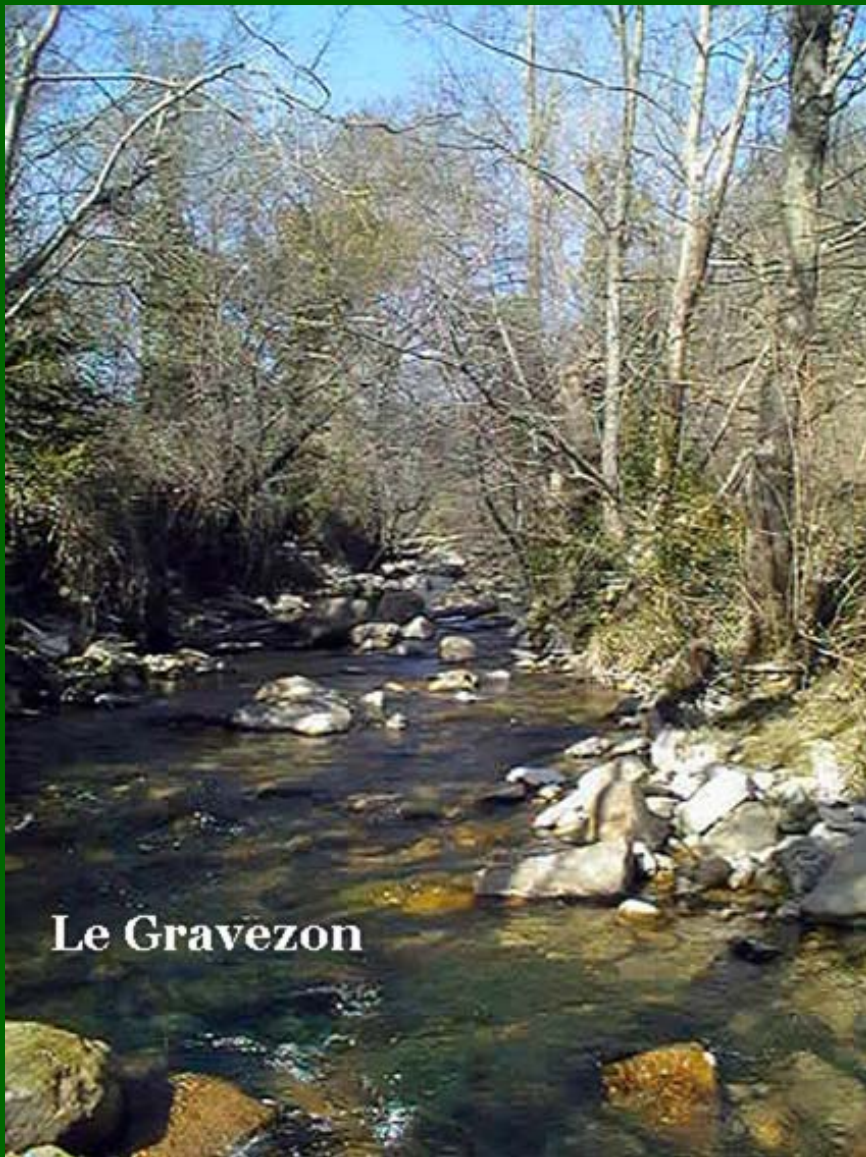


**Composition génétique des truites des cours d'eau
Gravezon, Rongas et Mare (Hérault 34)
- Campagne de pêche 2012 -**

Projet ORB4

Rapport d'avril 2013



© FD34

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

* 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

1. Introduction

Ce projet d'analyse entre dans le cadre de la connaissance du cheptel de truites de l'Orb. C'est la quatrième campagne de pêche effectuée à des fins d'analyse génétique depuis novembre 2009.

2. Echantillonnage

Les 3 stations analysées dans le présent rapport sont détaillées dans le Tableau 1 et leur localisation dans la Figure 1. Les 40 échantillons de nageoires sont parvenus au laboratoire de Montpellier le 6 février 2013. Eric Ravel est le correspondant de la Fédération de Pêche 34 pour ce projet ORB4.

