





Qualité génétique des populations d'ombre commun (*Thymallus thymallus*) de l'Alagnon (bassin Loire-Allier)

Henri PERSAT *, Jacqueline GRIMM ** & Steven WEISS **

- * Laboratoire d'Ecologie des Hydrosystèmes Naturels et Anthropisés UMR CNRS 5023, Bâtiment Forel, Université Claude Bernard Lyon 1, 69622 Villeurbanne, France
 - ** Université Karl-Franzens, Institut de Zoologie, Universitätplatz 2, A-8010 Graz, Autriche



2018











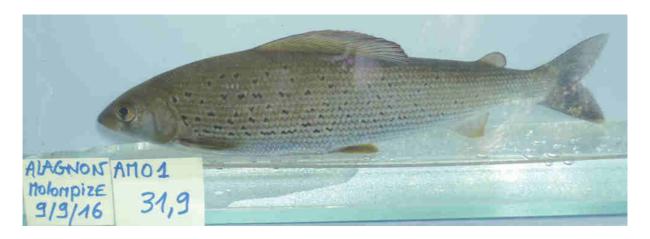


Figure 1 : Ombre à taches coalescentes en forme de tirets, robe peu fréquente en France, si ce n'est sur la Moselle, et ici l'Alagnon.

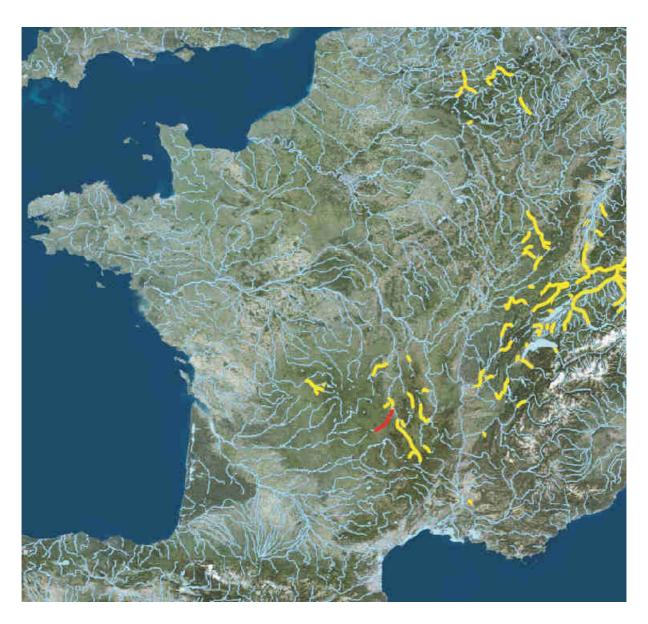


Figure 2 : Situation géographique de la population d'ombre commun de l'Alagnon en rouge au sein des autres populations naturelles subsistant en France en jaune.

Introduction

L'ombre commun, *Thymallus thymallus*, (fig. 1) est une espèce autochtone, patrimoniale, à fort intérêt halieutique, mais rare à l'échelle de la France (fig. 2). Une nette régression de ses populations a été constatée sur la quasi-totalité de son aire de distribution en Europe de l'Ouest, ce depuis une vingtaine d'années environ. Ainsi, l'espèce est inscrite à l'annexe III de la convention de Berne, mais est classée comme LC (peu menacée) par l'UICN (Union Internationale pour la Conservation de la Nature) à l'échelle de l'Europe. Cependant, à l'échelle de la France, elle est classée VU (vulnérable) et est mentionnée à l'annexe V de la directive habitat faune / flore de 1992, alors qu'en Suisse, elle est considérée comme menacée par l'ordonnance relative à la loi sur la pêche (OLFP RS. 923.01).

La conservation de cette espèce nécessite des plans de gestion adaptés, prenant en compte ses exigences écologiques très étroites, mais également ses caractéristiques génétiques, synonymes de « potentiel d'adaptabilité ». Or les nombreux repeuplements auxquels l'espèce a été soumise, ainsi que les obstacles aux libres déplacements des individus, peuvent avoir généré des perturbations de la structure génétique des populations, compromettant leur persistance à long terme.

Dans ce contexte, il apparait important de connaître la structure génétique de nos populations indigènes, mais aussi de celles implantées. Les études sur l'écologie de l'ombre ont mis en évidence une distribution très fragmentée, morcelée (Persat 1996), et qui, depuis, a encore beaucoup évoluée (Persat 2011). L'analyse des allozymes avait révélé un fort effet de la fragmentation de l'habitat et des repeuplements sur la structure et la diversité génétiques des populations du Rhône savoyard (Persat and Eppe 1997). Avec l'évolution des méthodes d'analyse moléculaire, nous disposons aujourd'hui d'outils plus performants nous permettant d'appréhender des disfonctionnements au sein des populations à des échelles de temps et d'espace relativement réduites (Grès et al. 2006).

Dans ce contexte, le présent travail vise à :

- Estimer la "valeur patrimoniale" des populations de l'Alagnon sur la base des taux d'introgression de gènes exotiques ;
- Evaluer les impacts de la fragmentation potentielle du continuum aquatique sur la structure génétique des populations ;
- Proposer, si nécessaire, des mesures de gestion adaptées aux caractéristiques génétiques des populations en place.

