

Détermination génétique des truites du bassin de l'Orb département de l'Hérault (campagne 2011 : Bouissou et Mare)

Février 2012



Rec de Mélac

© Patrick Berrebi

Analyses statistiques, interprétation, rédaction: **Patrick Berrebi**
Analyses moléculaires: **Zhaojun Shao**

Institut des Sciences de l'Evolution, UMR5554 CNRS/UM2, Université Montpellier 2,
CC065, place E. Bataillon, 34095 Montpellier cedex, tel: 04 67 14 37 32,
<patrick.berrebi@univ-montp2.fr> - <zhjshao@gmail.com>

1 - Introduction

La Fédération de l'Hérault poursuit l'exploration génétique des truites du département. Cette cartographie génétique des populations salmonicoles, en cours, permettra de donner aux gestionnaires piscicoles locaux une vision claire de leur patrimoine piscicole afin de les orienter à court terme vers une gestion raisonnée des alevinages.

2 - Echantillonnage

Pour cette troisième campagne d'échantillonnage (ORB3) de 2011 (après 2009 et 2010, voir liste des rapports en dernière partie), les rivières du Bouissou et de la Mare ont été choisies.

Les deux échantillons de truite (20 morceaux de nageoires préservées dans de l'alcool à 96°) ont été livrés à l'Institut des Sciences de l'Evolution (Université de Montpellier 2) le 4 novembre 2011.

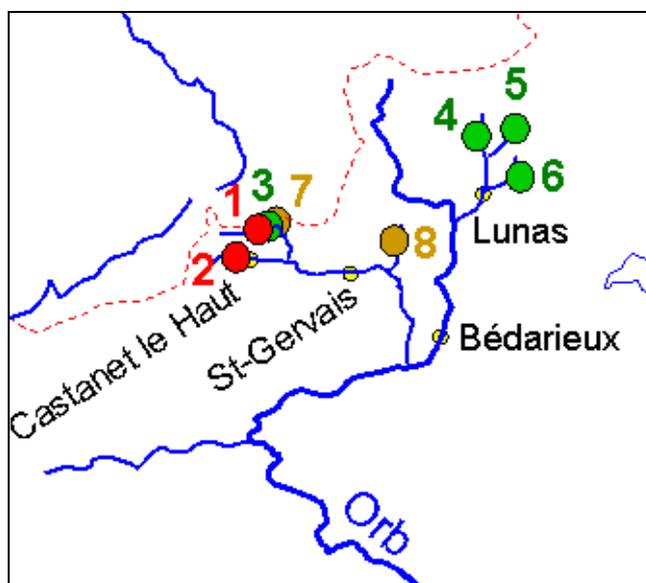


Figure 1: Localisation des 2 échantillons de 2011 (ronds rouges) ainsi que ceux constitués en 2010 (ronds vert) et 2009 (ronds bruns). La stations Bouissou/Moulin d'Orques a été échantillonnée en 2009, 2010 et 2011. Voir les caractéristiques de ces stations au Tableau 1 ci-dessous.

Ordre	Station échantillonnée	N	sous-bassin	Date	N° ISEM	N° terrain
1	Bouissou - Moulin d'Orques	20	Mare/Orb	oct-11	T20859 à T20878	2011 Fédé34-01 à 20
2	Mare - Castanet le Haut	20	Mare/Orb	oct-11	T20859 à T20879	2011 Fédé34-01 à 20
P	4 piscicultures françaises	32	-	2008	T20859 à T20886	108-101 à 108-408

Tableau 1 : Listing des échantillons de 2011 (voir localisation en Figure 1). Les échantillons de pisciculture (en brun) servent de référence. L'analyse se fait donc sur 72 truites.

3 - Méthodes moléculaires

Cet échantillonnage a été analysé au niveau de 6 locus microsatellites qui ont déjà fait leur preuve dans ce cas de figure: Omm1105, Omy21Dias, Oneµ9, SsoSL311, Msr85 et Ssa197.

Les échantillons de nageoire sont traités à la protéinase K (destruction des tissus et libération de l'ADN) et au Chelex (élimination des enzymes et inhibiteurs qui détruiraient l'ADN ou empêcheraient la PCR).

