

Rapport d'analyse des truites de l'Arn et de l'Agout, peuplements atlantiques dans l'Hérault

Statistiques, interprétation, rédaction: Patrick Berrebi
Analyses moléculaires: Zhaojun Shao

Introduction

Les analyses décrites dans ce rapport consistent à décrire les génotypes de 50 truites provenant des rivières Arn et Agout, affluents du Tarn, versant atlantique, au niveau de 6 locus microsatellites. Ces données moléculaires doivent permettre de distinguer les truites atlantiques sauvages de cette région des truites atlantiques domestiques.

Méthodes

Echantillonnage

Un échantillonnage effectué sur 5 sites dans le département de l'Hérault a été remis pour analyse par Daniel Cambon à l'Institut des Sciences de l'Evolution le 28 juillet 2008. Cet échantillonnage est composé de parties de nageoires de truites dans l'éthanol à 95°. Le détail de cet échantillonnage est donné au tableau 1; la localisation des stations, appartenant aux sous bassins de l'Arn et de l'Agout est donnée à la figure 1.



Figure 1: localisation des stations analysées par rapport au département de l'Hérault.

Méthodes moléculaires

Cet échantillonnage a été analysé au niveau de 6 locus microsatellites qui ont déjà fait leur preuve dans ce cas de figure: Ssa197, Omm1105, Oneµ9, Omy21Dias, SsoSL311 et Sfo1.

station	sigle	Ss/bassin	Date pêche	N° terrain	N° labo	Nombre
Amont Bourdelet	HBM	Arn	24/10/2008	ONF-Hlt-1 à 10	T13521 à T13530	10
Aval Bourdelet	HBV	Arn	24/10/2008	ONF-Hlt-11 à 20	T13531 à T13540	10
Niveau pont RD196	HAP	Arn	24/10/2008	ONF-Hlt-21 à 30	T13541 à T13550	10
St Pierre	HAG	Agout	24/10/2008	ONF-Hlt-31 à 40	T13551 à T13560	10
Salverguette	HAS	Agout	24/10/2008	Trf 041 Hlt à 050	T13561 à T13570	10
domestique AT	MUR	-	2008	MUR01 à 30	T'101 à T'130	30
domestique AT	GER	-	2008	GER01 à 30	T'221 à T'250	30

Tableau 1: Caractéristiques des 5 stations analysées et des 2 échantillons de référence du laboratoire de Montpellier

Pour cela, les échantillons de nageoires sont traitées 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 se font en thermocycleur et les produits amplifiés sont mis à migrer dans des gels d'acrylamide dénaturant.

Les gels sont scannés et interprétés en terme de génotypes avec l'aide d'un analyseur d'image. La matrice de génotypes donnée en annexe est la base de tous les calculs statistiques.

Méthodes statistiques

La matrice de données génotypiques (voir annexe) additionnée des génotypes de référence d'origine connue, 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) selon une logique populationnelle (les regroupements doivent avoir une panmixie maximum et un déséquilibre de liaison minimum) au moyen du logiciel STRUCTURE basé sur les statistiques bayésiennes, l'exploration Monte-Carlo MCMC, les chaînes de Markov et le suivi de la vraisemblance des partitions proposées. Ici la période de recherche (burnin) est de 50000 itérations et la finition de 200000 itérations. Le nombre de partition testées (k) est de 2 à 4 avec 4 répétitions du test pour k=2 et 2 répétitions pour k=3 et k=4.

Résultats

La méthode multidimensionnelle a donné une image facile à interpréter. Il a été rajouté pour ce test un échantillon de truites méditerranéennes (Orb) afin de s'assurer qu'il n'y a pas eu de transfert depuis le versant méditerranéen tout proche. Les trois entités mises en évidence sont parfaitement isolées: truites méditerranéennes, truites atlantiques sauvages et truites atlantiques domestiques (voir figure 2).