N° carto	Rivière	Localité	Date	Rapport	Nbre	N° individus	N° éch.	N° terrain
1	Gravezon	amont Joncel	19/09/2012	ORB4	20	T24661-24680	L078	2012-FEDE34-01 à 20
2	Rongas	amont jardin	04/10/2012	ORB4	5	T24681-24685	L082	2012-FEDE34-21 à 31
3	Mare	Castanet le Haut	04/10/2012	ORB4	15	T24686-24700	L084	2012-FEDE34-22 à 40
4	Bouissou	Moulin d'Orques	05/10/2010	ORB2	14	T18259-18272	L318	Fédé34-12 à 25
5	Gravezon	Joncel	28/10/2010	ORB2	10	T19018-19027	L356	A01 à 10
6	Rec de Mézac		28/10/2010	ORB2	4	T19028-19031	L357	B01 à 04
7	Rec de Sourlan	Archer	28/10/2010	ORB2	6	T19032-19037	L358	C01 à 06
8	Pisciculture	Seine Maritime	2008	GENETRUTTA	10	T16976-16985	L267	108-241 à 250
9	Pisciculture	Pas de Calais	2008	GENETRUTTA	10	T16985-16995	L268	108-311 à 320

Tableau 1 : Caractéristiques des truites analysées dans ce rapport (lignes jaunes) et des truites de référence servant aux comparaisons dont les truites domestiques atlantiques (en gris).

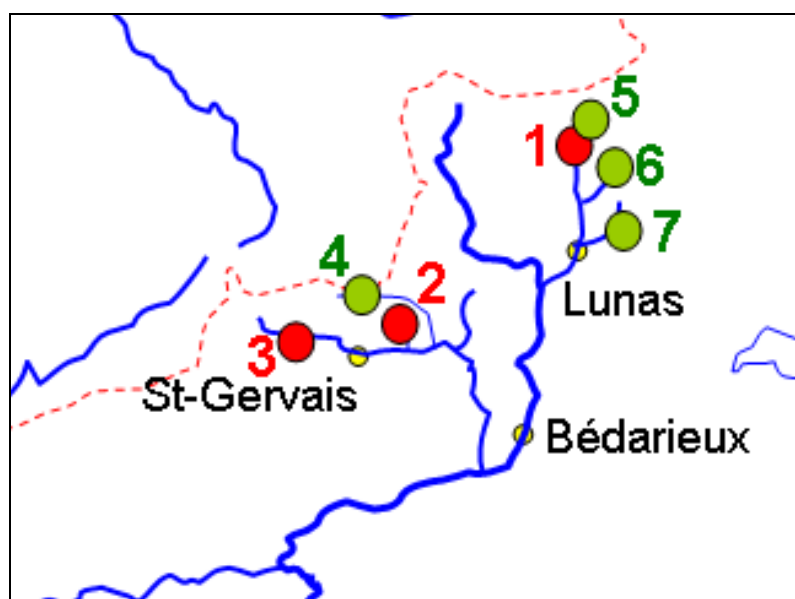


Figure 1 : Positionnement des échantillons analysés et de certains échantillons de référence dans le réseau hydrographique local (voir le Tableau 1 pour la signification des chiffres).

En plus des échantillons de 2012 du Gravezon, de Rongas et de la Mare, des échantillons de référence ont été ajoutés: des localités voisines déjà analysées (Bouissou, Gravezon 2010, Rec de Mélac et Rec de Sourlon) ainsi que des échantillons de truites domestiques commerciales françaises provenant de deux piscicultures (Seine-Maritime et Pas de Calais) (Tableau 1).