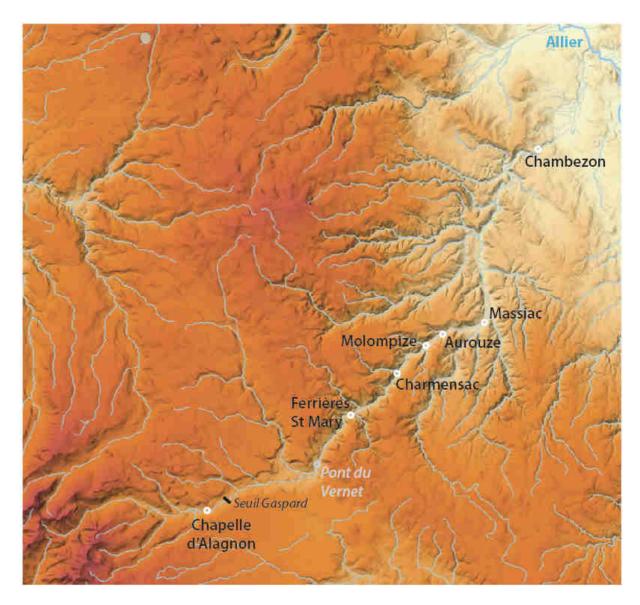


Figure 3 : Stations de prélèvements d'échantillons d'ombre commun le long de l'Alagnon en 2017, et en gris en 2000 (fond de carte IGN-Géoportail)

Contexte local:

Dans le bassin de l'Allier, les populations d'ombre commun occupent principalement le haut Allier et son affluent le Chapeauroux jusqu'aux portes de Brioude où on le retrouve sur le bas de la Sénouire. Quasiment absent dans la plaine de Brioude, on le retrouve sur tout le cours de l'Alagnon sauf dans la partie la plus apicale en amont de Murat (fig. 2). Il réapparaît plus en aval dans l'Allier dans les gorges à l'aval d'Issoire et dans les bas cours des Couzes Pavin et Chambon. Plus en aval, on ne retrouvait guère qu'une toute petite population dans le Sichon dans la traversée de Vichy, mais aux dernières nouvelles il ne s'en prendrait plus, et il faut aller sur les cours moyens de la Sioule et de la Dore, loin en amont de leurs confluences avec l'Allier pour en retrouver deux populations complètement isolées des autres.

Contrairement à beaucoup de cours d'eau du Massif Central, la vallée de l'Alagnon a été préservée de l'ennoiement sous de grands barrages de par sa fonction d'axe de circulation incontournable tant pour le trafic routier que pour la voie ferrée. C'est ainsi que c'est un linéaire de plus de 70 km qui est resté favorable à cette espèce, ce qui en fait un des plus grands linéaires d'un seul tenant subsistant en France. Toutefois, ce linéaire a été équipé de longue date par de nombreux seuils de basse chute pour faire fonctionner des moulins. Beaucoup furent abandonnés et les autres transformés en microcentrales hydroélectriques avant que l'on ne songe à améliorer leur franchissabilité à l'aide d'échelles à poissons fonctionnelles.

De nos jours, on peut considérer que la continuité fonctionnelle de l'Alagnon pour cette espèce a été rétablie sur la majeure partie de son cours.

Malgré ce contexte assez favorable à l'ombre commun, les autorités piscicoles locales ont été amenées à procéder à un certain nombre de rempoissonnements dans l'idée de soutenir le cheptel en place (tableau I). Ces pratiques ont toutefois été abandonnées depuis 2013.

Tableau I : Alevinages récents effectués dans l'Alagnon à partir d'ombrets d'un été de la pisciculture de Besse-en-Chandesse

| Année | Station | Quantité |
|-------|--------------------|----------|
| 2004 | Aval Ferrières | 3000 |
| 2005 | " | 4000 |
| 2006 | ш | 4000 |
| | | |
| 2008 | u | 2750 |
| | | |
| 2010 | Molompize | 2000 |
| 2011 | Ferrières St-Mary | 2000 |
| 2012 | Massiac Peyreneyre | 2000 |

De plus, aucun alevinage ne semble avoir été pratiqué sur le secteur amont de l'Alagnon (Murat-Chapelle d'Alagnon) depuis au moins plusieurs décennies.

Echantillonnage:

Pour établir le profil génétique de la population d'ombre de l'Alagnon, le protocole prévoyait l'analyse de 90 individus collectés en différents points de la rivière dans l'idée de repérer d'éventuelles discontinuités populationnelles amont aval susceptibles d'avoir été engendrées par l'ancienne présence d'infranchissables ou par des rempoissonnements localisés.

Les échantillons sont constitués de prélèvements de nageoires récupérés lors de d'une prospection par pêches électriques effectuées par la Fédération de Pêche du Cantal à Chapelle d'Alagnon et Molompize le 9 septembre 2016, celle de Haute-Loire à Chambezon le 19 septembre 2016, et par des pêcheurs amateurs durant l'été 2016, essentiellement Julien Lesbre sur le secteur de Ferrières-St-Mary et Hervé Brun sur les secteurs de Massiac-Aurouze-Charmensac (fig. 3). Les spécimens capturés étaient pour la plupart des sub-adultes ou des adultes (1+ à 3+).

A ces échantillons récents ont été adjoints à titre comparatif quelques échantillons anciens de juvéniles (0+) récupérés à l'occasion d'une pêche du CSP le 17 juillet 2003 au Pont du Vernet.

. De tous les secteurs, c'est celui de Chapelle d'Alagnon, le plus amont, qui a semblé héberger la plus forte densité en ombres, et de loin (mais c'était aussi le plus facile à pêcher à l'électricité, ce qui a facilité la capture de ce poisson très fuyant).

