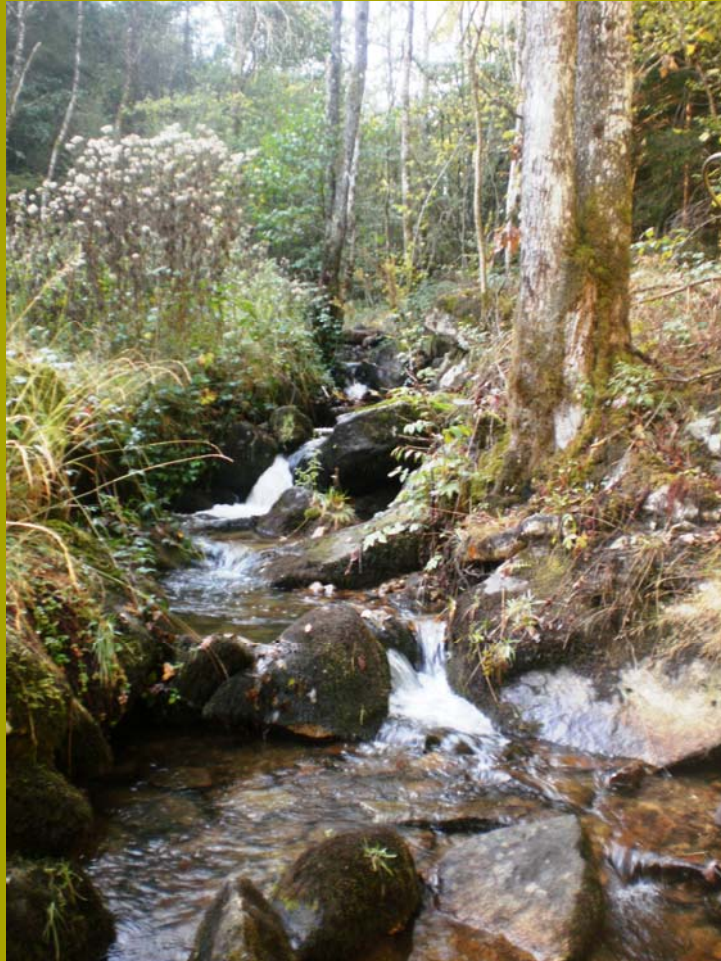


Composition génétique des truites de l'Agout -Agout, Thoré, Arn et Sor- Génotypage de 16 microsattellites.



© Le Verdier, affluent de l'Agout - Fédération de pêche 81

Analyses statistiques, interprétation, rédaction: **Patrick Berrebi** *
Analyses moléculaires: **Corinne Cherbonnel** **

* Institut des Sciences de l'Evolution, UMR5554 UM2/CNRS/IRD, Université Montpellier 2, CC065,
place E. Bataillon, 34095 Montpellier cedex, tel: 04 67 14 37 32, patrick.berrebi@univ-montp2.fr
** Genindexe, 6 rue des Sports, 17000 La Rochelle, tel: 05 46 30 69 66, ccherbonnel@genindexe.com



1. Introduction

Les échantillons de nageoires de truites du département du Tarn sont parvenues au laboratoire d'Evolution de Montpellier (Patrick Berrebi, responsable scientifique) le 8 novembre 2010.

Des problèmes techniques sur certains marqueurs expliquent le temps qu'il a fallu pour obtenir les génotypes déterminés par le laboratoire collaborateur Genindexe de La Rochelle (Corinne Cherbonnel, responsable scientifique).

Afin de servir au projet national (GENESALM qui va se poursuivre par le projet GENETRUTTA) les quatre échantillons du Tarn ont été traités sur les mêmes 16 marqueurs utilisés dans ces projets nationaux, de manière à être positionnés dans la diversité génétique nationale des truites lors de la future synthèse GENETRUTTA.

2. Echantillonnage

La présente analyse porte sur 4 échantillons de 20 truites (Tab. 1 et Fig. 1).

N° labo.	N° terrain	Localité	Date
T18303 à 18322	Tarn2010-01 à 20	ARN-Moulin de Bonnet	01/10/2010
T18323 à 18342	Tarn2010-21 à 40	AGOUT-Verdier	22/10/2010
T18343 à 18362	Tarn2010-41 à 60	THORÉ-Brugas	06/10/2010
T18363 à 18382	Tarn2010-61 à 80	SOR-Auguebelle-Borie grande	06/10/2010
T16835 à 16854	Str 600 à 619	Oulas	16/06/2009
T16956 à 16975	108-221 à 108-240	Pisciculture commerciale	2008

Tableau 1 : Liste des 4 échantillons de l'Agout (en jaune) et des références locale et domestique



Figure 1 : Sous bassins du Tarn et de l'Agout. Les noms en rouge sont ceux des rivières constituant l'échantillonnage de ce rapport, incluant l'Oulas (affluent du Dadou) qui sert de référence régionale.