3. Méthode moléculaire

Les morceaux de nageoire de truites prélevés au bord de la rivière et mis immédiatement dans l'alcool peuvent être conservés ainsi plus de 10 années. L'ADN d'un minuscule morceau (1 mm x 2 mm) est **extrait** dans une mixture de protéinase K (détruit les protéines et libère l'ADN) et de Chelex (chélateur des enzymes destructrices naturelles de l'ADN et de certains inhibiteurs) pendant au moins deux heures. Après centrifugation, le surnageant dilué sert d'extrait d'ADN.

Les extraits d'ADN sont rajoutés à un mélange réactionnel (le mix) capable d'**amplifier** le petit morceau d'ADN cible: le marqueur microsatellite (synthèse artificielle de l'ADN cible ou PCR). Le milieu réactionnel se charge alors d'une très grande quantité de fragments d'ADN artificiel cible.

Les variants de longueur des microsatellites (les allèles) sont caractéristiques de chaque truites; il en constituent le génotype et sont la base des calculs futurs.

Pour les mesurer, ils sont mis à migrer sous un champ électrique dans un gel d'acrylamide (la **migration**) puis scannés. Un analyseur d'image permet de mesurer automatiquement la longueur des fragments d'ADN, ces mesures sont contrôlées par un technicien expérimenté.

La matrice de génotypes est constituée à partir de ces mesures. Elle constitue la base de toutes les analyses statistiques.

4. Méthode statistiques

Les données moléculaires (génotypes) obtenues, codées, permettent d'établir une matrice. Additionnée de la matrice des échantillons de référence (pour les comparaisons) déjà analysés (voir Tableau 1), la matrice finale permet d'effectuer les traitements statistiques suivants, constitués de deux étapes principales.

L'**analyse multidimensionnelle** (ici un Analyse Factorielle des Correspondances ou AFC effectuée grâce au logiciel GENETIX) produit un diagramme qualitatif où chaque truite est positionnée en fonction de son génotype décrypté pour chaque marqueur microsatellite. Plus deux points sont rapprochés, plus les truites qu'ils représentent se ressemblent génétiquement. Plus ils sont éloignés et plus les truites sont différentes. Cela permet de détecter des "nuages" de points correspondant à des lignées génétiques permettant de comprendre de quel type sont les truites analysées.

L'**analyse d'assignation** (ici une méthode bayésienne appliquée avec le logiciel STRUCTURE) permet d'assigner chaque truite à un sous-groupe. Ces sous groupes ne tiennent pas compte de l'origine des truites mais seulement de leur génotype. Le point le plus délicat est de savoir combien de sous groupes (k) sont contenus dans les truites analysées, aussi des essais avec k allant de 2 à 5 sont nécessaires. Il faut que la partition ait un sens biologique. Les truites peuvent être assignées à plusieurs sous groupes si elles sont hybridées. Cette méthode, plus quantitative, permet de chiffrer avec précision la composition génétique d'un

échantillon (par exemple les pourcentages de truites sauvages et domestiques dans un échantillon) ou d'une truite hybride.

5. Résultats

5.1 - Analyse multidimensionnelle

L'analyse multidimensionnelle présentée en Figure 2 doit être considérée comme un débroussaillage des données. Elle donne la meilleure représentation des ressemblances et dissemblances entre échantillons de référence et les échantillons de 2012.

