

**Analyse génétique de truites du département des Pyrénées Atlantiques
(Luy de France, Saison et Bidouze)
dans le cadre du programme national Genetrutta (12 microsattellites)**

Projet GT-PA1
Rapport de juillet 2013



Le Saison

Analyses statistiques, interprétation, rédaction: **Patrick Berrebi**
Analyses moléculaires: **Genindexe****

* **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, contact@genindexe.com

1. Introduction

Le présent projet entre dans le cadre du programme national GENETRUTTA. Basé sur l'analyse moléculaire de 12 microsattellites, GENETRUTTA doit aboutir, en 2015, à une carte nationale des lignées de truites naturelles.

Dans les Pyrénées Atlantiques comme dans les autres départements, ce sont d'abord des stations connues pour renfermer des populations de truites à l'état naturel qui sont recherchées. Le Luy de France et la Bidouze ne sont plus alevinés depuis longtemps, ce n'est pas le cas du Saison.

Le présent rapport propose de connaître l'impact des repeuplements en truites domestiques et de placer les peuplements naturels des trois rivières concernées dans la diversité départementale, ce qui permettra de les placer dans la diversité nationale dans les futurs rapports Genetrutta.

2. Echantillonnage

Les 60 échantillons de nageoires sont parvenus au laboratoire de Montpellier le 27 février 2013 à l'occasion de la réunion TFP de Toulouse. Fabrice Masseboeuf est le correspondant de la Fédération de Pêche 64 pour ce projet GT-PA1. Les 4 stations analysées dans le présent rapport sont détaillées dans le Tableau 1 et leur localisation dans la Figure 1.

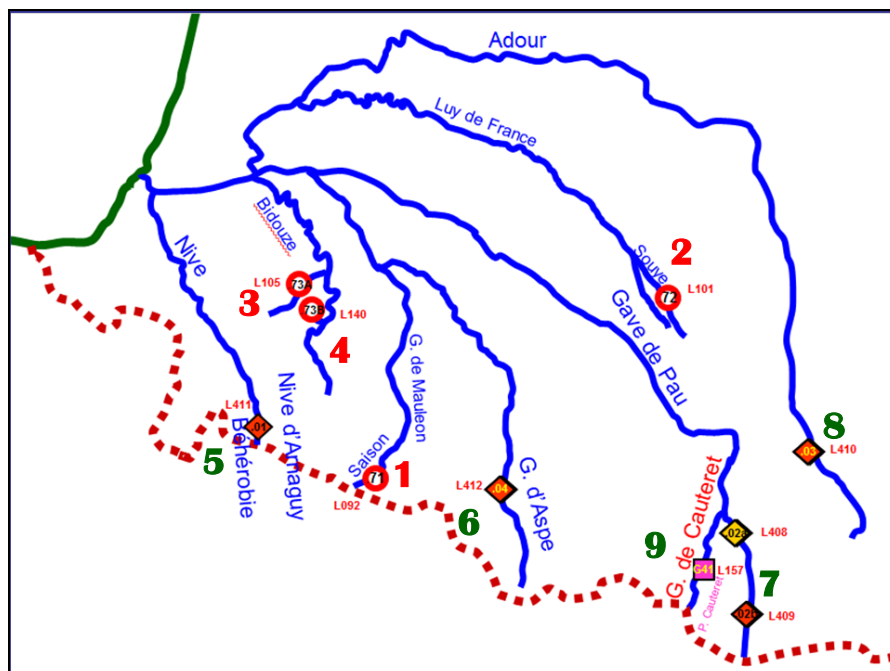


Figure 1 : Positionnement des échantillons analysés (chiffres rouges) et de certains échantillons de référence dans le réseau hydrographique local (chiffres vert). Voir le Tableau 1 pour la signification des chiffres et les caractéristiques des échantillons.

