanet le Haut)	2015	14	58	28	5	7	2	9
14	Rongas	2012	5	54	29	3	13	2	14
15	Bouissou (moulin d'Orques)	2010	20	49	5	28	14	4	18
16	Bouissou (moulin d'Orques)	2015	14	11	2	80	5	3	7
17	Rec de Madale (Rosis)	2015	20	3	1	22	73	2	74
18	Cavenac	2015	1	15	1	22	61	1	62
19	Cassillac	2015	1	3	0	1	95	1	96
20	Esperazo	2015	5	3	2	75	17	3	20
21	Pisciculture Foncaude	2015	10	1	1	97	1	1	1
22	Pisciculture Foncaude	2015	10	1	2	96	1	0	1
23	Babeau (souche Gravezon)	2014	41	1	96	2	1	1	1
24	Babeau (Cauterets 2014)	2014	28	2	1	1	64	32	96
25	pisciculture Isère	2008	30	1	1	1	5	93	98

Tableau 2: Calcul des pourcentages de présence de chacune des 5 lignées détectées en Figure 2. Les cellules en orange correspondent à la lignée très dominante ou exclusive dans un échantillon; en jaune à la lignée simplement majoritaire. Ces valeurs ont été obtenues pour un découpage en 5 lignées ($K=5$) permettant la distinction entre atlantiques commerciales nationales et souche de Cauterets. On voit que cette dernière souche est bien plus présente que la souche nationale. La dernière colonne cumule la présence atlantique dans la région.

6. Interprétation et Discussion

6.1. 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 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 cas de l'Orb est particulier puisqu'une souche de pisciculture (à la pisciculture fédérale de Babeau), largement utilisée pour des repeuplements, est issue d'un affluent local (le Gravezon).

Par convention, nous allons considérer que toute présence de la lignée Gravezon en dehors de cet affluent est issue de la pisciculture de Babeau, mais ce n'est qu'une hypothèse.

Ainsi, le Tableau 2 nous indique que :

- le peuplement salmonicole de l'Orb amont (niveau Furou) est à 55-60% de lignée locale; en 2013 elle présentait 40% de lignée Cauterets mais en 2015, cette souche a été partiellement remplacée par 13% de la souche Gravezon

- le Gravezon est en général un assemblage de 75% environ de lignée locale (sans qu'on puisse distinguer les repeuplements en souche Gravezon de Babeau) et 20% en souche domestique de Cauterets; avec quelques exceptions: les Recs de Mélac et surtout de Sourlan plus impactés par Cauterets et surtout l'échantillon 2015 entre Joncel et confluence, qui présente étrangement 60% de lignée de l'Hérault;

- la Mare au niveau de Castanet le Haut ainsi que le Rongas sont dominés par als souche locale nommée ici Orb/Mare avec un impact variable des repeuplements en souche Gravezon de Babeau (absence en 2012, présence à moitié en 2014 et au tiers en 2015);

- le Bouissou serait naturellement plutôt de type Orb/Mare, ce qui est géographiquement cohérent; cependant la station la plus amont échantillonnée en 2015 présente une large majorité (80%) de la lignée Hérault, considérée comme exotique ici; ce n'était pas le cas en 2010 où elle n'atteignait pas les 30%;

- Le Rec de Madale et le Jaur (Cavenac et Cassillac avec une seule truite par rivière) sont fortement impactés par la souche atlantique de Cauterets, mais l'Esperazo, affluent du Jaur, est dominé par la souche Hérault.

L'impact des souches domestiques atlantiques peut donc être considéré comme modéré dans la zone étudiée (allant de 0 à 50%), surtout constituée par la souche Cauterets, largement utilisée. Les très petits cours d'eau semblent plus impactés (Rec de Sourlan, petits affluents du Jaur). L'observation la plus surprenante est la présence parfois important d'une souche issue du bassin de l'Hérault (Gravezon médian, Bouissou et Esperazo, tous échantillonnés en 2015).

6.2. Les truites de Fontcaude

Aux analyses de truites de rivières, ont été rajoutées des truites issues de la pisciculture de Fontcaude. Un premier lot, appelé Fontcaude A est composé de truitelles (1+) issues d'un père de la Brèze et d'une mère de la Lergue, deux rivières affluents de l'Hérault. Un second lot (Fontcaude B) est composé d'alevins (0+) issus de deux parents de la Lergue.

Bien qu'une première analyse ait montré une certaine incohérence, la méta-analyse présentée ici (avec un grand nombre d'échantillons de référence) montre la présence d'une lignée Hérault unique (les valeurs de 96 et 97% sont assimilables à 100% compte tenu du "bruit de fond" de la méthode).