3. La méthode moléculaire

Afin de déterminer la nature génétique sauvage, domestique ou hybride des 80 truites, 16 marqueurs microsatellites (Omy21DIAS, Sfo1, Omm1105, SsosL417, BHMS 392, StrT3-13, Oneμ9, SsoSL311, Ssa197, SsosL438, Mst85, MST543, Str543, Str591, Str541 et StrBS131) ont été employés. Le laboratoire d'analyse (Genindex) détermine, pour chaque truite, l'allèle (= variant du gène) hérité de chacun de ses parents, c'est le génotype (= 2 allèles). Les génotypes sont établis pour chacun des marqueurs (16) pour constituer une matrice de données, base de tous les calculs ultérieurs.

4. Les méthodes statistiques

Deux méthodes sont employées successivement.

Les analyses multidimensionnelles. C'est une méthode de débroussaillage qui donne une première idée de l'état des truites: l'Analyse Factorielle des Correspondances (ou AFC, logiciel GENETIX). Elle positionne chaque truite (point) en fonction de l'ensemble de ses caractéristiques génétiques. Plus deux points sont proches, plus les truites qu'ils représentent se ressemblent génétiquement.

L'assignation permet d'estimer, de façon probabiliste, la composition sauvage/domestique de chaque truite analysée (logiciel STRUCTURE). On fournit au logiciel l'ensemble des données (les 6 échantillons du tableau 1 avec les caractéristiques génétiques aux 16 marqueurs) sans indiquer l'appartenance géographique. Puis on demande au logiciel de découper l'échantillonnage en 2 sous-groupes (si $k=2$) ressemblant les plus à deux populations en équilibre. Les truites sont divisées en deux types (couleurs rouge et verte du premier histogramme de la Figure 9). Chaque truite est représentée par une fine barre verticale. Dans ce premier histogramme de la Figure 9, les truites domestiques sont en vert, mais aussi certains échantillons qui ressemblent au même type domestiques, alors que par exemple l'échantillon n°1 a toutes sortes de truites: des vertes (=domestiques), des rouges (= sauvages) des bicolores (= des hybrides).

En augmentant k , le logiciel maintient la ressemblance Thoré/Sor avec les domestiques (comme l'AFC)... mais finalement à partir de $k=4$, on déduit que ces stations ne sont pas identiques aux piscicultures commerciales, ce qui est interprété en fin de rapport.

5. Résultats

5.1. Analyses multidimensionnelles

La compréhension de la composition génétique d'un échantillon n'est possible que par comparaison avec des échantillons de référence. Ici un échantillon atlantique commercial domestique (analysés à l'occasion du projet GENESALM) a été rajouté aux analyses. D'autre part, un échantillon d'une rivière voisine, l'Oulas, déjà analysée à l'occasion du projet GENESALM, a également été rajoutés comme référence régionale.

Si on se limite à cette analyse (Figures 2 à 8), les truites du Thoré semblent totalement domestiques et celles de l'Arn et du Sor légèrement impactées. Seules les stations Agout amont et Oulas sont totalement indemnes d'influence domestique.

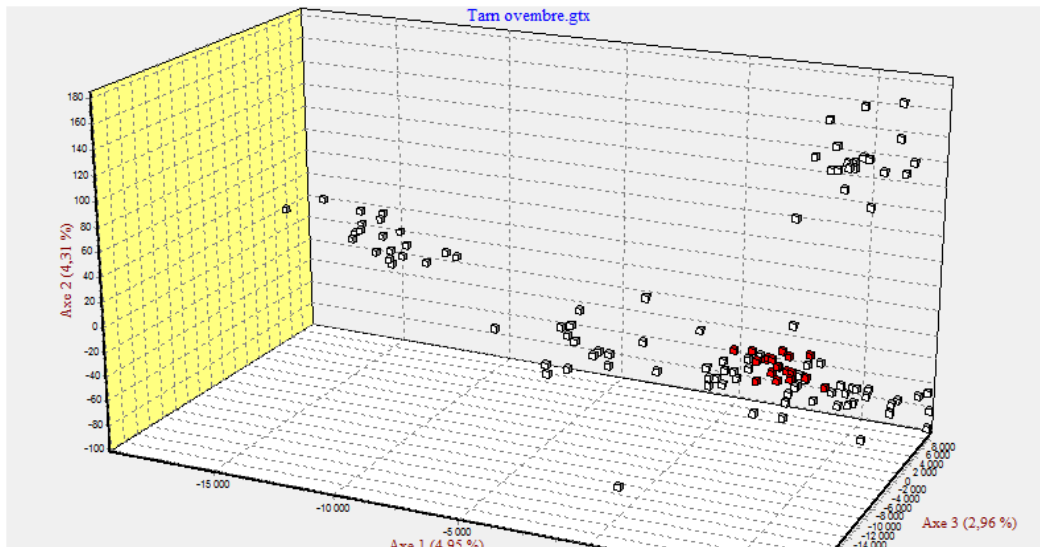


Figure 2 : Les truites de la souche atlantique commerciale française (en rouge) sont positionnées au milieu de certaines truites du Tarn.