Les PCR (amplifications artificielles à l'identique d'une courte partie de l'ADN) se font en thermocycleur et les produits amplifiés sont mis à migrer dans des gels d'acrylamide dénaturant (brins d'ADN séparés les uns des autres).

Les migrations sont scannées (scanner FMBIO II) grâce aux radicaux fluorescents des amorces et interprétés en terme de génotypes avec l'aide d'un analyseur d'image FMBIO IMAGER 8. La matrice de génotypes donnée en Annexe est la base de tous les calculs statistiques.

4 - Méthodes statistiques

La matrice de données génotypiques (6 dernières colonnes de l'Annexe) additionnée des génotypes de référence (quatre lots de 8 truites provenant de piscicultures élevant la souche domestique INRA-SEMII, la plus répandue en France), sert de base aux calculs.

Dans le but de répondre aux questions posées, deux méthodes complémentaires sont employées:

- Une méthode plutôt qualitative est l'**analyse multidimensionnelle** (ici l'AFC). Elle permet de visualiser chaque truite dans un hyper-espace qui favorise le regroupement des truites génétiquement semblables et sépare celles qui sont dissemblables. Il s'agit d'un défrichage des résultats.

- Une méthode plutôt quantitative consiste à rechercher les meilleurs regroupements de truites (**assignation**) au moyen du logiciel STRUCTURE. Le nombre de partition testées (k) doit aboutir à la définition des lignées génétiques différenciées. Ces assignations permettent de proposer des pourcentage de chaque échantillons aux k types génétiques reconnus.

5 - Résultats

5.1 - Analyse multidimensionnelle

A la Figure 2, les 72 truites des deux échantillons de 2011 et des références se séparent essentiellement entre méditerranéennes à gauche (coordonnées négatives de l'axe 1 horizontal) et atlantiques à droite (axe 1 positif). Entre les deux nuages de points quelques hybrides. Toutes les autres truites du Bouissou et de la Mare de 2011 semblent sauvages à l'exception de 2 truites de la Mare 2011 en position intermédiaire et de 3 truites placées vers le bas. L'analyse d'assignation est indispensable pour déterminer le taux d'hybridation de ces 5 truites excentrées. Cette seconde analyse est également nécessaire parce certaines truites peuvent être excentrées sur les autres axes de l'analyse multidimensionnelle.