En plus des échantillons des Pyrénées-Atlantiques de 2012, des échantillons de référence ont été ajoutés : des rivières voisines, déjà analysées pour Genetrutta (Nive, Gaves d'Aspe et de Pau, amont de l'Adour), une souche locale de la pisciculture de Cauterets puisqu'une autre étude en cours a décelé sa présence dans l'Harembelzko erreka (Joëlle Chat, communication personnelle). Enfin, un échantillon de truites atlantiques domestiques commerciales françaises

provenant d'une pisciculture de Seine-Maritime et Pas de Calais a aussi été utilisé à des fins de comparaison (Tableau 1).

N° carte	rivière	confluence	n° échantillons	n° échantillons ISEM	n° truites ISEM	date de capture	nombre
1	Saison (Gave de Mauléon)	Gave de Pau -> Adour	GT71	L092	T24731- T24750	27/06/2012	20
2	Souye	Luy de France -> Adour	GT72	L101	T24751- T24770	04/09/2012	20
3	Hestapeko erreka	Joyeuse -> Bidouze -> Adour	GT73A	L105	T24771- T24780	02/10/2012	10
4	Harembelzko erreka	Bidouze -> Adour	GT73B	L140	T24781- T24790	02/10/2012	10
5	Nive d'Arnéguy	Nive -> Adour	GT01	L411	T20237- T20258	09/2011	22
6	Gave d'Aspe	Gave d'Oloron -> Gave Pau -> Adour	GT04	L412	T20267- T20288	09/2011	21
7	Gave de Pau	Adour	GT02B	L409	T20183- T20203	10/2011	21
8	Adour (amont)	(Adour)	GT03	L410	T20212- T20233	08/2011	23
9	Pisciculture de Cauterets	-	GS41	L157	T13091- T13120	2008	30
-	Pisciculture Pas de Calais	-	GS35	L268	T16986- T17015	2008	29
10	Pisciculture Seine Maritime	-	GS36	L267	T16956- T16985	2008	30

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).

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 destructeurs 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 truite (deux allèles, chacun légué par un des parents de la truite) 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 car elles comportent de nombreux pièges.

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) d'échantillons déjà analysés (voir Tableau 1), la matrice finale permet d'effectuer les traitements statistiques suivants, constitués de trois étapes principales.

- L'**analyse multidimensionnelle** (ici une 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 à tous les marqueurs 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 et 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 6 ou 10 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, peut 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.

- Une fois les lignées déterminées par les deux précédentes méthodes, les **paramètres populationnels** classiques de la génétique des populations sont calculés pour chaque lignée et chaque station: la diversité génétique (H_o = hétérozygotie observée et H_{nb} = hétérozygotie théorique non biaisée et A = le nombre moyen de variants par marqueur). Les informations biologiques tirées de ces paramètres populationnels sont détaillées dans la discussion.

5. Résultats

5.1 - Analyse multidimensionnelle

Les analyses multidimensionnelles présentées ici doivent être considérées comme un débroussaillage des données. Elles donnent la meilleure représentation des ressemblances et dissemblances entre échantillons du projet GT-PA1 et les échantillons de référence.

La Figure 2 nous montre qu'il y a très peu de similitude entre truites des 4 localités échantillonnées, la souche de Cauterets et les domestiques commerciales (dite INRA-SEMII). La souche de Cauterets apparait ici comme la plus différente des autres.

La Figure 3 reprend les mêmes échantillons sans Caunterets: les échantillons de rivière n'ont aussi rien à voir avec les souches commerciales nationales.

Enfin, la Figure 4 analyse les relations entre les 4 échantillons naturels de cette étude et les échantillons de référence tirés de la collection de l'ISEM (échantillons 5 à 8 du tableau 1). Certaines ressemblances apparaissent (entre les stations 3 et 4, ou 1 et 8), mais l'analyse d'assignation qui suit (voir 5.2.) est nécessaire pour le confirmer.