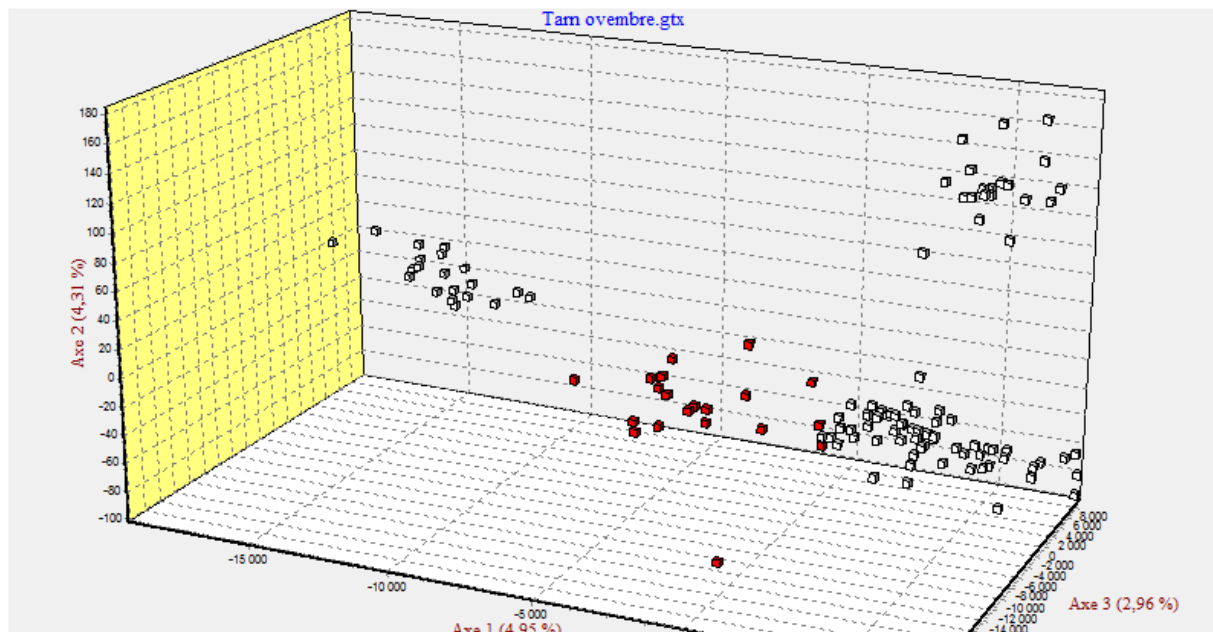


Figure 3 : Les truites de l'Arn se distinguent des truites de pisciculture, mais avec une proximité certaine.