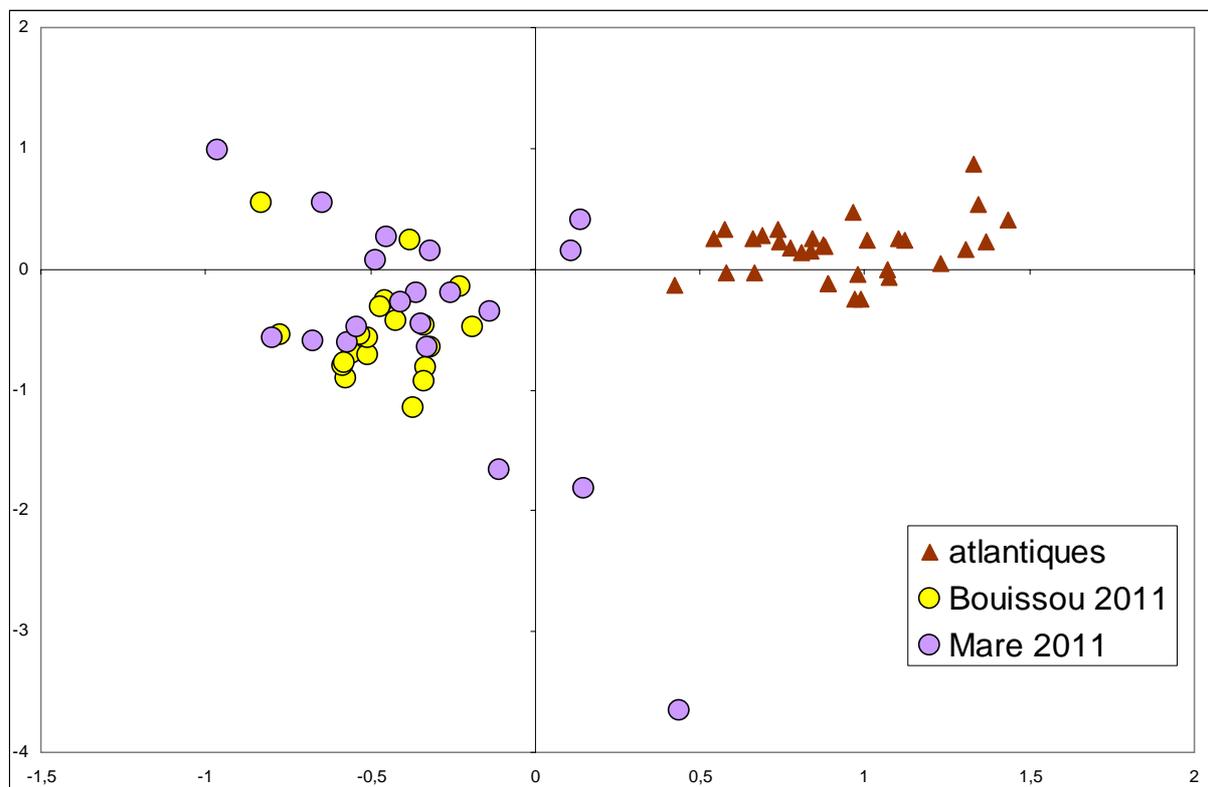


Figure 2 : L'analyse multidimensionnelle (AFC) se lit essentiellement sur l'axe 1 horizontal: à gauche, atlantiques à droite. Les truites du Bouissou et de la Mare sont surtout à gauche (=méditerranéennes) mais certaines s'étalent vers la droite et le bas, signe d'hybridation qui sera précisée par la méthode d'assignation.

5.2 - Analyse d'assignation

A partir des génotypes des échantillons naturels et domestiques de truites, le logiciel STRUCTURE recherche le meilleur assemblage pour former **k** sous-unités ressemblant à des populations naturelles (équilibre de panmixie et de liaison). Pour cela, sans utiliser l'information de leur origine, le logiciel a effectué 30000 "burn'in", suivi de 100000 itération, à la recherche de la meilleure partition.

Les assignation ont été testées pour **k** allant de 2 à 4. La partition la plus compréhensible et la plus stable est celle répartissant l'ensemble des 72 truites en 2 sous-groupes (les 2 couleurs de la Figure 3). Les pourcentages d'assignation ont été calculés à partir de la moyenne de 3 tests successifs (Tableau 2 et Annexe).

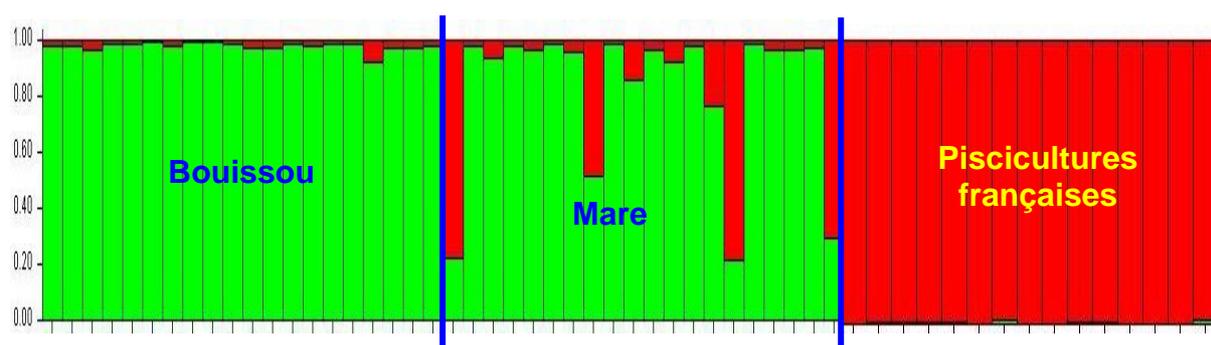


Figure 3: Chaque truite est représentée par une barre verticale, elles sont placées dans l'ordre de numérotation (voir Annexe). L'analyse présentant le meilleur découpage est celle où $k=2$. Pour des raisons pratiques, une partie de l'échantillon de pisciculture (en rouge) est présenté. Les truites méditerranéennes sont en vert. La figure 2 est confirmée et précisée: le Bouissou apparaît comme purement méditerranéen et la Mare comme partiellement hybridée (voir les pourcentages tirés de cette analyse dans la colonne en rouge de l'Annexe).