Analyses génétiques

Nos analyses génétiques des ombres sont effectuées depuis l'origine par l'équipe du Professeur Steven WEISS à l'Institut de Zoologie de l'Université de Graz, en Autriche, et plus spécialement par Jacqueline Grimm pour celles de l'Alagnon. Ce laboratoire possède une longue expérience en termes d'analyses génétiques sur le genre *Thymallus* (cf Grès et al. 2006), le Pr WEISS étant spécialiste en phylogéographie des poissons et plus spécialement en conservation des populations de salmonidés.

Les analyses génétiques portent sur deux matériels différents :

- d'une part, l'ADN mitochondrial pour identifier la ou les lignées évolutives présentes dans la population : le séquençage de la région de contrôle de l'ADN mitochondrial étant une opération assez onéreuse, il n'a été pratiqué que sur un sous-échantillon d'une quarantaine d'individus;
- d'autre part, les microsatellites de l'ADN nucléaire pour mettre en évidence des différenciations génétiques à des échelles de temps et d'espace beaucoup plus fines, pouvant résulter d'une fragmentation récente de l'habitat, ou des alevinages. L'analyse a porté sur 12 microsatellites relevés sur l'ensemble des individus.

Pour ce qui est des techniques employées, celles-ci sont explicitées en annexe et actualisées dans notre article sur les ombres de Haute-Vienne auquel les spécialistes pourront se reporter (Persat *et al.* 2016).

L'origine des poissons analysés spécialement pour cette étude et leurs effectifs sont précisés dans le tableau II.

Pour situer les populations de l'Alagnon par rapport aux populations avoisinantes, et au-delà, les résultats ont été intégrés à ceux obtenus auparavant sur d'autres populations du bassin de la Loire (Loire du Velay, Ance, Allier, Vienne), celle de la basse rivière d'Ain, celles des piscicultures de Besse-en-Chandesse (63), Obenheim (67) et Chazey-Bons (01), ainsi qu'une d'un affluent du Danube autrichien, ces dernières étant considérées comme sources possibles des poissons déversés autrefois en France et donc éventuellement dans l'Alagnon (Persat *et al.* 2013, 2016).

Tableau II : Origines des échantillons collectés dans l'Alagnon et nombres d'individus analysés avec succès pour les microsatellites et l'ADN mitochondrial.

| Origine | Date | Collecteur | N (μSats) | N (ADNmt) |
|--------------------|-------------------|---------------|-----------|-----------|
| Chapelle d'Alagnon | 9 Septembre 2016 | Fédération 15 | 41 | 36 |
| Ferrières St Mary | Juin-Juillet 2016 | Julien Lesbre | 26 | 23 |
| Charmensac | 11 Septembre 2016 | Hervé Brun | 1 | 1 |
| Molompize | 9 Septembre 2016 | Fédération 15 | 3 | 3 |
| Aurouze | 11 Septembre 2016 | Hervé Brun | 1 | 1 |
| Massiac | 11 Septembre 2016 | Hervé Brun | 6 | 7 |
| Chambezon | 19 Septembre 2016 | Fédération 43 | 6 | 5 |
| | _ | | | |
| Pont du Vernet | 17 Juillet 2003 | CSP BD15 | 4 | 1 |

Tableau III: Fréquences des différents haplotypes rencontrés dans les populations du bassin de la Loire, dans l'Ain, le Kohlenbach (Danube) et de quatre piscicultures (le codage des haplotypes, hérité d'études antérieures, n'a pas de relation absolue avec les bassins d'origine)

| | ı | | | | | | 7 | TADI | O.T. | VDE | C | | | | | | | | | |
|---------------------|--------------------|------|----------|----------|-------|-------|--------|------------------|------|-----|-------|--------|-------|-----|--------|--------|-------|------|------|----|
| | | | | | | | 1 | HAPI | 701 | YPE | S | | | | | | | | | |
| | Bassin de la Loire | | | | | | | Bassin du Danube | | | В | assin | du Rh | ône | Bas | | Total | | | |
| POPULATIONS | Vi | enne | ? | | Allie | er er | ? | | ire | | dobin | ga Dan | | | ussiii | aa rai | | du I | Rhin | |
| ECHANTILLONS | Ht24 | Ht25 | Ht26 | Ht29 | Ht30 | Ht23 | Ht21 | Ht20 | At1 | Da1 | Da4 | Da11 | Da30 | Rh1 | Rh4 | Ht4 | Ht14 | Ht3 | Ht27 | |
| Combade | 9 | 2 | 1 | i | | | i | l i | | | | | | | | | | | | 11 |
| Vienne upstream | 11 | | į | I I | | | ! ! | į | | | | | | | | | | | | 11 |
| Vienne downstream | 9 | | 4 | | | | ! | I I | | | | | | | | | | | | 13 |
| Maulde | 2 | L | <u> </u> | <u>.</u> | | | İ | l J | | L | | | | L | | | | | | 2 |
| Loire amont | [· | | | Γ | | | i | ! | 19 | | | | | Γ | | | | | | 19 |
| Lignon du Forez | | | į | I I | | | | į | 10 | | | | | | | | | | | 10 |
| Aix (introduite) | | | i | İ | | 8 | } | i I | | | 1* | | | | | | | | | 9 |
| Ance du Nord amont | | | l l | į | | | į | 10 | 1 | | 2* | | | | | | | | | 13 |
| Ance du Nord aval | | | 1 | i I | | | i | 7 | 1 | | | | | | | | | | | 1 |
| Ance du Nord | | | į | [| | | 1 | 6 | | | | | | l | | | | l | | 7 |
| Allier (Langogne) | | | ; | í | | 10 | ļ | - | | | | | | | | | | † · | | 10 |
| Allier (Vabres) | | | 3 | 4 | 3 | | į | l I | | | | | | | | | | | | 10 |
| Alagnon | | | | i | | 38 | 38 | | | | | | | | | | | | | 76 |
| Ain aval | | | i | | | | | i – – – | | | | | | 12 | 1 | 3 | 1 | 1 | | 17 |
| Kohlenbach (Danube) | | | i | i – – – | | | | I — — — | | 12 | 1 | 2 | | | | | | | | 15 |
| Piscicultures Besse | | | 1 | i | | 1 | • | | | | | 7 | | | | | | | | 11 |
| Obenheim | | | 1 | | | | 1 | | | | | | | | | | | 3 | 8 | 11 |
| Chauvey | | | i . | | | | | i | | 5 | 1 | | 1 | | | | | | | 7 |
| Chazey-Bons | | | l . | | | | İ | | | | | | | 1 | | 9 | | | | 10 |
| Total | 31 | 2 | 7 | 4 | 3 | 60 | 39 | 23 | 31 | 17 | 2 | 9 | 1 | 13 | 1 | 12 | 1 | 3 | 8 | |