6.3. La lignée Hérault

Cette lignée, placée en haut à droite de l'AFC (Figure 2) et colorée en rose dans l'histogramme d'assignation (Figure 3) a été reconnue comme telle parce qu'elle était majoritaire dans les truitelles et alevins élevés dans la pisciculture de Fontcaude et issus de parents de la Brèze et de la Lergue. Si cette présence de la lignée Hérault était attendue dans les échantillons de Fontcaude, elle est difficile à expliquer dans l'Esperazo (75%) et surtout le Bouissou et le Gravezon entre Joncel et confluence en 2015 (61 et 80%).

6.2. Structure génétique naturelle des truites de l'Orb amont

La présente étude réunit les populations déjà bien connues de l'Orb amont (près de Furou), de la Mare et du Gravezon. Des truites du Jaur ont été rajoutées pour la première fois. Sur cet ensemble, seules deux lignées différenciées ont été détectées: celle de l'Orb (qui inclut la Mare) et celle du Gravezon. La lignée Hérault se surajoute, surtout dans l'Esperazo et le Bouissou mais aucune explication claire n'est disponible.

Quand on regarde les analyses précédentes de la même région, seule l'analyse ORB5 distingue l'Orb de la Mare.

Le **Bouissou** est parfois hybridé (avec des truites atlantiques en 2009 dans ORB1; 20% du Gravezon et 14% d'atlantiques en 2012 dans ORB4), parfois entièrement sauvage (en 2011, ORB3, malgré l'hétérogénéité de la robe comme présenté en page de garde) et proche de la lignée Gravezon (ORB2). En 2015, la population semble envahie par la lignée Hérault (80%) avec 11% du type du type Orb/Mare sans pouvoir dire si c'est la forme naturelle qui habitait la rivière.

Dans le **Gravezon**, les analyses ont toujours donné un "fond" sauvage presque pur sur lequel on retrouvait des truites atlantiques nées en pisciculture (2/10 en 2010, 3/20 en 2012, 3/20 en 2014). Entre 2010 et 2014, l'absence d'hybrides montre que des truites de pisciculture passent par là mais ne s'implantent pas, elles ne participent pas à la fraie naturelle. En 2015, station échantillonnée pour la première fois, entre la zone habituelle de Joncel et la confluence avec l'Orb (station dite "amont village", nous trouvons plus de 60% de souche Hérault. Cette présence de la souche Hérault (ou du moins de la souche élevée à la pisciculture de Fontcaude) est mystérieuse. Peut-être que les analyses ultérieures nous apporteront une explication.

En conclusion, le peuplement en truites de la zone amont de l'Orb est caractérisé par deux lignées principales (Orb et Gravezon) et probablement une lignée Mare génétiquement proche de celle de l'Orb. La présence d'une lignée Hérault n'est pas expliquée. La dispersion par repeuplement de la souche atlantique de Caudebec (plus présente que la lignée nationale) est facile à détecter, par contre la reconnaissance de la souche domestique Gravezon est évidente dans des rivières naturellement distinctes (Orb, Mare) mais difficile dans le Bouissou dont la forme naturelle n'est pas déterminée (la Figure 3 semble indiquer que la forme naturelle du Bouissou serait de lignée Gravezon, mais c'est géographiquement incohérent) et *a fortiori* dans le Gravezon lui-même.

Fait à Montpellier le 15 juin 2016

7. 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., Shao Z. 2010. Rapport d'analyse des truites de la Mare (Bouissou et Espase, bassin de l'Orb) - rapport du 2 avril 2010: 4p. Université Montpellier 2. ([ORB1](#))
- Berrebi P., Cherbonnel C. 2011. Caractérisation génétique des truites de l'Orb (Bouissou et Gravezon) - Campagne 2010: 10p. Rapport d'analyses pour la Fédération de Pêche de l'Hérault. Université Montpellier 2. ([ORB2](#))
- Berrebi P., Shao Z. 2012. Détermination génétique des truites du bassin de l'Orb département de l'Hérault (campagne 2011 : Bouissou et Mare) - Février 2012, p. 7. Rapport d'étude pour la Fédération de Pêche 34, ISEM Université Montpellier 2. ([ORB3](#))
- 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., Schikorski D. 2015. Composition génétique des truites de l'Orb (34) - Campagne de pêche 2014 (Mare, Gravezon, souche Babeau) - Rapport [ORB6](#). 10p.
- 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.