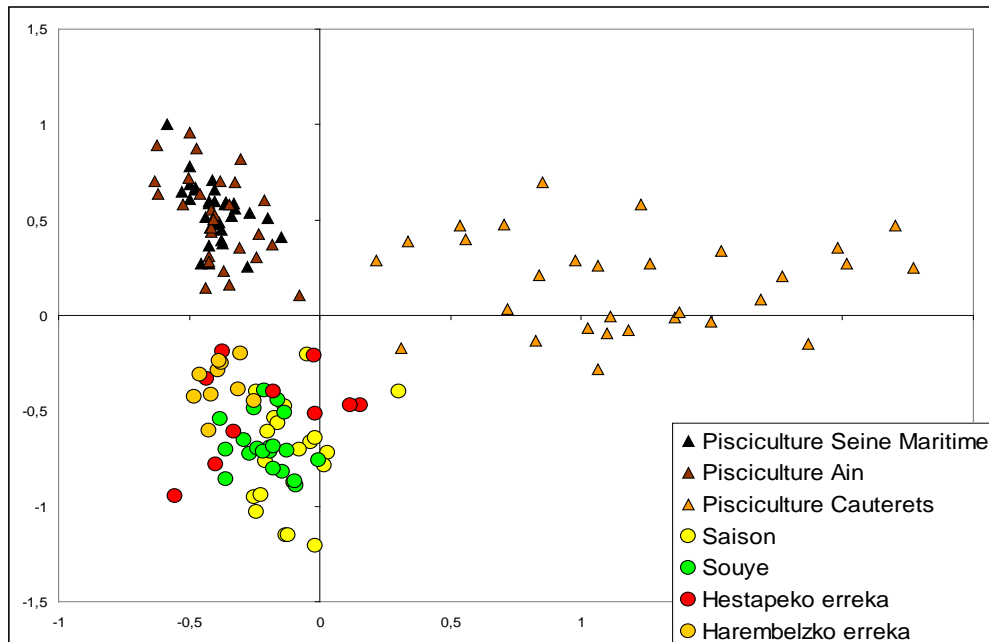


Figure 2 : Analyse multidimensionnelle (AFC) opposant les 4 stations de l'Adour aux piscicultures de Caunterets (souche locale) et nationales (souche atlantique commerciale). Visiblement aucune pisciculture ne semble avoir pénétré les peuplements sauvages.