? Haplotype commun à deux sous-bassins de la Loire * Séquences incomplètes mais de type danubien

ADN mitochondrial

Le séquençage d'un grand nombre d'individus (76) n'a pas permis de repérer plus de deux haplotypes (variantes d'ADN) différents (Tab. III). Tous les deux étaient déjà connus du bassin de la Loire : Ht21, observé chez un seul individu de l'Ance du Nord, et Ht23 observé chez 10 individus du haut Allier et 4 individus de la pisciculture de Besse-en-Chandesse. La co-occurrence de Ht23 dans l'Allier et l'Alagnon apparaît logique de part la proximité géographique des deux cours, de même que sa présence dans les poissons de la pisciculture de Besse-en-Chandesse dont le cheptel a été constitué en partie avec des géniteurs issus de ces deux populations. La présence de

l'autre haplotype Alagnon dans l'Ance du nord pourrait être une trace des alevinages effectués à l'époque depuis la souche de la pisciculture d'Augerolles, transférée plus tard à Besse-en-Chandesse (le fait qu'il n'ait pas été observé dans l'échantillon de Besse provient alors probablement du trop petit nombre d'individus analysés dans cette souche).

Si les deux haplotypes apparaissent au total en nombre identique dans nos échantillons de l'Alagnon, leur fréquence relative à l'intérieur de chaque station apparait singulièrement contrastée (Tableau IV).

| Tableau IV : F | réquence relatives | des deux | haplotypes d | le l'amont vers l | 'aval |
|-----------------|----------------------|----------|--------------|-------------------|-------|
| I abicaa iv . I | requerice retailives | acs acan | maprocypes a | c i amone vers i | avai |

| Secteurs | N | Ht21 | | Ht23 | |
|---------------------------|----|------|--------|------|--------|
| Amont (Chapelle) | 36 | 30 | 83,33% | 6 | 16,67% |
| Intermédiaire (Ferrières) | 23 | 5 | 21,74% | 18 | 78,26% |
| Secteurs aval regroupés | 17 | 3 | 17,65% | 14 | 82,35% |

Cette particularité de la station amont pourrait s'expliquer par la présence d'un seuil infranchissable 2-3 km en aval de Chapelle d'Alagnon, le seuil Gaspard (fig. 4) qui, en isolant la population la plus apicale du reste du cours d'eau, a pu entrainer une réduction de sa biodiversité mitochondriale au profit de l'haplotype le moins fréquent plus bas.



Figure 4 : Vue du seuil Gaspard qui existe à priori depuis 1650 environ selon la DDT15 (photo SIGAL). (voir aussi cartes des obstacles sur l'Alagnon en annexe)

L'haplotype Ht21 est très largement dominant à Chapelle d'Alagnon alors qu'il devient rare dès Ferrières-St-Mary. Cette rareté peut expliquer le fait qu'on ne l'ait pas (encore ?) retrouvé parmi les quelques individus de Besse-en-Chandesse que nous avons eu l'opportunité d'analyser, alors que l'autre haplotype Ht23 y est bien présent (mais sans que l'on puisse dire s'il provient de l'Allier ou de l'Alagnon).

A noter que le seul échantillon en provenance de Pont du Vernet séquencé autrefois présentait aussi l'haplotype Ht23.

Cette bascule génétique peut résulter d'un simple aléa statistique (effet goulot d'étrangement pour une population n'ayant peut-être reposé que sur un très petit nombre de femelles à une certaine époque de sa longue histoire depuis la construction de ce seuil aux alentours de 1650 semble-t-il. Il pourrait aussi être la traduction d'un processus de sélection en faveur de cet haplotype pour des raisons que seules des études très approfondies sauraient expliciter. En attendant l'éventualité très aléatoire d'une telle étude, on pourrait toujours examiner un échantillon pris directement à l'aval de ce seuil pour en préciser le rôle.

La figure 5 permet d'apprécier les distances génétiques entre ces différents haplotypes en les replaçant dans un contexte plus général prenant en compte des haplotypes connus dans les bassins du Rhin, du Rhône, du Danube austro-bavarois et de Scandinavie.