Ordre	Station échantillonnée	N	Date	% méditerranéennes	% atlantiques
1	Bouissou - Moulin d'Orques	20	oct-11	98	2
2	Mare - Castanet le Haut	20	oct-11	82	18
P	4 piscicultures françaises	32	2008	1	99

Tableau 2 : Estimation en pourcentages de la composition génétique des 2 échantillons de 2011 et des références. Les valeurs égales ou inférieures à 5% sont considérées comme du bruit de fond.

6- Interprétation et conclusion

Les deux stations analysées en 2011 présentent des situations peu rencontrées dans les analyses passées des affluents de l'Orb:

- Le **Bouissou à Moulin d'Orques** est échantillonné pour la troisième fois. En 2011, nous ne trouvons que des truites méditerranéennes. C'était déjà le cas pour l'échantillon de la même station en 2009 (seulement 6 truites analysées), mais dans l'échantillon réalisé en 2010, nous avons trouvé deux truites nées en pisciculture (donc relâchées depuis moins de 3 ans) parmi les 14 truites analysées. L'absence d'hybrides montre que des truites de pisciculture passent par là mais ne s'implantent pas, elle ne participent pas à la fraie naturelle.

- La **Mare à Castanet le Haut** est bien une population hybridée: nous trouvons au moins 8 truites hybridées à des taux allant approximativement de 6 à 78% (voir colonne en rouge de l'Annexe). Les allèles atlantiques ont donc pénétré la population, des truites de déversement ont certainement participé à la reproduction sauvage, cette "introgression" est probablement irréversible, elle atteint environ 20% en 2011.

En conclusion, à l'exception de la Mare, le peuplement local de truites est très peu impacté par les repeuplements. Ce qui signifie que leur arrêt permettrait de maintenir des populations méditerranéennes quasiment pures.

6. Littérature citée

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.

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.

Montpellier le 23 février 2012

Annexe : Génotypes obtenus (6 dernières colonnes). La colonne %P donne le pourcentage de gènes domestique dans chaque truite. En dessous de 5%, la valeur est considérée comme du "bruit de fond" non fiable (en gris)