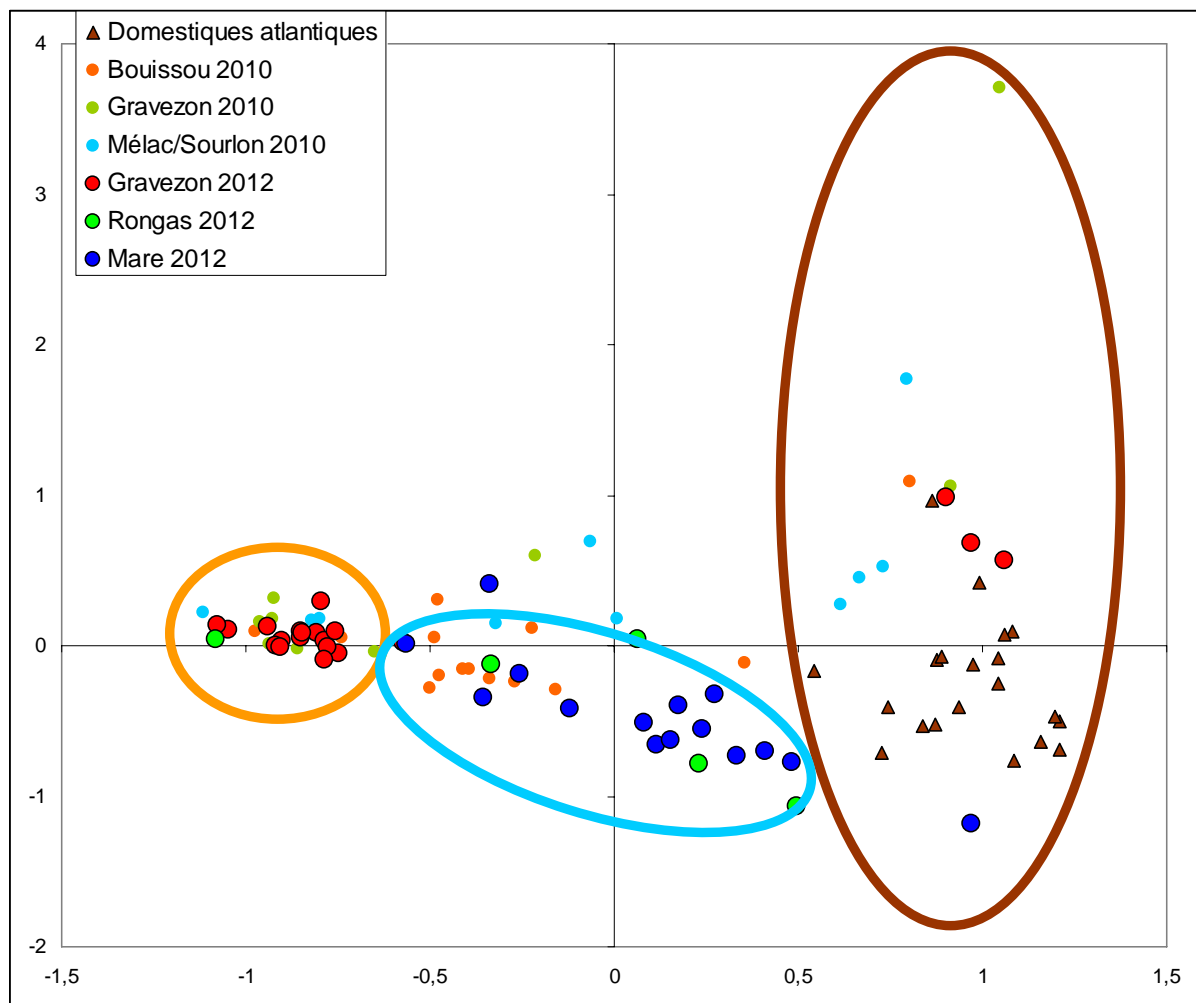


Figure 2 : Ce diagramme nous montre que les truites de **lignée atlantique domestique** à droite (enveloppe marron) s'opposent aux truites de **lignée méditerranéenne sauvage** (de type Gravezon dans l'enveloppe orange et de type Mare dans l'enveloppe bleue). On voit nettement que, parmi les échantillons de 2012, il y a trois truites domestiques pêchées dans le Gravezon (ronds rouges à droite) et une autre pêchée dans la Mare (rond bleu-marine à droite).

Ces résultats généraux sont peu précis (limites mal définies entre les types et lignées). Ils peuvent être améliorés par l'analyse d'assignation qui suit.

5.2 - Analyse d'assignation

L'analyse d'assignation présentée en Figure 3 est très claire. Outre la présence de la souche atlantique commerciale (en vert), nous voyons que dans la lignée méditerranéenne, les truites du Gravezon (bleu) et de la Mare (rouge) peuvent être distinguées.