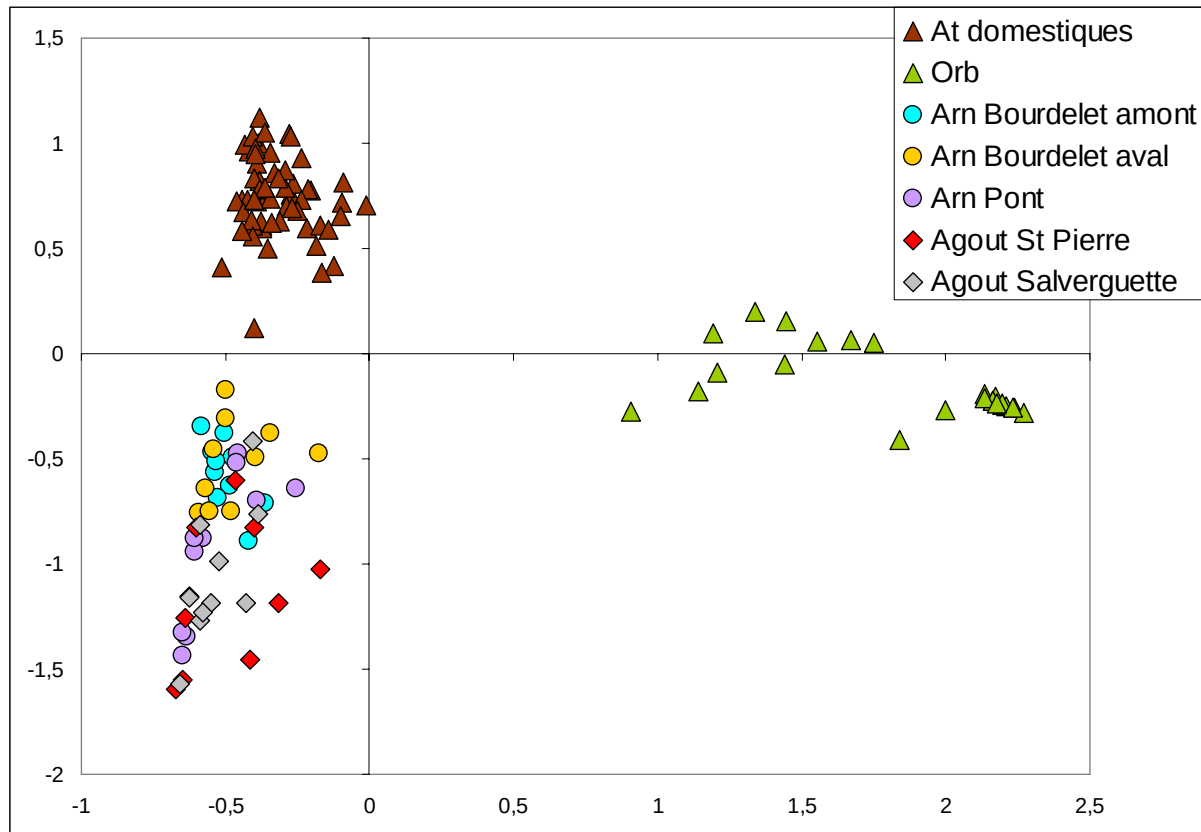


Figure 2 : Analyse multidimensionnelle montrant les ressemblances génétiques entre les truites nouvellement analysées et les truites de référence d'origine connue (références = triangles, Arn = ronds, Agout = losanges).

La méthode d'assignation avec le logiciel STRUCTURE

Pour utiliser ce logiciel, il faut imposer le nombre de sous-groupes à rechercher (k). Sachant qu'il s'agit ici de différencier les truites atlantiques sauvages des domestiques, avec k=2, l'analyse devrait nous donner avec précision l'appartenance de chaque truite à l'une des origines. C'est ce qui est fait à la figure 3.

Mais dans la mesure où nous disposons de deux échantillons de pisciculture et de deux rivières de l'Hérault atlantique, il est tentant de passer à k=3 et k=4 afin de voir si l'analyse est capable de distinguer entre références de pisciculture et entre rivières voisines. C'est ce qui a été fait aux figures 4 et 5.