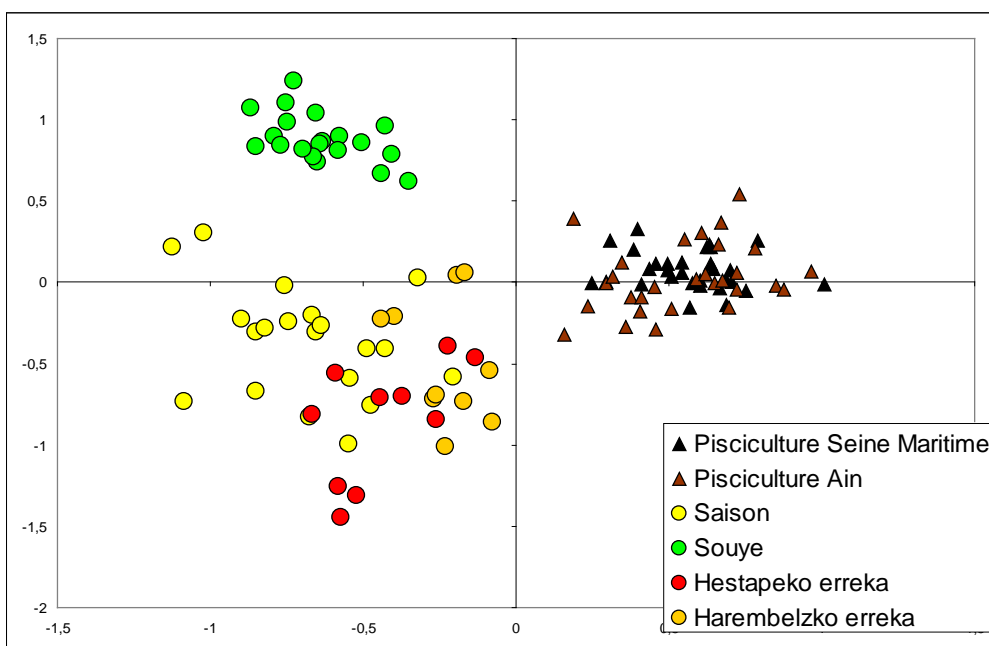


Figure 3 : En retirant la souche de Caunterets, très différente, les relations entre formes sauvages sont mieux décrites (la Souye se distingue des trois autres)

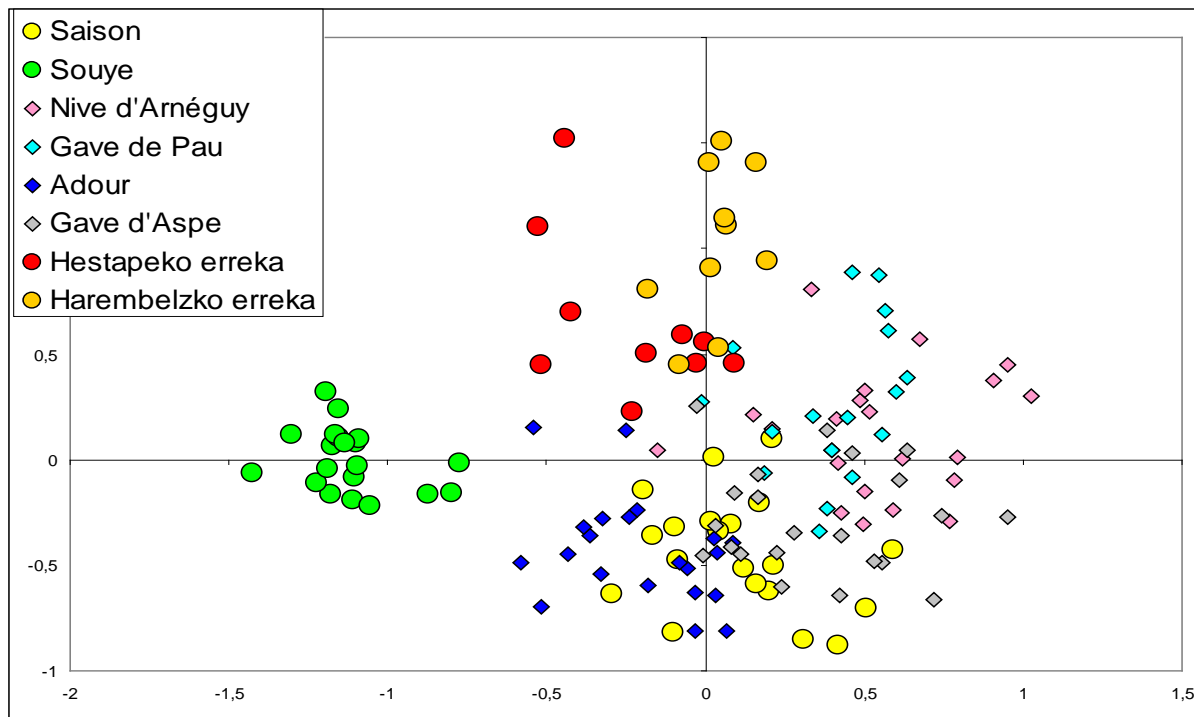


Figure 4 : Ici, les échantillons issus du projet Genetrutta sont comparés aux trois échantillons de 2012. Seule une ressemblance entre Saison, Gave d'Aspe et Adour amont peut être suggérée.