Les haplotypes s'organisent en cinq ensembles (clades) principaux : deux "centraux" correspondant aux bassins du Rhin et du Rhône, et trois distants correspondant au bassin amont du Danube, à la Finlande et au bassin de la Loire.

La grande distance génétique (longueur de branche sur la figure 5) séparant l'ensemble ligérien de toutes les autres populations européennes traduit le caractère très particulier des ombres de la Loire. Parmi toutes les populations européennes, celuici est le plus original après celui du Pô (non représenté dans ce jeu de données, et aujourd'hui en voie d'extinction par suite de l'introduction massive d'ombres de Slovénie). Cela indique que l'ombre est présent et a évolué dans le bassin de la Loire depuis fort longtemps.

Par ailleurs, le groupe ligérien semblait pouvoir bien se structurer en trois sousensembles correspondants aux trois principaux sous-bassins (Loire, Allier et Vienne) avant que l'étude de la population de l'Alagnon ne remette en cause cette image avec la présence de l'haplotype Ht21 précédemment considéré comme représentatif de la branche Loire. Désormais, il est plus que probable que sa présence, rare, dans l'Ance du Nord ne soit que l'effet des nombreux alevinages effectués dans cette dernière avec la souche ancestrale de Besse, celle de la pisciculture domaniale d'Augerolles.

Désormais, il convient d'apprécier la diversité haplotypique des ombres du bassin de la Loire plutôt de la façon illustrée par la figure 6.

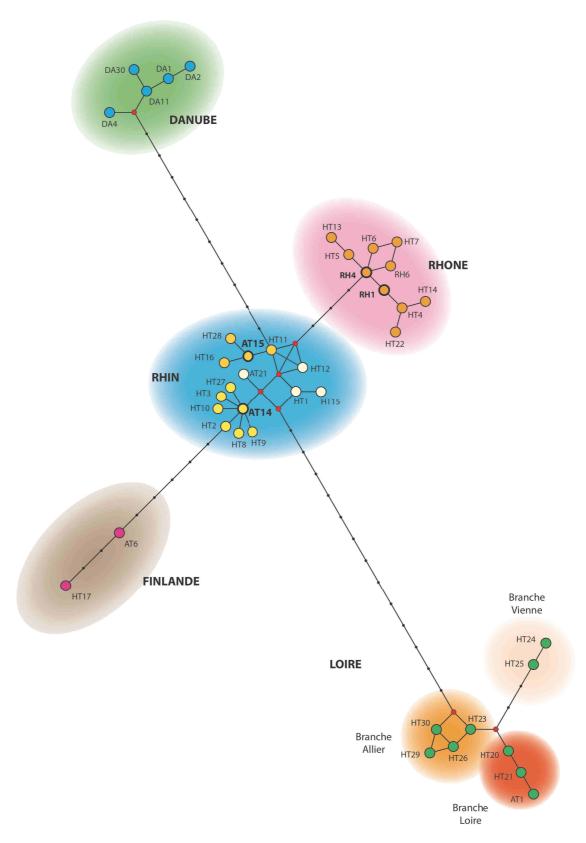


Figure 5 : ADN mitochondrial — Distances relatives entre haplotypes ligériens et vis-à-vis des grands types européens les plus proches (les regroupements faits au sein de la branche ligérienne sont ceux qui avaient été proposés à l'occasion de l'étude des ombres de la Vienne). Chaque segment correspond à une mutation (un changement de paire de bases dans la séquence d'ADN) (le codage des haplotypes est hérité des études antérieures et est largement arbitraire).

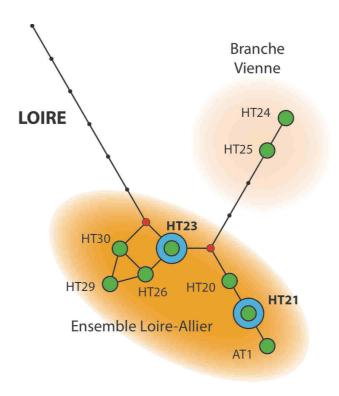


Figure 6 : Réinterprétation possible de la structure génétique des haplotypes d'ombres du bassin de la Loire dans l'hypothèse où les haplotypes Ht21 et Ht23 seraient bien natifs dans l'Alagnon.

Il convient toutefois de garder à l'esprit que cet "arrangement" des haplotypes ligérien reste le produit d'un modèle statistique dont les résultats pourraient être modifiés en cas de découverte d'haplotypes ligériens supplémentaires.

Quoi qu'il en soit, la structuration largement géographique des haplotypes au sein du bassin de la Loire milite en faveur d'une absence d'échanges populationnels récents entre les trois grandes branches du bassin, hormis ceux engendrés par intervention humaine, et il faut remonter à la fin de la dernière glaciation, 10 000 ans en arrière, pour trouver des conditions climatiques suffisamment froides pour permettre aux différentes populations de faire leur jonction au niveau des becs d'Allier et de Vienne, conditions nécessaires mais pas forcément suffisantes pour des échanges génétiques.

La faible diversité haplotypique (à l'échelle de la séquence génétique explorée) au sein de la population de l'Alagnon ne fait que refléter une situation classique pour toutes les populations françaises d'ombre commun. La plus diversifiée connue à ce jour de nous-mêmes est la grande population de la basse rivière d'Ain dans laquelle nous n'avons cependant répertorié que 4 haplotypes indigènes.