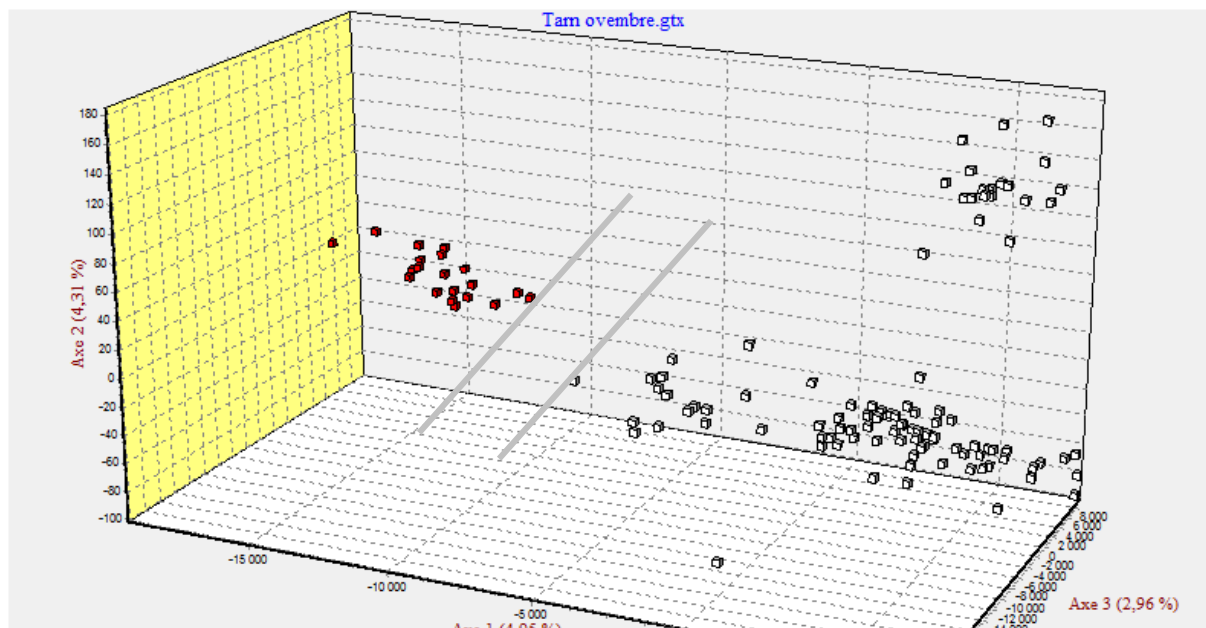


Figure 4 : Les truites de l'Agout sont génétiquement distinctes de l'ensemble des autres truites le long de l'axe 1 horizontal. Aucune trace de truites domestiques

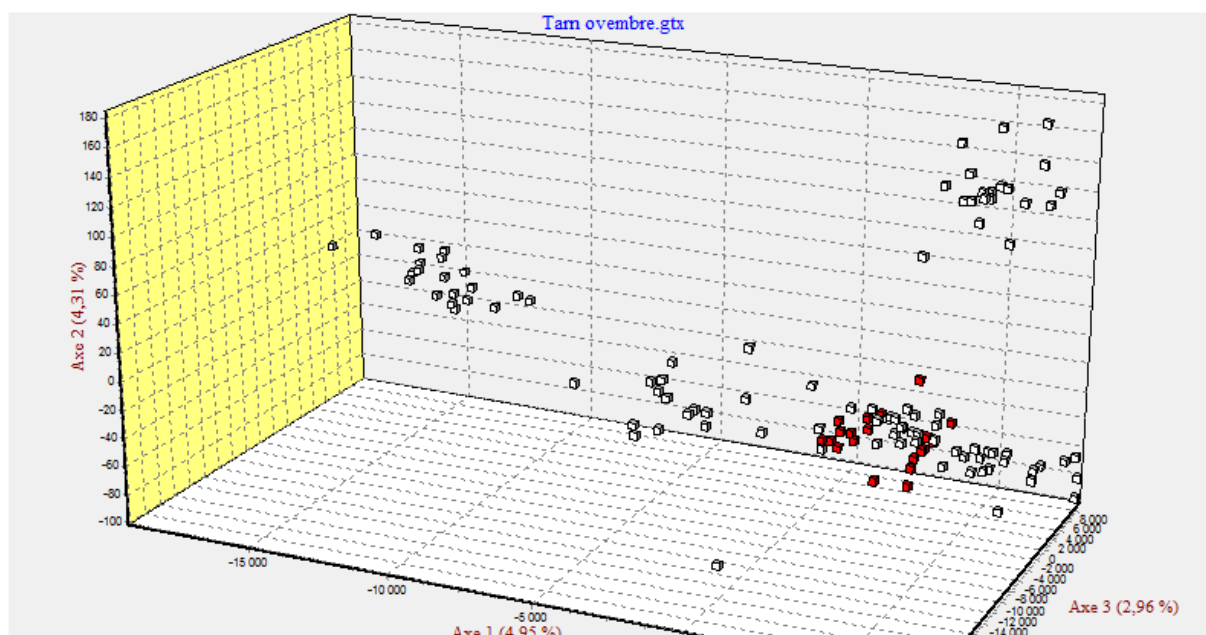


Figure 5 : La station du Thoré montre une superposition complète avec les truites domestiques (voir Figure 2).