5.2 - Analyse d'assignation

C'est en découpant l'échantillonnage total (échantillons de 2012, échantillons de référence sauvages et domestiques) en 7 lignées que la structure est interprétable. D'abord, la présence domestique (en jaune) est négligeable dans les quatre premiers échantillons de 2012 (comme montré dans la Figure 2). La seule ressemblance nette relie les échantillons du Saison (n°1) et l'échantillon de référence du Gave d'Aspe (6).

Le seul impact visible des alevinages concerne le Gave de Pau (7) avec 13% de formes domestiques (voit Tableau 2, dernière colonne).

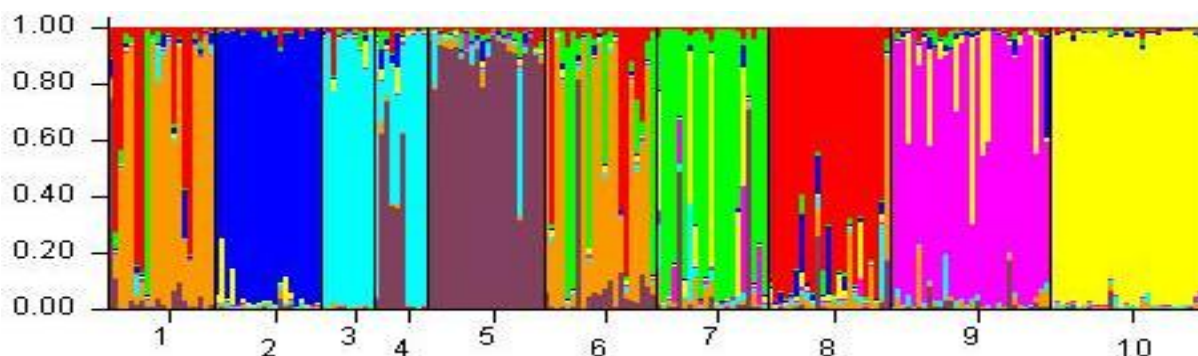


Figure 4 : Histogramme coloré (chaque couleur = un sous-groupe) suite à l'analyse d'assignation effectuée avec le logiciel STRUCTURE. Les truites domestiques (jaune) sont faiblement présentes dans les échantillons 7 et 9 mais absentes des trois premiers échantillons (voir Tableau 1 pour la signification des numéros et le Tableau 2 pour les pourcentages exacts). Seuls les échantillons 1 et 6 sont de la même lignée génétique.

		Saison	Souye	Bidouze	Arnéguy	G. Pau	Adour	Cauterets	Pisc. Seine M.
1	Saison	57	2	2	7	6	24	1	1
2	Souye	1	93	1	1	1	1	0	3
3	Hestapeko	1	1	92	1	1	2	0	2
4	Harembelzko	1	3	63	27	2	2	0	2
5	N. Arnéguy	2	1	4	88	2	2	1	1
6	Gave d'Aspe	51	1	1	8	22	16	1	1
7	Gave de Pau	3	1	4	7	67	1	5	13
8	Adour (amt)	7	4	2	3	2	80	1	3
9	Pisciculture de Cauterets	2	2	2	2	1	1	79	11
10	Pisciculture Seine Maritime	1	1	1	1	1	1	1	95

Tableau 2 : Composition génétique en pourcentages de chaque échantillon analysé. En vert les pourcentages significatifs (au dessus de 5%: le "bruit de fond" estimé de la méthode).

Les truites de Pyrénées Atlantiques sont fortement sédentaires ce qui aboutit à avoir une lignée distincte pour chaque échantillon (exception faite du Saison, plus complexe). Les deux affluents de la Bidouze sont génétiquement très semblables mais l'Harembelzko erreka a été visiblement perturbée par l'apport de 27% de truites proches de la lignée "Arnéguy".

5.3. - Paramètres populationnels

Le principal paramètre populationnel suivi est H_o ou hétérozygotie théorique qui donne une mesure de la diversité génétique de l'échantillon et donc de la population. Cette diversité est très dépendante de la taille de la population échantillonnée (pour une petite population, H_o sera faible, inférieur à 0,6 pour les truites basques. D'autres causes peuvent aussi l'expliquer.