Si l'haplotype Ht21 est bien, comme l'haplotype Ht23, natif de l'Alagnon, ce qui est très vraisemblablement le cas, alors cette population serait génétiquement pure sur la composante mitochondriale de son génome.

| | | | | | | | Micro | satellites | | | | | |
|----------------------|------|----------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|-----------------|
| Populations | N | | Tar101 | Tar106 | Thy1 | Thy62 | Tth305 | Tth447 | Tar104 | Thy54 | Tth414 | Tth446 | Total |
| Upper Vienne | 37 | A_N R | 7 260-336 | 8 191-307 | 1 109-109 | 5 202-256 | 6 274-316 | 4 169-179 | 9 173-241 | 3 191-199 | 7 356-502 | 5 227-251 | 55 |
| (Combade) | | H_O | 0,737 | 0,583 | 109-109 | 0,568 | 0,546 | 0,541 | 0,733 | 0,629 | 0,565 | 0,640 | 0,554 |
| (comount) | | H_E | 0,748 | 0,682 | 0 | 0,562 | 0,632 | 0,613 | 0,668 | 0,613 | 0,686 | 0,745 | 0,595 |
| | | F_{IS} | 0,042 | 0,159 | NA | 0,003 | 0,160 | 0,132 | -0,080 | -0,011 | 0,198 | 0,156 | 0,087 |
| Upper | 34 | A_N | 3 | 6 | 1 | 4 | 6 | 3 | 6 | 3 | 10 | 5 | 47 |
| Vienne | | R | 260-284 | 191-307 | 109-109 | 204-256 | 274-316 | 169-179 | 185-241 | 191-199 | 356-514 | 227-251 | 0.500 |
| (Vienne upstream) | | H_O | 0,450 0,405 | 0,677 0,751 | 0 | 0,677 0,653 | 0,552 0,617 | 0,618 0,629 | 0,765 0,731 | 0,647 0,635 | 0,680 0,770 | 0,765 0,695 | 0,583 0,589 |
| upstream) | | H_E F_{IS} | -0,086 | 0,731 | NA | -0,022 | 0,123 | 0,029 | -0,032 | -0,003 | 0,770 | -0,086 | 0,026 |
| Upper | 15 | AN | 5 | 6 | 1 | 4 | 4 | 3 | 6 | 3 | 7 | 5 | 44 |
| Vienne | | R | 260-336 | 191-307 | 109-109 | 204-256 | 274-316 | 169-179 | 173-241 | 191-199 | 356-502 | 227-251 | |
| (Vienne | | $H_{\mathcal{O}}$ | 0,615 | 0,867 | U | 0,800 | 0,692 | 0,800 | 0,583 | 0,357 | 0,667 | 0,667 | 0,605 |
| downstream) | | H_E | 0,701 | 0,738 | 0 | 0,651 | 0,660 | 0,640 | 0,618 | 0,554 | 0,821 | 0,738 | 0,612 |
| Upper | 2 | F_{IS} A_N | 0,162 | -0,141 2 | NA 1 | -0,196 | -0,009 1 | -0,217 1 | 0,099 | 0,387 | 0,244 | 0,130 | 0,053 15 |
| Vienne | 2 | R | 276-276 | 191-231 | 109-109 | 256-256 | 304-304 | 175-175 | 185-225 | 191-199 | 502-502 | 239-251 | 13 |
| (Maulde) | | $H_{\mathcal{O}}$ | NA | 0,500 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,500 | 1,000 | 0 | 0,500 | 0,250 |
| | | H_E | NA | 0,375 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,375 | 0,625 | 0 | 0,375 | 0,175 |
| | | F_{IS} | NA | -0,333 | NA | NA | -0,111 |
| Allier | 41 | A_N | 7 | 7 | 3 | 5 | 5 | 4 | 6 | 4 | 11 | 4 | 56 |
| | | R H_O | 252-296 0,600 | 191-299 0,825 | 109-129 0,683 | 230-260 0,725 | 284-316 0,775 | 169-181 0,590 | 169-241 0,564 | 189-199 0,100 | 356-502 0,821 | 227-243 0.5750 | 0,626 |
| | | H_E | 0,618 | 0,823 | 0,558 | 0,723 | 0,773 | 0,530 | 0,599 | 0,100 | 0,821 | 0.5753 | 0,626 |
| | | F_{IS} | 0,042 | -0,027 | -0,213 | -0,009 | -0,037 | -0,101 | 0,071 | 0,177 | 0,010 | 0,013 | -0,020 |
| Upper Loire | 28 | A_N | 4 | 8 | 3 | 4 | 5 | 4 | 4 | 3 | 3 | 4 | 42 |
| | | R | 256-348 | 191-291 | 109-125 | 204-264 | 274-316 | 169-185 | 185-225 | 191-197 | 356-478 | 235-251 | |
| | | H_{O} | 0,640 | 0,643 | 0,357 | 0,741 | 0,750 | 0,893 | 0,571 | 0,821 | 0,179 | 0,607 | 0,620 |
| | | H_E F_{IS} | 0,674 0,071 | 0,675 0,065 | 0,376 0,067 | 0,739 0,016 | 0,747 0,018 | 0,670 -0,316 | 0,552 -0,018 | 0,603 -0,347 | 0,165 -0,063 | 0,565 -0,056 | 0,577 -0,057 |
| Upper Loire | 15 | AN | 5 | 4 | 3 | 4 | 3 | 3 | 3 | 2 | 3 | 4 | 34 |
| (Arlempdes) | | R | 256-348 | 191-291 | 109-125 | 204-264 | 292-304 | 169-175 | 185-225 | 191-195 | 350-370 | 235-251 | |
| | | $H_{\mathcal{O}}$ | 0,571 | 0,800 | 0,400 | 0,800 | 0,800 | 0,533 | 1,000 | 0,533 | 0,933 | 0,933 | 0,731 |
| | | H_E | 0,584 | 0,571 | 0,418 | 0,633 | 0,651 | 0,424 | 0,615 | 0,391 | 0,551 | 0,642 | 0,548 |
| 4 | 21 | F_{IS} | 0,059 | -0,371 | 0,077 | -0,231 | -0,196 | -0,224 | -0,600 | -0,333 | -0,675 | -0,425 | -0,301 |
| Ance du Nord | 31 | A_N R | 6 251-340 | 4 191-279 | 4 109-127 | 4 204-264 | 6 296-316 | 3 173-185 | 7 149-225 | 7 183-231 | 3 356-434 | 219-251 | 47 |
| du Hord | | H_{ϕ} | 0,700 | 0,400 | 0,710 | 0,226 | 0,900 | 0,400 | 0,655 | 0,276 | 0,808 | 0,138 | 0,521 |
| | | H_E | 0,692 | 0,611 | 0,661 | 0,208 | 0,798 | 0,463 | 0,748 | 0,331 | 0,514 | 0,216 | 0,524 |