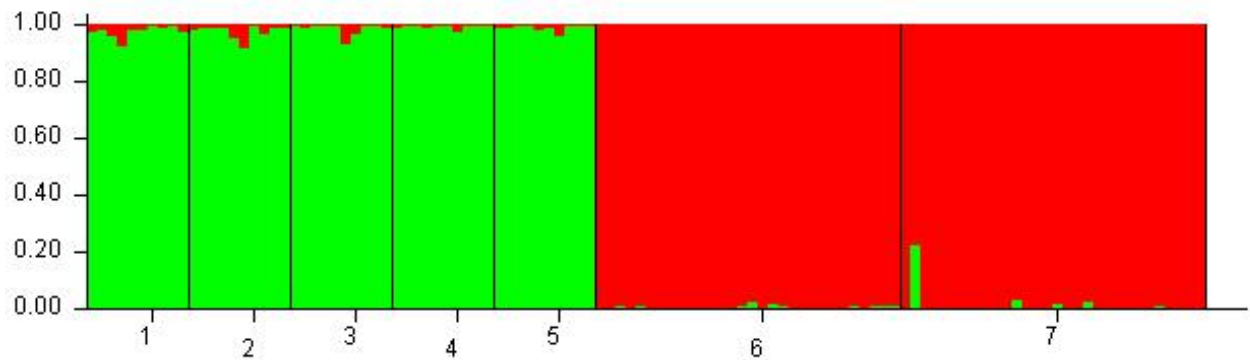


Figure 3 : Ce graphique nous montre l'assignation de chaque truite à un type (couleur) indépendamment de l'origine (chiffres en abscisse). Les échantillons de référence nous donnent la signification: atlantique domestique = rouge; les 5 échantillons de gauche sont verts, correspondant aux atlantiques sauvages: il n'y a pas d'introgression par les formes domestiques (stations 1 à 3 = Arn; stations 4 et 5 = Agout).

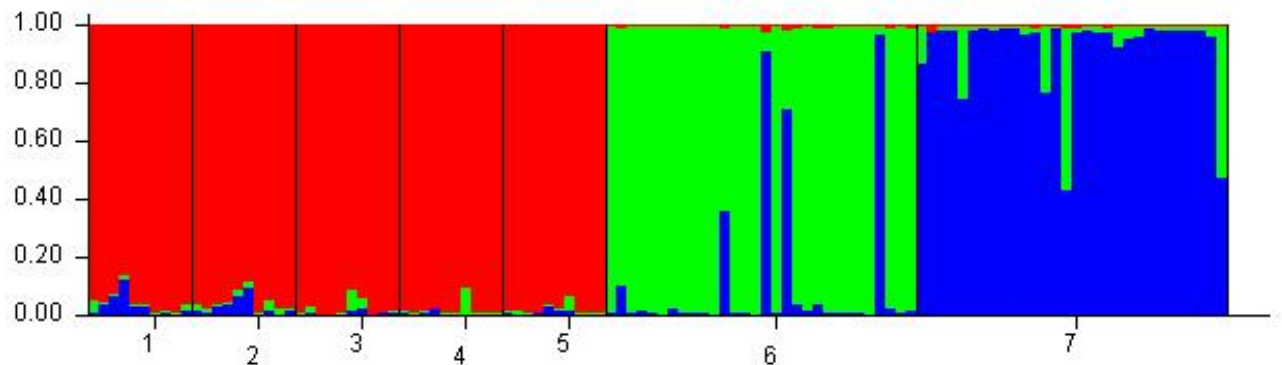


Figure 4 : Ici, $k=3$. Les deux échantillons de pisciculture se distinguent (bleu et vert) alors que les échantillons naturels restent homogènes (en rouge).