Toutes les populations échantillonnées pour la présente étude ont une diversité faible (Tableau 3), attribuable au débit des rivières où elles ont été capturées et donc à la taille des populations de truites. Le Saison semble faire exception. Tous les échantillons de référence, incluant les souches de pisciculture, ont une diversité élevée.

rivière	Hnb	H_o	A	% domestiques
Saison	0,74	0,63	8,58	1
Souye	0,57	0,49	5,25	3
Hestapeko	0,66	0,59	4,50	2
Harembelzko	0,62	0,54	4,17	2
Nive d'Arnéguy	0,74	0,67	9,25	1
Gave d'Aspe	0,77	0,68	8,83	1
Gave de Pau	0,78	0,67	8,83	13
Adour (amont)	0,76	0,72	8,17	3
Pisciculture de Cauterets	0,79	0,73	10,67	11
Pisciculture Seine Maritime	0,75	0,73	6,75	95

Tableau 3 : Paramètres de polymorphisme de chaque échantillon. Les cases en bleu donnent les valeurs les plus faibles. Les populations Souye et Bidouze sont les moins polymorphes (diverses) de tout l'échantillonnage.

La dernière colonne donne le % de formes domestiques déduites de l'analyse d'assignation (Figure 4).

6. Interprétation et discussion

La truite commune, *Salmo trutta*, est l'espèce de poisson la plus manipulée en Europe. Abondante dans les cours d'eau d'altitude, elle est néanmoins élevée artificiellement dans de multiples établissements piscicoles et déversée à des stades divers, mais essentiellement alevins de quelques mois, pour soutenir la densité de truites dans les rivières, à des fins halieutiques. Ces alevinages sont pratiqués par les autorités détenteurs des baux de pêche depuis plus d'un siècle en France, mais aussi par des particuliers de façon plus ou moins transparente. De ce fait, au niveau national, il est impossible de prédire l'état de mélange des populations sauvages avec les formes domestiques.

Les formes domestiques de truites appartiennent le plus souvent à la lignée dite INRA-SEMII très largement répandue dans la majorité des piscicultures françaises. Il existe cependant plusieurs établissements, parfois importants (Cauterets, Sahorre, Roquebillière), élevant une (ou plusieurs) "souche locale", c'est à dire une souche créée à partir de géniteurs locaux domestiqués. L'utilisation de souches locales complique considérablement les analyses génétiques, surtout quand le généticien n'est pas averti.

Les analyses génétiques se font toujours à deux niveaux: (1) la recherche d'hybridation avec une (des) souche domestique et (2) la description de la structure naturelle, telle qu'elle existait avant l'anthropisation.

6.1. Impact des souches domestiques

Les analyses ont démontré l'absence totale de présence domestique dans les rivières locales (en tout cas en dessous de la sensibilité de la méthode estimée à quelques pourcents) à l'exception du Gave de Pau (Tableau 3, dernière colonne). Du point de vue repeuplements, dans le Luy de France et la Bidouze, les alevinages en truites communes sont abandonnés depuis de nombreuses années. Ce n'est pas le cas pour le Saison où de jeunes stades (0+ et 1+) entièrement domestiques auraient pu être trouvés, ce qui n'a pas été le cas.

Ceci démontre d'une part que ces rivières peuvent parfaitement entretenir des truites sauvages naturelles sans apport domestique, et d'autre part que quand apport il y a, la survie est quasi-nulle puisque toute participation, même dans un passé lointain, de truites domestiques à la reproduction dans la rivière aurait été détectée.

L'analyse d'assignation (Figure 4 et Tableau 2) montre une anomalie probablement d'origine anthropique dans l'affluent de la Bidouze, l'Harembeltzko erreka. Dans cette rivière, près de 27% des caractères génétiques des truites sont exotiques.