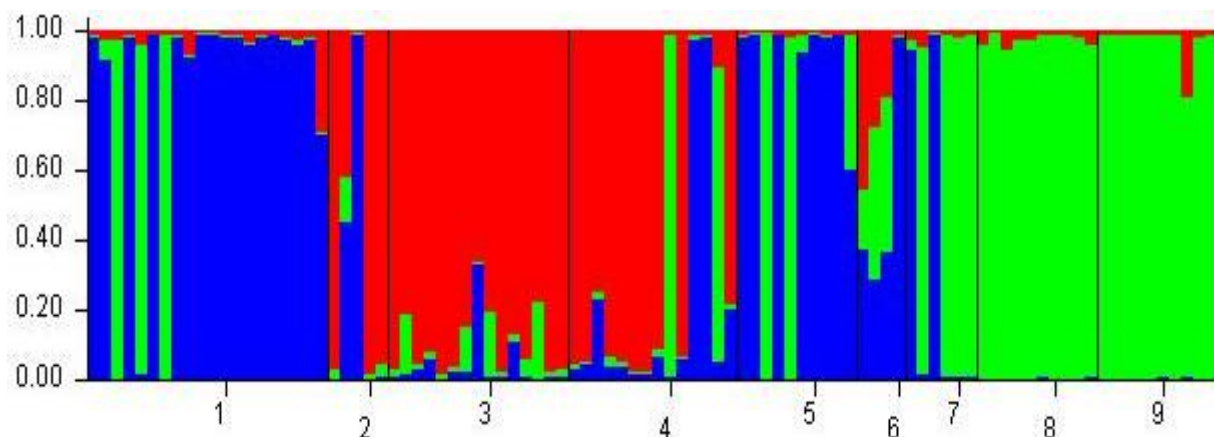


Figure 3 : Histogramme dans lequel chaque barre verticale est une truite. Ici, la couleur **verte** indique la lignée atlantique domestique commerciale et le bleu et rouge la lignée méditerranéenne (la couleur **bleu** représente le type Gravezon et le **rouge** le type Mare). Les échantillons 1 à 3 sont ceux de 2012. Les échantillons 4 à 7 sont ceux de 2010. Les échantillons 8 et 9 correspondent à la souche commerciale nationale (voir Tableau 1).

N° carte	Echantillon	Nbre	Calcul brut			Calcul introgression		
			lignée med.		atl.	lignée med.		atl.
			M	G	P	M	G	P
1	Gravezon 2012	20	3	82	15	3	90	6
2	Rongas 2012	5	67	29	4	67	29	4
3	Mare 2012	15	89	5	6	89	5	6
4	Bouissou 2010	14	66	20	14	76	23	1
5	Gravezon 2010	10	1	75	24	1	93	6
6	Mélac 2010	4	25	49	26	25	49	26
7	Sourlan 2010	6	2	33	65	1	97	2
8	P. Seine Maritime 2008	10	2	1	97	-	-	-
9	P. Pas de Calais 2008	10	3	1	96	-	-	-

Tableau 2: Pourcentages de présence moyenne des 3 types génétiques détectés dans chaque échantillon analysé. Le calcul d'introgression se fait après avoir retiré les truites nées en pisciculture. **En rouge** les populations presque indemne d'introgression.

Les observations remarquables sont:

- le diagnostic des échantillons de 2010 est le même que dans le rapport Berrebi & Cherbonnel (2011), sauf qu'il n'avait pas été possible de distinguer les deux types naturels Gravezon et Mare.

- Le rapport de 2011 avait déjà observé de brusques changements des types génétiques dans l'échantillon du Sourlan: la nature fractionnée de ce ruisseau en est sans doute l'explication.

En ce qui concerne les échantillons de 2012,

- 3 truites sont d'origine domestique dans le Bouissou (barre vertes dans l'échantillon. Ceci a déjà été observé dans la Figure 2.

- Etrangement, des truites de chaque type local naturel (Mare et Gravezon) coexistent dans le petit échantillon du Rongas (n°2).