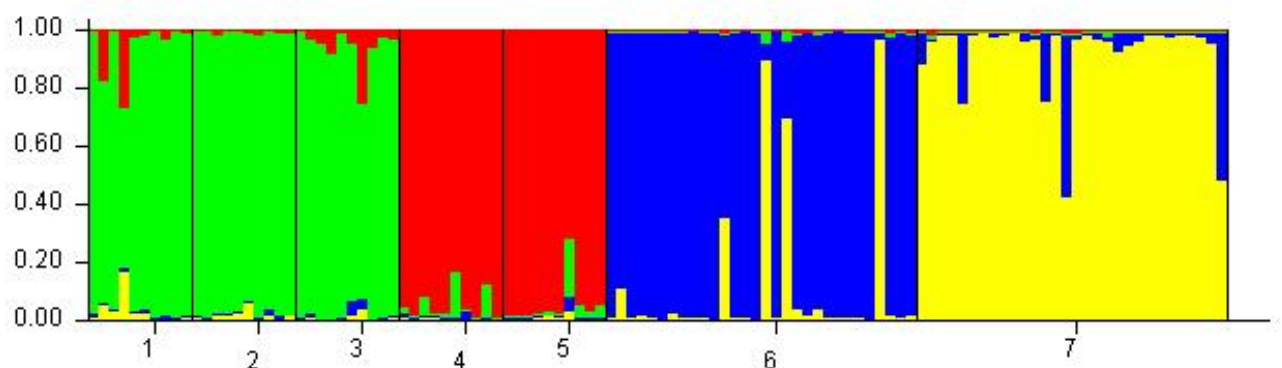


Figure 5 : Quand $k=4$, les deux rivières se distinguent à leur tout: l'Arn en vert et l'Agout en rouge.

Les résultats numériques transposent les graphiques en proportion de chaque type (= couleur) dans chaque truite ou chaque échantillon. Il est évident que l'introgression domestiques dans les 5 stations naturelles est nulle ou très faible. Il est intéressant de savoir quelle est le pourcentage calculé par STRUCTURE.

En faisant la moyenne des valeurs obtenues à chaque test, nous obtenons 3,7%, 3,2%, 2,1%, 1,5% et 1,7% respectivement dans l'ordre des stations du tableau 1. Ces valeurs très faibles peuvent être considérées comme nulles compte tenu du bruit de fond qui est estimé à près de 5%.

Interprétation

Les deux rivières analysées présentent un peuplement de truites entièrement naturel.

Si il y a des traces de truites domestiques, on ne peut pas l'affirmer compte tenu des incertitudes de la méthode, et en tout cas cette introgression serait au maximum de 3,7% c'est à dire négligeable.

Une légère différenciation génétique a été observée entre ces deux rivières (figure 5) avec un F_{st} de 0,1 à 0,16, ce qui est tout de même hautement significatif mais faible par rapport aux 0,2 à 0,3 observé entre populations naturelles et de pisciculture. Les F_{st} entre stations de l'Arn vont de 0,02 à 0,06 (une sur trois est significative) mais ce paramètre est nul entre les deux stations de l'Agout (génétiquement identiques).