Selon Joëlle Chat (communication personnelle) qui a également analysé cette population, ces truites sont proche d'une souche de la pisciculture de Cauterets appelée "Cheptel". Dans notre analyse, nous avons testé la souche de Cauterets non définie provenant de l'échantillonnage de GENESALM (Berrebi & Cherbonnel, 2009): elle ne correspond pas du tout à cette perturbation de l'Harembeltz erreka: cette dernière semble plutôt avoir reçu des truites proches de la lignée naturelle "Arnéguy".

Une première explication serait que la souche "Cauterets Cheptel" soit proche de la lignée Arnéguy. Une seconde explication tient de l'absence d'obstacles entre l'Harembeltzko erreka et la Bidouze alevinée jusqu'en 2004 en amont et en aval de la confluence (à Bunus et Saint Palais respectivement, voir carte en annexe): cet apport exotique peut provenir de la Bidouze. Toutefois, ces repeuplements étaient effectués à partir d'une souche inconnue de la pisciculture fédérale de Pédéhourat à Louvie-Juzon dans le département. La gestion y est à présent patrimoniale.

D'autres analyses sont nécessaires pour confirmer ces hypothèses.

6.2. Structure naturelles des truites des Pyrénées Atlantiques

Les populations analysées dans la Pyrénées Atlantiques nous permettent de comprendre leur structure avant intervention de l'homme. La Figure 4 nous montre que chaque échantillon correspond à une lignée génétique distincte, à l'exception du Saison et du Gave d'Aspe essentiellement de même lignée.

La ressemblance entre Saison et Gave d'Aspe est intrigante. L'histoire évolutive de la région est complexe, et cette ressemblance peut correspondre à la frontière biologique entre types atlantiques du nord et du sud (Berrebi 1997). Une autre hypothèse attribuerait cette ressemblance à l'action de l'homme. Il est connu que ces rivières sont alevinées à partir de la pisciculture de Cauterets. Il faudrait cependant une efficacité rarement vue pour que 51% du Saison soient ainsi modifiés.

L'isolement de ces populations (barrages/chutes naturelles empêchant la remontée) ou leur comportement sédentaire a permis leur différenciation sans échange de migrants, du moins depuis leur installation considérée comme post glaciaire (environ 15000 ans, mais cela reste à être démontré ici). Les analyses sont forcément ponctuelles, forçant à extrapoler une localité à toute une rivière. Connaître l'étendue exacte d'une population nécessiterait un échantillonnage "en transect" (tous les 20 ou 50 km de cours d'eau).

Seule la Souye, affluent du Luy de France, se montre plus éloigné génétiquement des trois autres échantillons de 2012, soit parce que son isolement est antérieur à celui des autres populations (différenciation neutre), soit parce que les conditions écologiques de cette rivière sont exceptionnelles (différenciation neutre et adaptative).

6.3. Synthèse

L'analyse des quatre stations de ce rapport (mais aussi de quasiment toutes les populations analysées pour le projet Genetrutta) nous donne une image de peuplement salmonicole à l'état quasi-naturel.