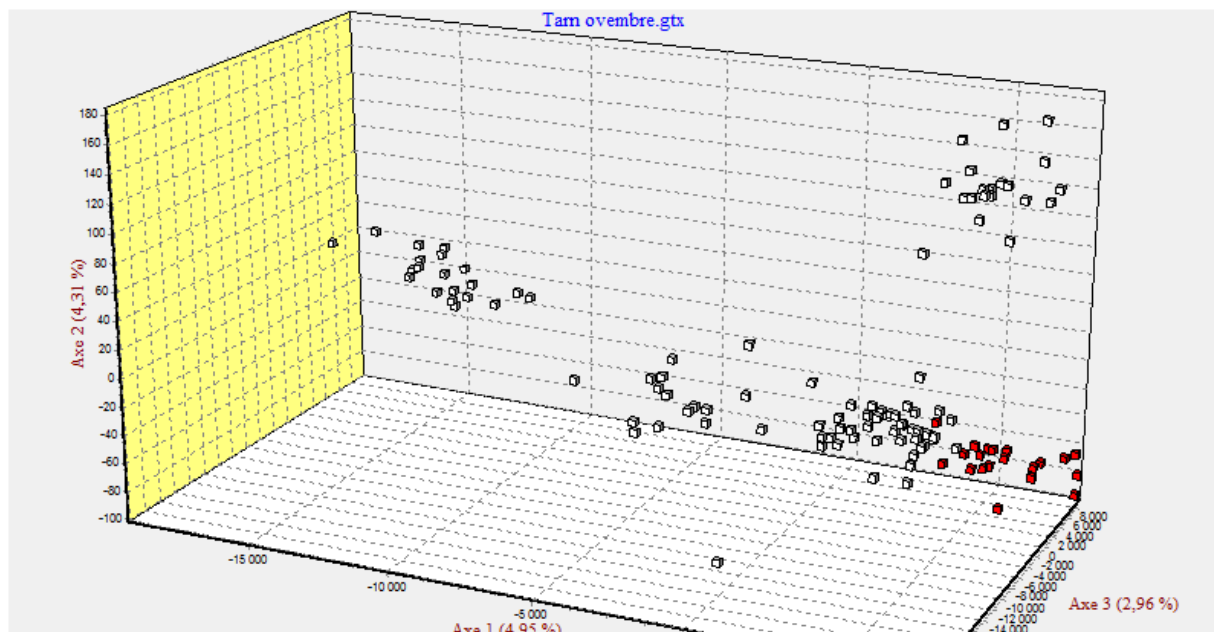


Figure 6 : Le Sor est distinct de la souche domestique mais semble légèrement influencé.

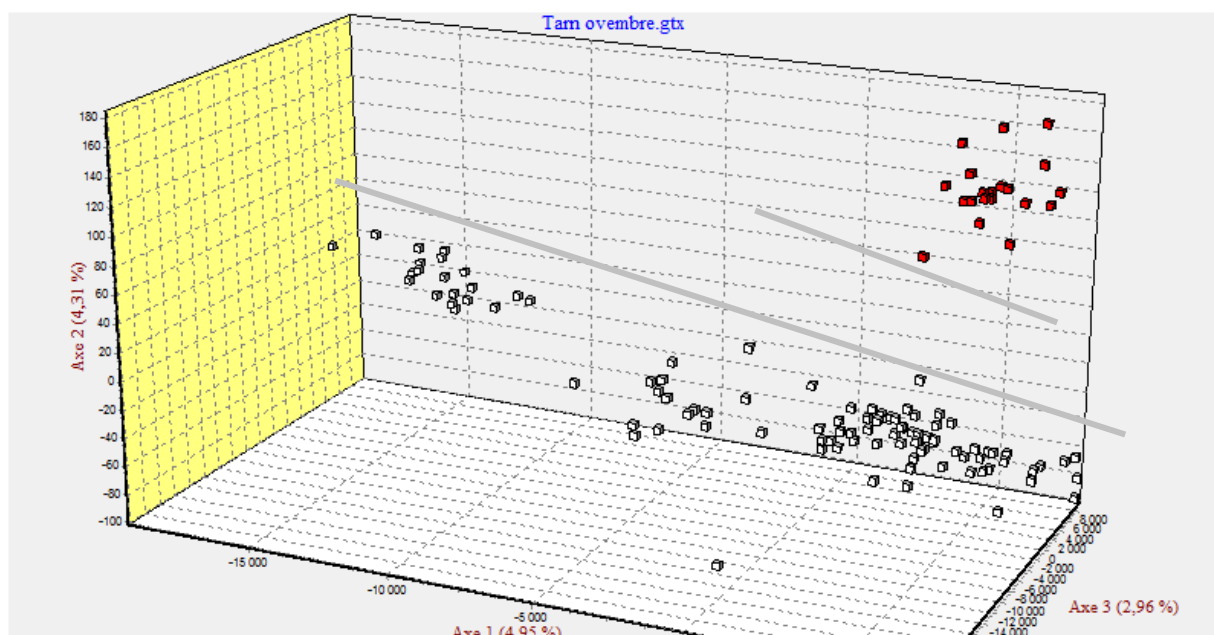


Figure 7 : Enfin, la référence régionale de l'Oulas se distingue totalement de toutes les autres stations le long de l'axe 2 vertical: ses truites sont isolées aussi bien des souches domestiques que des truites de l'Agout.