Montpellier le 13 avril 2009

Annexe

N° labo	N° terrain	station	Taille	Ssa197	Omm1105	Oneµ9	Omy21DIAS	SsoSL-311	Sfo1
T13521	ONF-Hlt-1	Arn amont Bourdelet	21	139159	094098	201205	094112	128156	122130
T13522	ONF-Hlt-2	Arn amont Bourdelet	25,5	127131	098274	199201	100112	154156	110110
T13523	ONF-Hlt-3	Arn amont Bourdelet	21	131131	270294	201205	094094	124156	118130
T13524	ONF-Hlt-4	Arn amont Bourdelet	19	127139	094098	185205	094120	142156	110136
T13525	ONF-Hlt-5	Arn amont Bourdelet	18	127131	270298	201205	106106	128154	110110
T13526	ONF-Hlt-6	Arn amont Bourdelet	20,5	123135	098218	205205	094110	128132	110116
T13527	ONF-Hlt-7	Arn amont Bourdelet	19	123131	094098	205205	110112	140152	110130
T13528	ONF-Hlt-8	Arn amont Bourdelet	18	127139	094098	201205	100110	128156	110110
T13529	ONF-Hlt-9	Arn amont Bourdelet	16,5	131139	094098	205205	094112	128128	110130
T13530	ONF-Hlt-10	Arn amont Bourdelet	15	131159	102282	201205	094114	156162	110118
T13531	ONF-Hlt-11	Arn aval Bourdelet	22	123131	094098	199205	094114	128152	110130
T13532	ONF-Hlt-12	Arn aval Bourdelet	12,5	131139	294298	205205	094094	128156	110122
T13533	ONF-Hlt-13	Arn aval Bourdelet	22	123131	094098	199205	094094	128138	106106
T13534	ONF-Hlt-14	Arn aval Bourdelet	17	127131	270270	197205	094106	128156	118126
T13535	ONF-Hlt-15	Arn aval Bourdelet	13	131131	098098	199201	094114	128128	106118
T13536	ONF-Hlt-16	Arn aval Bourdelet	12	123139	094290	197205	094094	128140	110122
T13537	ONF-Hlt-17	Arn aval Bourdelet	12,5	131131	098270	203203	094098	132140	126130
T13538	ONF-Hlt-18	Arn aval Bourdelet	20	131135	098270	201201	094108	152156	126130
T13539	ONF-Hlt-19	Arn aval Bourdelet	11	127131	098282	205205	094114	140170	106130
T13540	ONF-Hlt-20	Arn aval Bourdelet	13	131139	098218	201203	108108	140162	106126
T13541	ONF-Hlt-21	Arn pont RD 196	23	131131	094098	201205	094112	128140	110110
T13542	ONF-Hlt-22	Arn pont RD 196	19,5	123159	098286	201205	094112	128154	000000
T13543	ONF-Hlt-23	Arn pont RD 196	35	131159	094098	205205	094098	120140	110110
T13544	ONF-Hlt-24	Arn pont RD 196	24	131131	098102	205205	094094	154170	110110
T13545	ONF-Hlt-25	Arn pont RD 196	20,5	131163	098218	203205	094098	128128	110110
T13546	ONF-Hlt-26	Arn pont RD 196	11	123127	098102	201205	094094	148156	110118
T13547	ONF-Hlt-27	Arn pont RD 196	18	127135	098230	205205	102114	128140	110122
T13548	ONF-Hlt-28	Arn pont RD 196	16	131131	098218	205205	094094	120140	106110
T13549	ONF-Hlt-29	Arn pont RD 196	17	127131	000000	205205	094098	128156	110110
T13550	ONF-Hlt-30	Arn pont RD 196	14	123139	098250	203205	098112	128140	000000
T13551	ONF-Hlt-31	Agout St Pierre	24	127127	102246	185201	094108	120146	110110
T13552	ONF-Hlt-32	Agout St Pierre	24	123159	194274	185193	094100	120136	110110
T13553	ONF-Hlt-33	Agout St Pierre	23	131155	000000	203203	094108	120132	110110
T13554	ONF-Hlt-34	Agout St Pierre	23	123131	258258	185193	094102	134146	106110
T13555	ONF-Hlt-35	Agout St Pierre	18	127159	170230	185205	094100	000000	110110
T13556	ONF-Hlt-36	Agout St Pierre	18	127127	098102	185205	094094	120128	110110
T13557	ONF-Hlt-37	Agout St Pierre	19	127131	246246	185203	094094	136166	110110
T13558	ONF-Hlt-38	Agout St Pierre	17	127127	190230	203205	094094	146146	110110
T13559	ONF-Hlt-39	Agout St Pierre	18	123135	094098	185193	094094	136154	110110
T13560	ONF-Hlt-40	Agout St Pierre	18	131159	242242	185193	094094	120120	110110
T13561	trf 041 Hlt	Agout Salverguette	51	123127	246258	203205	094102	120154	110110
T13562	trf 042 Hlt	Agout Salverguette	20,5	127135	214246	203205	094100	146154	110110
T13563	trf 043 Hlt	Agout Salverguette	19	127131	194230	203205	094100	142146	110110
T13564	trf 044 Hlt	Agout Salverguette	27,5	127127	226258	185193	094094	146154	106118
T13565	trf 045 Hlt	Agout Salverguette	21	131131	230262	203203	094094	142146	106110
T13566	trf 046 Hlt	Agout Salverguette	22	127131	262310	185193	094094	120154	110110
T13567	trf 047 Hlt	Agout Salverguette	21	127135	250286	193205	094106	142152	110138
T13568	trf 048 Hlt	Agout Salverguette	19	131135	098190	185203	094094	132146	106106
T13569	trf 049 Hlt	Agout Salverguette	16	127131	250250	185193	094100	120128	110110
T13570	trf 050 Hlt	Agout Salverguette	18	000000	214242	185205	094094	140146	110110