| | | F_{IS} | 0,005 | 0,360 | -0,057 | -0,071 | -0,111 | 0,152 | 0,141 | 0,184 | -0,558 | 0,376 | 0,023 |
| Aix | 16 | A_N | 2 | 5 | 3 | 2 | 1 | 5 | 4 | 4 | 8 | 3 | 37 |
| | | R H_O | 260-332 0,200 | 175-287 0,875 | 109-129 0,250 | 224-230 0,875 | 300-300 | 169-181 0,813 | 169-213 0,867 | 191-199 0,867 | 356-554 0,867 | 0,200 | 0,581 |
| | | H_E | 0,200 | 0,873 | 0,230 | 0,873 | 0 | 0,682 | 0,633 | 0,713 | 0,731 | 0,200 | 0,381 |
| | | F_{IS} | -0,077 | -0,111 | 0,250 | -0,765 | NA | -0,161 | -0,338 | -0,182 | -0,152 | 0.344 | -0,177 |
| Alagnon | 4 | A_N | 4 | 5 | 4 | 6 | 3 | 5 | 6 | 3 | 4 | 5 | 45 |
| 2003 | | R | 204-332 | 203-283 | 109-120 | 202-234 | 300-366 | 164-175 | 177-233 | 191-197 | 352-454 | 227-279 | |
| | | H_{O} | 1,000 | 1,000 | 0,500 | 1,000 | 0,500 | 0,750 | 1,000 | 0,500 | 0,750 | 0,750 | 0,775 |
| | | H_E F_{IS} | 0,688 | 0,750 -0,200 | 0,563 | 0,781 -0,143 | 0,594 | 0,781 | 0,813 | 0,531 | 0,656 | 0,750 0,143 | 0,691 0,021 |
| Alagnon | 84 | AN | -0,555 | 7 | 2 | 2 | 3 | 3 | 9 | 5 | 16 | 5 | 57 |
| 2016 | ., . | R | 256-332 | 183-287 | 109-129 | 224-230 | 284-304 | 173-181 | 169-229 | 191-201 | 356-558 | 227-251 | 1 |
| | | H_U | 0,631 | 0,821 | 0,167 | 0,403 | 0,193 | 0,667 | 0,663 | 0,583 | 0,855 | 0,538 | 0,554 |
| | | H_E | 0,706 | 0,815 | 0,153 | 0,403 | 0,232 | 0,627 | 0,663 | 0,643 | 0,874 | 0,560 | 0,565 |
| 7.0 | | F_{IS} | 0.113* | -0,002 | -0,085 | 0,006 | 0,173 | -0,057 | 0,007 | 0,098 | 0,028 | -0,035 | 0,026 |
| Ain | 42 | A_N D | 208 324 | 10 239-283 | 10 113-157 | 188 208 | 14 282-350 | 7 160-190 | 19 | 110 211 | 18 366-558 | 215 250 | 117 |
| | | R H_O | 208-324 0,850 | 0,714 | 0,781 | 188-208 0,325 | 0,825 | 0,275 | 157-285 0,805 | 189-211 0,905 | 0,691 | 215-259 0,738 | 0,691 |
| | | H_E | 0,882 | 0,765 | 0,795 | 0,326 | 0,777 | 0,273 | 0,891 | 0,845 | 0,757 | 0,801 | 0,709 |
| | | F_{IS} | 0,049 | 0,079 | 0,031 | 0,016 | -0,049 | -0,083 | 0,109 | -0,058 | 0,100 | 0,091 | 0,038 |
| Resse | 29 | A_N | 7 | 12 | 7 | 9 | 7 | 8 | 11 | 13 | 8 | 6 | 88 |
| | | R | 204-324 | 175-283 | | 202-234 | | 156-176 | 149-231 | 177-231 | 348-494 | 219-279 | 0.740 |
| | | H_E | 0,593 0,723 | 1,000 0,860 | 0,828 0,823 | 0,857 0,760 | 0,591 0,772 | 0,655 0,725 | 0,828 0,894 | 1,000 0,885 | 0,750 0,824 | 0,333 0,646 | 0,743 0,791 |
| | | F_{IS} | 0,723 | -0,145 | 0,012 | -0,110 | 0,772 | 0,723 | 0,091 | -0,112 | 0,024 | 0,040 | 0,791 |
| Obenheim | 40 | A_N | 3 | 10 | 4 | 5 | 8 | 7 | 12 | 10 | 12 | 9 | 80 |
| | | R | 208-320 | 215-291 | 113-145 | 202-214 | 366-414 | 152-196 | 149-285 | 181-235 | 352-526 | 207-275 | |
| | | H_0 | 0,275 | 0.950 | 0.275 | 0.575 | 0.889 | 0.825 | 0.923 | 0.790 | 0.526 | 0.872 | 0.690 |
| | | H_E | 0.247 | 0.849 | 0.248 | 0.660 | 0.804 | 0.759 | 0.802 | 0.708 | 0.813 | 0.843 | 0.673 |
| Chauvey | 33 | F_{IS} A_N | -0,103 12 | -0,106 6 | -0,097 5 | 0,141 | -0,091 0 | -0,074 3 | -0,139 7 | -0,102 11 | 0,364 | -0,022 0 | -0,012 54 |
| | 55 | R | 264-352 | | 110-134 | 214-248 | NA | 152-178 | 149-239 | | 348-356 | NA | |
| | | H_0 | 0,833 | 0,781 | 0.697 | 0.656 | NA | 0.424 | 0.394 | 0.844 | 0.548 | NA | 0.647 |
| | | $H_{\scriptscriptstyle E}$ | 0.840 | 0,709 | 0.702 | 0.585 | NΛ | 0.574 | 0.346 | 0.828 | 0.505 | NΛ | 0.636 |
| | | F_{IS} | 0,025 | -0,086 | 0,022 | -0,105 | NA | 0,276 | -0,124 | -0,004 | -0,069 | NA | -0,002 |
| Chazey-Bons | 43 | A_N | 106 216 | 13 | 110 157 | 199 220 | 0 NA | 156 199 | 140 273 | 177 221 | 13 | 227 270 | 92 |
| | | R H_O | 196-316 0,564 | 195-291 0,875 | 110-157 0,585 | 188-230 0,595 | NA NA | 156-188 0,605 | 149-273 0,884 | 177-231 0,814 | 348-538 0,707 | 227-279 0,368 | 0,666 |
| | | H_E | 0,304 | 0,864 | 0,806 | 0,620 | NA | 0,644 | 0,868 | 0,770 | 0,707 | 0,741 | 0,774 |
| | | F_{IS} | 0,326 | 0,000 | 0,285 | 0,051 | NA | 0,073 | -0,007 | -0,046 | 0,159 | 0,512 | 0,151 |
| Kohlenbach | 25 | A_N | 14 | 8 | 5 | 6 | 0 | 4 | 8 | 8 | 4 | 0 | 57 |
| (Danube) | | R | 208-352 | 175-215 | 110-140 | 202-224 | NA | 152-170 | 149-255 | 175-229 | 348-386 | NA | Mil Green v |
| | | II_{O} | 0,960 | 0,840 | 0,708 | 0,625 | NA | 0,667 | 0,739 | 0,826 | 0,636 | NA | 0,750 |
| | | H_E | 0,894 -0,054 | 0,825 | 0,626 -0,111 | 0,705 0,134 | NA NA | 0,565 -0,159 | 0,682 -0,063 | 0,771 -0,049 | 0,656 | NA NA | 0,715 -0,027 |
| | | F_{IS} | | | | | | | | | | | |