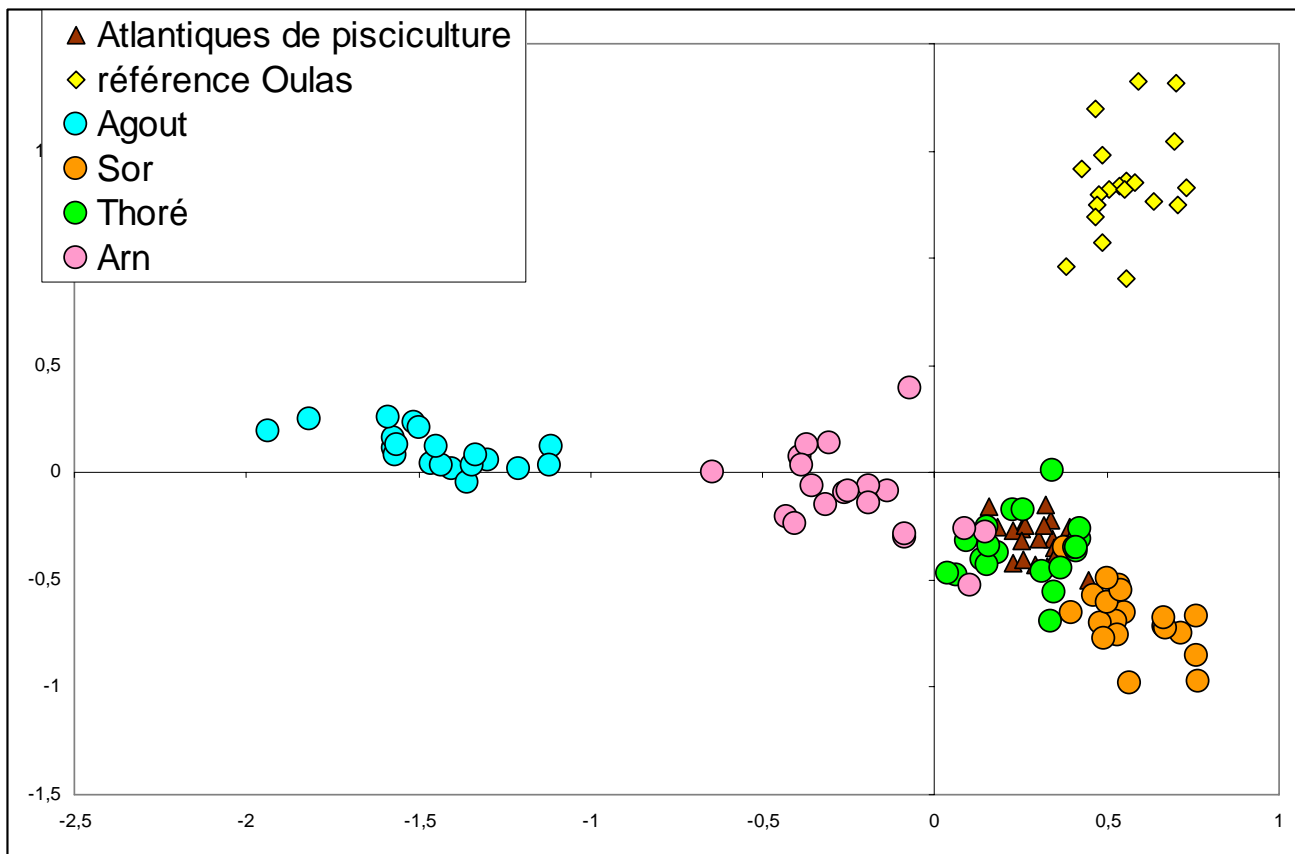


Figure 8 : Cette figure positionne toutes les truites analysées dans le même graphique.

5.2. Analyses d'assignation

Les mêmes données, soit 4 stations du Tarn, l'Oulas et une pisciculture (120 truites) génotypées au niveau de 16 marqueurs microsatellites, ont été analysées par assignation grâce au logiciel STRUCTURE. La série d'histogrammes de la Figure 9 montre les ressemblances et les différences inter-stations quand on provoque un découpage de l'ensemble des 120 truites en 2 à 6 sous-groupes (k).

L'analyse d'assignation nous montre les similitudes entre stations (plus exactement entre truites: le logiciel n'utilise pas l'information géographique).

Par exemple les couples 1-2 (Arn et Agout) et 3-4 (Thoré et Sor) sont longtemps ensemble (de k=2 à 4 et 2 à 5 respectivement), marque de similitude.

Le type domestique (6) est associé aux stations 3 et 4 (Thoré et Sor) pour k allant de 2 à 3 seulement (ce qui est comparable aux Figures 5 et 6) et une nette influence domestiques est visible à la station 1 (Arn, barres vertes) comme dans la Figure 3.

Pour k = 6, tous les échantillons sont distincts et l'influence domestique semble négligeable.

Mais AFC et assignation ne donnent pas les mêmes résultats car basées sur des principes de calcul différents, nécessitant une interprétation (voir chapitre 6.).