- L'échantillon de la Mare à Castanet le Haut est logiquement de type Mare très majoritaire.

6. Interprétation et discussion

6.1. La lignée atlantique en région méditerranéenne

Les données de ce rapport nous montrent des populations très faiblement introgressées par les truites domestiques. L'introgression est la pénétration de gènes domestiques dans la reproduction naturelle. Elle se traduit par des hybrides. Les truites 100% domestiques observées dans les échantillons de 2012 ont statistiquement une très forte probabilité de disparaître sans se reproduire, elles ont été introduites récemment (sûrement il y a environ moins de 3 ans) et ne peuvent pas être considérées comme de l'introgression. Par conséquent, la modification du stock sauvage dans chaque localité peut être estimée en pourcentages de présence domestique (calcul brut) ou en pourcentage d'introgression (calcul excluant les truites domestiques nées en pisciculture et destinées à mourir). C'est ce que donne le Tableau 2. Il appuie l'idée que la truite sauvage est encore bien présente dans la région malgré des décennies d'alevinage: à part le Rec de Mélat, toutes les populations analysées dans ce rapport (2010 et 2012) sont naturelles à plus de 90%! (en rouge dans le Tableau 2)

6.2. Remarques sur les truites sauvages méditerranéennes

Les analyses faites sur les échantillons de 2012 représentent un progrès. Pour la première fois, nous découvrons de façon certaine que les truites des sous bassins Mare et Gravezon sont de types différents, bien que proches. Ceci démontre que les truites d'un sous bassin ne migrent presque jamais vers l'autre sous bassin. Des milliers d'années de séparation ont permis, par dérive et adaptation, la différenciation des deux types.

Le ruisseau de Rongas contient certaines truites purement de type Mare (le plus logique): 3 spécimens; de type Gravezon (1) et surtout un hybride moitié-moitié entre les deux types naturels (voir pourcentages exacts en annexe). La position de ce ruisseau n'explique pas cette composition intermédiaire. Le même phénomène est observable dans le Bouissou 2010, avec des truites entièrement de type Gravezon majoritaire (ce qui n'est pas logique) ou entièrement de type Mare, avec seulement deux hybrides 25% (voir pourcentages exacts en annexe). Ces hybrides à 25% environ sont présents dans le Rongas (1) et la Mare 2012 (1). La composition du Rec de Mélat est plus complexe.

Ces anomalies s'expliquent par l'alevinage de la souche Orb, détenue à la pisciculture de Babeau, et qui a été constituée à partir de géniteurs d'origine majoritaire Gravezon. La présence d'hybrides montre que cette souche locale se reproduit avec les géniteurs de la population réceptrice.

7. Références bibliographiques

Berrebi, P., & Cherbonnel, C. (2011). *Caractérisation génétique des truites de l'Orb (Bouissou et Gravezon) - Campagne 2010: Rapport d'analyses pour la Fédération de Pêche de l'Hérault*. Université Montpellier 2.

Fait à Montpellier le 10 avril 2013

8. Annexes

Le tableau présenté ci-dessous donne la composition en pourcentages de chaque truite analysée dans ce rapport : **M** = type Mare; **G** = type Gravezon; **P** = lignée domestique.