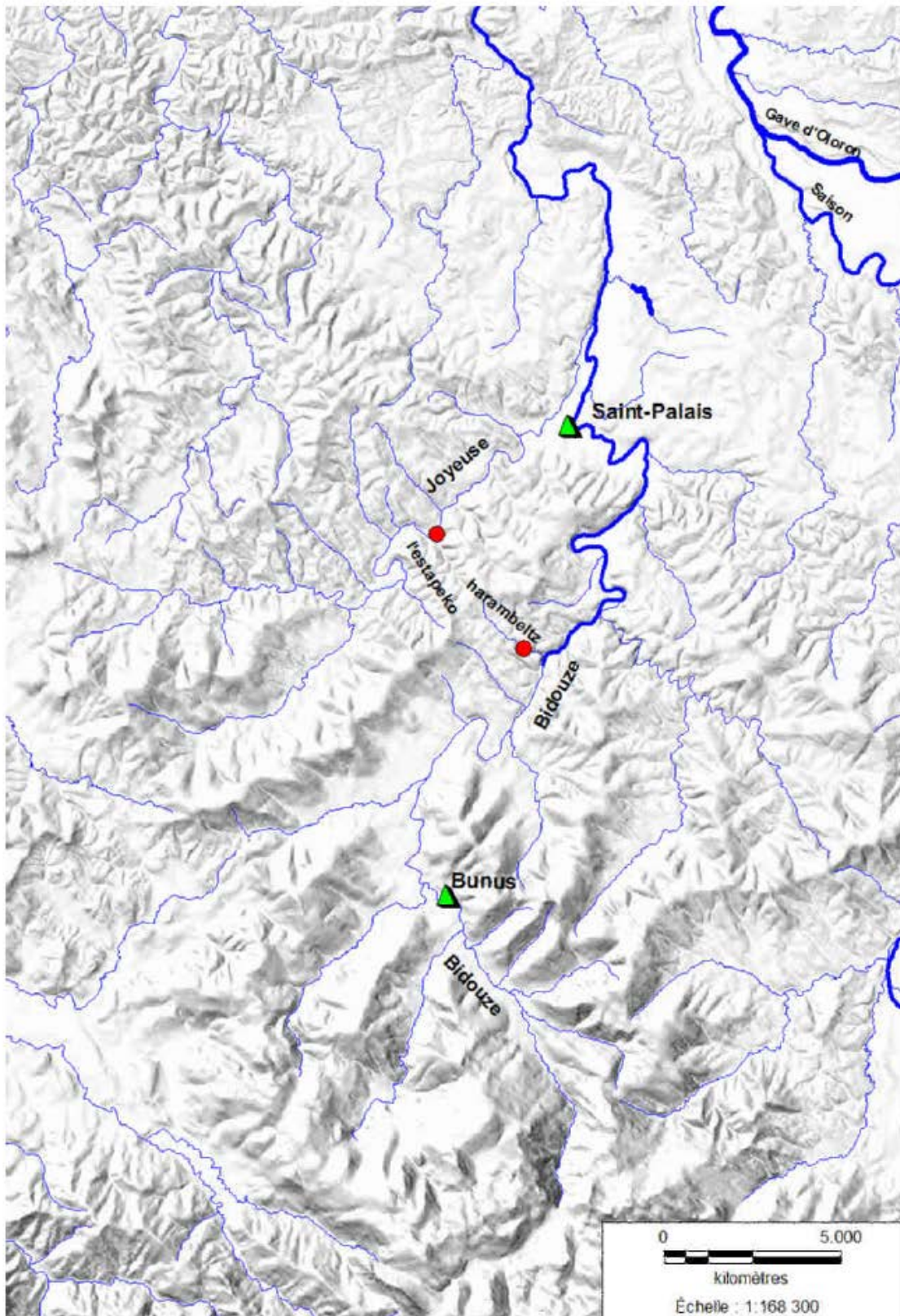
Bien sur ces analyses ne renseignent pas sur les densités en truites. Si ces densités sont satisfaisantes malgré la pêche sportive, la démonstration est faite de l'inutilité de tout alevinage dans l'ensemble des rivières analysées.

7. Références bibliographiques

- Berrebi P. 1997. Biodiversité génétique des truites fario des bassins de l'Adour, la Nivelle et l'Untxin - Marqueurs allozymiques - Rapport de janvier 1997: Université Montpellier II. ([ADOUR1](#))
- Berrebi, P., & Cherbonnel, C. (2009). *Cartographie génétique des populations sauvages de truites françaises - Programme Genesalm - tome 1 - version du 15 décembre 2009*: Université Montpellier 2, rapport de contrat du programme Genesalm, 22p. ([GSALM2](#))

Fait à Montpellier le 18 juillet 2013

Document Annexe



Carte des prélèvements génétiques (points rouges) et des derniers alevinages de 2004 (triangles verts)