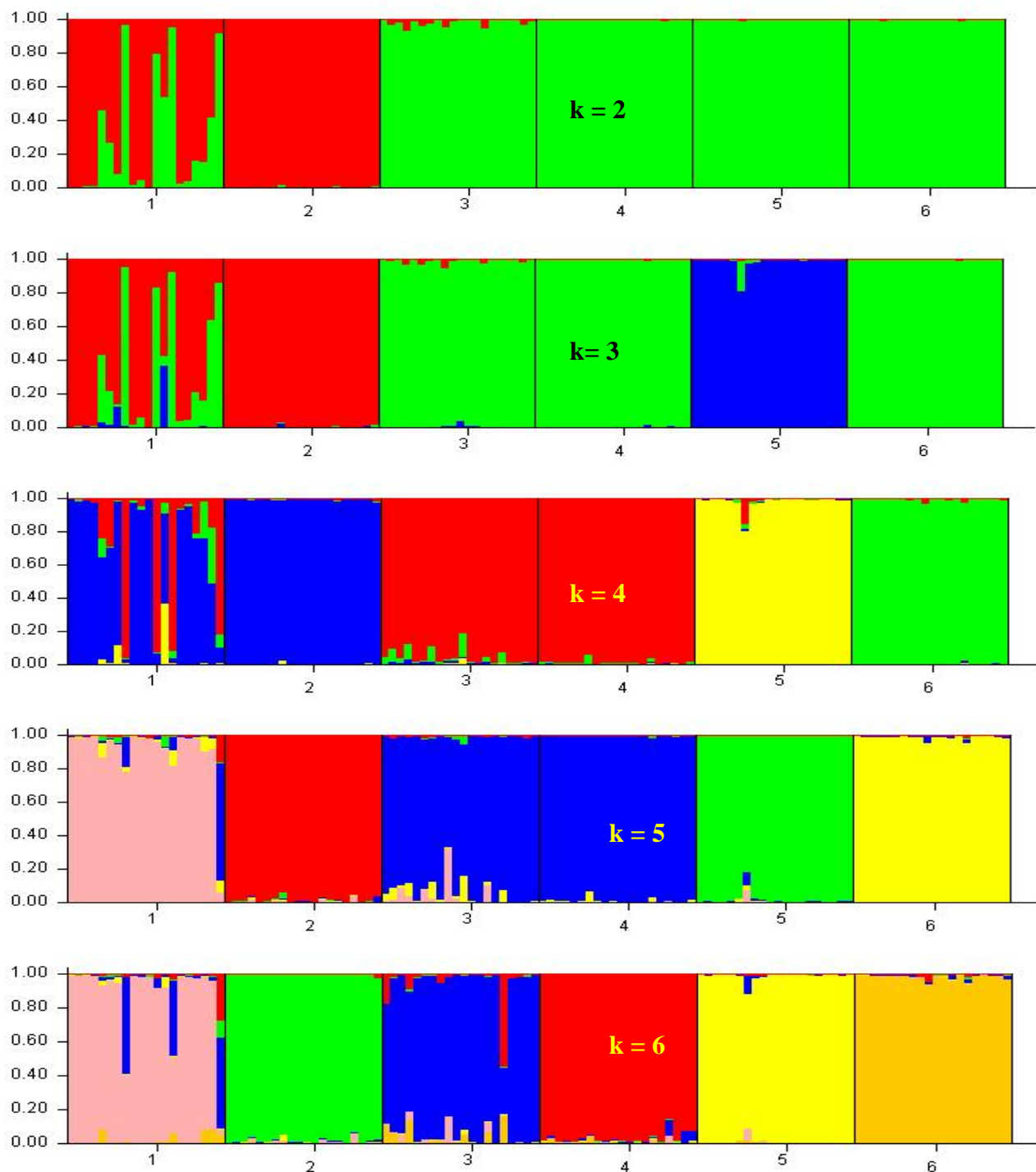


Figure 9 : L'assignation consiste à donner une couleur à chaque truite (fine barre verticale) selon que $k = 2$ à 6. Les numéros 1 à 6 en bas de chaque graphique est le numéro de la station (voir tableau 1): 6 = pisciculture et 5 = Oulas. Les couleurs sont attribuées au hasard, c'est donc les couleurs communes qu'il faut suivre et pas la couleur elle-même.

5.3. Distances génétiques

Il est clair qu'aucun échantillon n'est identique à un autre (voir Figure 9). Cependant il est intéressant de hiérarchiser ces différences. La tableau 2 montre que c'est l'Agout qui se distingue le plus des autres stations ($F_{st} \sim 0.25$), suivi d'Oulas ($F_{st} \sim 0.18$), suivi de tous les autres ($F_{st} \sim 0.10$).