N° ISEM	N° tube	Station	N° carto	M	G	P
T24661	2012-FEDE34-7	Gravezon (avant Joncel)	1	1	98	1
T24662	2012-FEDE34-1	Gravezon (avant Joncel)	1	2	92	6
T24663	2012-FEDE34-2	Gravezon (avant Joncel)	1	3	1	97
T24664	2012-FEDE34-6	Gravezon (avant Joncel)	1	1	99	1
T24665	2012-FEDE34-15	Gravezon (avant Joncel)	1	4	2	94
T24666	2012-FEDE34-20	Gravezon (avant Joncel)	1	1	99	1
T24667	2012-FEDE34-10	Gravezon (avant Joncel)	1	1	1	98
T24668	2012-FEDE34-13	Gravezon (avant Joncel)	1	1	98	1
T24669	2012-FEDE34-3	Gravezon (avant Joncel)	1	7	93	1
T24670	2012-FEDE34-9	Gravezon (avant Joncel)	1	1	99	1
T24671	2012-FEDE34-12	Gravezon (avant Joncel)	1	1	99	0
T24672	2012-FEDE34-8	Gravezon (avant Joncel)	1	1	98	1
T24673	2012-FEDE34-17	Gravezon (avant Joncel)	1	1	98	1
T24674	2012-FEDE34-11	Gravezon (avant Joncel)	1	3	96	1
T24675	2012-FEDE34-5	Gravezon (avant Joncel)	1	1	98	1
T24676	2012-FEDE34-14	Gravezon (avant Joncel)	1	1	99	1
T24677	2012-FEDE34-4	Gravezon (avant Joncel)	1	2	98	1
T24678	2012-FEDE34-18	Gravezon (avant Joncel)	1	3	96	1
T24679	2012-FEDE34-19	Gravezon (avant Joncel)	1	2	98	1
T24680	2012-FEDE34-16	Gravezon (avant Joncel)	1	29	70	1
T24681	2012-FEDE34-31	Rongas (amont jardin)	2	97	1	3
T24682	2012-FEDE34-26	Rongas (amont jardin)	2	42	46	13
T24683	2012-FEDE34-21	Rongas (amont jardin)	2	1	99	0
T24684	2012-FEDE34-29	Rongas (amont jardin)	2	98	1	1
T24685	2012-FEDE34-25	Rongas (amont jardin)	2	95	1	3
T24686	2012-FEDE34-27	Mare (Castanet le Haut)	3	97	1	2
T24687	2012-FEDE34-24	Mare (Castanet le Haut)	3	81	2	18
T24688	2012-FEDE34-40	Mare (Castanet le Haut)	3	95	4	1
T24689	2012-FEDE34-37	Mare (Castanet le Haut)	3	92	6	2
T24690	2012-FEDE34-32	Mare (Castanet le Haut)	3	98	1	2
T24691	2012-FEDE34-33	Mare (Castanet le Haut)	3	96	2	1
T24692	2012-FEDE34-23	Mare (Castanet le Haut)	3	85	2	13
T24693	2012-FEDE34-39	Mare (Castanet le Haut)	3	66	33	1
T24694	2012-FEDE34-35	Mare (Castanet le Haut)	3	80	1	18
T24695	2012-FEDE34-36	Mare (Castanet le Haut)	3	98	1	1
T24696	2012-FEDE34-28	Mare (Castanet le Haut)	3	87	11	3
T24697	2012-FEDE34-34	Mare (Castanet le Haut)	3	94	1	5
T24698	2012-FEDE34-30	Mare (Castanet le Haut)	3	78	0	22
T24699	2012-FEDE34-22	Mare (Castanet le Haut)	3	98	1	1