N° labo	N° terrain	station	date	% P	Oneμ9	Mst85	SsoSL-311	Omy21DIAS	Ssa197	Omm1105
T20859	2011 Fédé34-01	Bouissou-Moulin d'Orques	06/10/11	2	197201	159159	122136	114122	127135	166166
T20860	2012 Fédé34-02	Bouissou-Moulin d'Orques	06/10/11	2	197207	159159	132132	108122	127131	178178
T20861	2013 Fédé34-03	Bouissou-Moulin d'Orques	06/10/11	3	197207	159159	122148	094122	127143	178206
T20862	2014 Fédé34-04	Bouissou-Moulin d'Orques	06/10/11	1	197197	159161	124132	094114	127127	178206
T20863	2015 Fédé34-05	Bouissou-Moulin d'Orques	06/10/11	1	197201	159159	132132	128128	127143	178178
T20864	2016 Fédé34-06	Bouissou-Moulin d'Orques	06/10/11	1	197197	157159	132132	108122	127127	178206
T20865	2017 Fédé34-07	Bouissou-Moulin d'Orques	06/10/11	2	197199	157171	132132	122122	123127	174178
T20866	2018 Fédé34-08	Bouissou-Moulin d'Orques	06/10/11	1	197199	159161	132132	114122	127143	178206
T20867	2019 Fédé34-09	Bouissou-Moulin d'Orques	06/10/11	1	197197	163163	132132	110114	135135	162162
T20868	2020 Fédé34-10	Bouissou-Moulin d'Orques	06/10/11	1	197201	159159	132138	114128	127127	166178
T20869	2021 Fédé34-11	Bouissou-Moulin d'Orques	06/10/11	2	197199	157157	118132	120122	123143	178206
T20870	2022 Fédé34-12	Bouissou-Moulin d'Orques	06/10/11	2	197199	159167	132132	094114	123143	206318
T20871	2023 Fédé34-13	Bouissou-Moulin d'Orques	06/10/11	1	197199	159161	132132	108114	127143	206318
T20872	2024 Fédé34-14	Bouissou-Moulin d'Orques	06/10/11	2	197197	161161	132132	112114	143143	310310
T20873	2025 Fédé34-15	Bouissou-Moulin d'Orques	06/10/11	1	197199	159159	132136	114128	135135	178178
T20874	2026 Fédé34-16	Bouissou-Moulin d'Orques	06/10/11	1	197199	159159	132138	114114	127143	178178
T20875	2027 Fédé34-17	Bouissou-Moulin d'Orques	06/10/11	7	197197	157157	128128	114114	127127	178198
T20876	2028 Fédé34-18	Bouissou-Moulin d'Orques	06/10/11	2	197197	147159	124132	114114	143143	278278
T20877	2029 Fédé34-19	Bouissou-Moulin d'Orques	06/10/11	3	197201	147159	132132	110114	135135	174174
T20878	2030 Fédé34-20	Bouissou-Moulin d'Orques	06/10/11	2	197201	159171	132132	128128	127135	178318
T20879	2031 Fédé34-21	Mare-Castanet le Haut	06/10/11	78	197201	147167	126136	106128	127127	158272
T20880	2032 Fédé34-22	Mare-Castanet le Haut	06/10/11	2	197197	163163	134134	114126	139155	174282
T20881	2033 Fédé34-23	Mare-Castanet le Haut	06/10/11	6	197203	159163	122128	102110	131155	162182
T20882	2034 Fédé34-24	Mare-Castanet le Haut	06/10/11	2	197201	157159	132136	118122	143147	178194
T20883	2035 Fédé34-25	Mare-Castanet le Haut	06/10/11	3	197197	157159	132146	112126	123123	194194
T20884	2036 Fédé34-26	Mare-Castanet le Haut	06/10/11	1	197197	159163	128132	110114	135139	158158
T20885	2037 Fédé34-27	Mare-Castanet le Haut	06/10/11	4	197197	147157	132132	102122	143147	162178
T20886	2038 Fédé34-28	Mare-Castanet le Haut	06/10/11	48	201203	159165	130148	094130	127139	178278
T20887	2039 Fédé34-29	Mare-Castanet le Haut	06/10/11	1	197203	159159	132132	112118	155155	178278
T20888	2040 Fédé34-30	Mare-Castanet le Haut	06/10/11	14	201201	159165	132132	094130	127139	178178
T20889	2041 Fédé34-31	Mare-Castanet le Haut	06/10/11	3	197197	147159	132132	106114	000000	158162
T20890	2042 Fédé34-32	Mare-Castanet le Haut	06/10/11	8	197203	159159	126132	118126	143155	254254
T20891	2043 Fédé34-33	Mare-Castanet le Haut	06/10/11	2	197203	159159	126132	096114	155155	278278
T20892	2044 Fédé34-34	Mare-Castanet le Haut	06/10/11	23	197201	159159	128142	110114	151163	178182
T20893	2045 Fédé34-35	Mare-Castanet le Haut	06/10/11	78	197201	159167	128142	114120	131155	274294
T20894	2046 Fédé34-36	Mare-Castanet le Haut	06/10/11	1	197203	159159	126132	114118	143155	178194
T20895	2047 Fédé34-37	Mare-Castanet le Haut	06/10/11	3	197199	159159	126132	106114	131135	194194
T20896	2048 Fédé34-38	Mare-Castanet le Haut	06/10/11	3	199203	159159	126132	120120	131135	194194
T20897	2049 Fédé34-39	Mare-Castanet le Haut	06/10/11	3	197203	159159	132132	112112	143155	194246
T20898	2050 Fédé34-40	Mare-Castanet le Haut	06/10/11	71	203203	159165	130148	094130	159159	178266