	AGO	THO	SOR	OUL	PIS
ARN	0.17195	0.07597	0.11124	0.16379	0.11594
AGO		0.21778	0.24467	0.28856	0.22769
THO			0.07165	0.18679	0.08937
SOR				0.18835	0.10245
OUL					0.19878

Tableau 2 : L'intersection entre deux stations (ARN=Arn, AGO=Agout; THO=Thoré, SOR=Sor, OUL=Oulas, PIS=atlantiques de pisciculture) donne la valeur du Fst, paramètre de différenciation assimilable à une distance génétique. Les Fst supérieurs à 0,2 sont en orange, ceux compris entre 0,15 et 0,20 sont en jaune. Nous voyons que l'échantillon Agout est le plus différent de tous les autres (surtout en orange), suivi de l'échantillon d'Oulas (en jaune). Toutes les autres valeurs sont inférieures. Ceci est en rapport avec la Figure 8 où l'Agout se différencie le long de l'axe 1 (horizontal, le plus informatif) et Oulas le long de l'axe 2.

6. Interprétation

Les analyses entreprises avec un grand nombre de marqueurs aboutissent à quelques résultats importants:

- globalement, la nature génétique des populations de truites de l'amont de l'Agout et de ses affluents est différente de celle d'une rivière voisine, l'Oulas, elle même affluent du Dadou et de l'Agout plus à l'aval.

- aucun des 4 échantillons prélevés dans l'amont de l'Agout est identique à un autre (Fst tous significatifs). Les analyses multidimensionnelles et surtout d'assignation nous montrent qu'il n'y a pas d'échange entre ces localités. On peut en déduire que la sédentarité des truites de l'amont de l'Agout est complète. Ceci a été bien mis en évidence dans des rivières méditerranéennes mais rarement dans le versant atlantique.

- morphologiquement, bien que quelques particularités peuvent être relevées donnant une impression de parenté entre truites d'une même rivière, c'est seulement la truite du Sor qui présente une robe bien reconnaissable, caractérisée par de nombreuses grosses taches noires sur le dos et les flancs (voir Annexe). La présence dans la même rivière de truites d'un type différent, proche visuellement des truites domestiques, fait penser à des repeuplements récents (maximum 5-8 ans), ce que suggère la Figure 8 mais pas la 9 (voir hypothèse d'une autre souche de repeuplement ci-dessous).

- les analyses multidimensionnelles suggèrent que le Thoré serait très fortement introgressé par la souche domestique et que les rivières Arn et Sor le seraient de façon marginale; seul l'Agout en serait indemne. Cependant les analyses d'assignation ne décèlent pas la présence de la souche domestique commerciale dans les échantillons naturels quand $k > 3$. Cette contradiction apparente peut être expliquée de diverses façons:

- (i) l'introggression domestique peut avoir été faite à partir d'une souche de pisciculture qui n'est pas celle employée dans les analyses (qui est la souche dite INRA-SEMII, la plus rependue en France dans de multiples piscicultures commerciales). Une recherche de l'histoire et de l'origine des repeuplements dans le haut Agout pourrait aider à comprendre. La pisciculture locale du Pujol pourrait avoir joué un rôle.

(ii) c'est une ressemblance fortuite que l'analyse multidimensionnelle aurait détecté, le Tarn étant une rivière atlantique comme les rivières d'où ont été récolté les parents originaux des souches domestiques (Scandinavie, Allemagne, France).

En conclusion, il est clair que chacune des rivières analysées héberge une souche de truite bien distincte et que toute translocation, même à si faible distance, aurait pour conséquence une réduction de la biodiversité spécifique. Toutefois la cause exacte de la ressemblance entre Thoré et souche domestique reste en suspens et pourrait être comprise à partir de la connaissance des pratiques locales de repeuplement.

Fait à Montpellier le 29 novembre 2011

Annexe: La robe des truites : ceci est une tentative de retrouver les types morphologiques de chaque rivière.

Une des "astuces" de généticien pour savoir si une population a été repeulée avec des truites domestiques est de comparer toutes les truites d'un échantillon: si elles sont toutes identiques (de même type) c'est qu'il n'y a pas eu de manipulation récente (mais une introduction ancienne, digérée depuis une dizaine d'années ou plus, est toujours possible sans être visible). Si il y a nettement deux types morphologiques avec quelques intermédiaires (hybrides) c'est qu'il y a eu repeuplement récent.

Ici, seule la station du Sor présente deux types morphologiques: un types à nombreuses grosses taches noires dorsales (truite 71, type 1 supposé sauvage) et un type "banal" (truite 70, type 2 supposé de pisciculture). Au jugé, l'échantillon comprendrait 25% du premier type, 35% du second type et 40% d'intermédiaires.

Il est difficile de juger les autres échantillons, tous plus ou moins proches du type domestique (mais de nombreuses truites sauvages ancestrales ressemblent aux truites domestiques).



Truite 03 de l'Arn



Truite 26 de l'Agout



Truite 45 du Thoré



Truite 71 du Sor (type 1 sauvage)



Truite 70 du Sor (type 2 domestique)



Pisciculture du Vaucluse