N° ISEM	N° tube	Station	N° carto	M	G	P
T24700	2012-FEDE34-38	Mare (Castanet le Haut)	3	97	1	2
T18259	Fédé34-12	Bouissou (Moulin d'Orques)	4	95	3	1
T18260	Fédé34-13	Bouissou (Moulin d'Orques)	4	95	5	1
T18261	Fédé34-14	Bouissou (Moulin d'Orques)	4	75	23	2
T18262	Fédé34-15	Bouissou (Moulin d'Orques)	4	93	4	3
T18263	Fédé34-16	Bouissou (Moulin d'Orques)	4	95	4	1
T18264	Fédé34-17	Bouissou (Moulin d'Orques)	4	97	2	1
T18265	Fédé34-18	Bouissou (Moulin d'Orques)	4	98	2	1
T18266	Fédé34-19	Bouissou (Moulin d'Orques)	4	91	7	3
T18267	Fédé34-20	Bouissou (Moulin d'Orques)	4	1	1	98
T18268	Fédé34-21	Bouissou (Moulin d'Orques)	4	94	6	1
T18269	Fédé34-22	Bouissou (Moulin d'Orques)	4	1	98	1
T18270	Fédé34-23	Bouissou (Moulin d'Orques)	4	1	98	1
T18271	Fédé34-24	Bouissou (Moulin d'Orques)	4	11	5	84
T18272	Fédé34-25	Bouissou (Moulin d'Orques)	4	78	20	2
T19018	A01	Gravezon (station Joncel)	5	1	99	1
T19019	A02	Gravezon (station Joncel)	5	1	99	1
T19020	A03	Gravezon (station Joncel)	5	1	1	99
T19021	A04	Gravezon (station Joncel)	5	1	99	1
T19022	A05	Gravezon (station Joncel)	5	2	1	98
T19023	A06	Gravezon (station Joncel)	5	1	94	5
T19024	A07	Gravezon (station Joncel)	5	1	99	1
T19025	A08	Gravezon (station Joncel)	5	1	98	1
T19026	A09	Gravezon (station Joncel)	5	1	99	1
T19027	A10	Gravezon (station Joncel)	5	1	61	38
T19028	B01	Rec de Mélac	6	46	38	17
T19029	B02	Rec de Mélac	6	27	29	44
T19030	B03	Rec de Mélac	6	19	37	44
T19031	B04	Rec de Mélac	6	1	98	1
T19032	C01	Rec de Sourlan (station Archer)	7	2	95	3
T19033	C02	Rec de Sourlan (station Archer)	7	4	2	94
T19034	C03	Rec de Sourlan (station Archer)	7	1	99	0
T19035	C04	Rec de Sourlan (station Archer)	7	1	1	98
T19036	C05	Rec de Sourlan (station Archer)	7	2	1	97
T19037	C06	Rec de Sourlan (station Archer)	7	1	1	98
T16976	108-241	Genesalm-36 Pisciculture (Seine Maritime)	8	4	1	95
T16977	108-242	Genesalm-36 Pisciculture (Seine Maritime)	8	1	1	99
T16978	108-243	Genesalm-36 Pisciculture (Seine Maritime)	8	5	1	94
T16979	108-244	Genesalm-36 Pisciculture (Seine Maritime)	8	2	0	97
T16980	108-245	Genesalm-36 Pisciculture (Seine Maritime)	8	2	1	97
T16981	108-246	Genesalm-36 Pisciculture (Seine Maritime)	8	1	1	98
T16982	108-247	Genesalm-36 Pisciculture (Seine Maritime)	8	1	1	98
T16983	108-248	Genesalm-36 Pisciculture (Seine Maritime)	8	1	1	98
T16984	108-249	Genesalm-36 Pisciculture (Seine Maritime)	8	2	1	98

N° ISEM	N° tube	Station	N° carto	M	G	P
T16985	108-250	Genesalm-36 Pisciculture (Seine Maritime)	8	4	1	95
T16986	108-311	Genesalm-35 Pisciculture (Pas de Calais)	9	1	1	98
T16987	108-312	Genesalm-35 Pisciculture (Pas de Calais)	9	1	1	98
T16988	108-313	Genesalm-35 Pisciculture (Pas de Calais)	9	1	1	99
T16989	108-314	Genesalm-35 Pisciculture (Pas de Calais)	9	1	1	99
T16990	108-315	Genesalm-35 Pisciculture (Pas de Calais)	9	1	1	99
T16991	108-316	Genesalm-35 Pisciculture (Pas de Calais)	9	1	1	98
T16992	108-317	Genesalm-35 Pisciculture (Pas de Calais)	9	1	1	98
T16993	108-318	Genesalm-35 Pisciculture (Pas de Calais)	9	19	1	80
T16994	108-319	Genesalm-35 Pisciculture (Pas de Calais)	9	2	1	98
T16995	108-320	Genesalm-35 Pisciculture (Pas de Calais)	9	1	0	99