Microsatellites

Les résultats des analyses microsatellites sont compilés par bassins, sous-bassins ou piscicultures dans le tableau IV.

<< — Tableau IV : Résumé des résultats statistiques sur 12 microsatellites dans chaque population. Nombre d'individus (N), number d'allèles (AN), richesse allèlique (AR), amplitude allèlique (R), hétérozygosité observée (H_0) et théorique (H_E), et valeurs de F_{IS} values pour chaque population. Un astérisque * signale une déviation significative par rapport à l'équilibre d'Hardy-Weinberg calculé sur 10 000 permutations. En grisé ou NA (non applicable) : données manquantes ou insuffisantes.

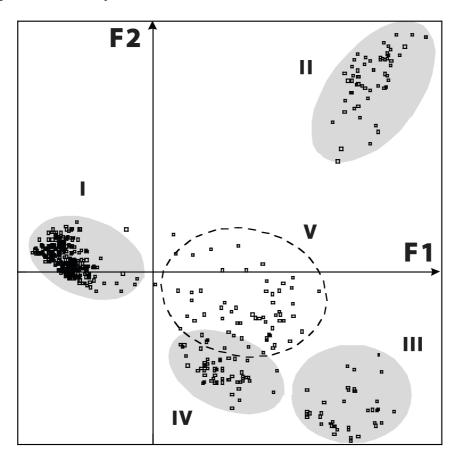
Compte tenu du grand nombre de poissons traités (84), la richesse allélique de la population de l'Alagnon apparaît comparable à celle que l'on peut observer sur des populations équivalentes du bassin de la Loire. A l'inverse, les 4 individus échantillonnés en 2003 au pont du Vernet présentent une exceptionnelle diversité puisqu'on y décompte pas moins de 48 allèles avec surtout un nombre d'allèles très supérieurs à ce que l'on observe en 2016 sur les microsatellites Thy1, Thy62, Tth305, et Tth447 : ce résultat n'a rien de naturel. Il convient de noter que l'échantillon de Besse présente également une diversité très élevée (88 allèles pour seulement 29 poissons analysés). Comme pour l'ADN mitochondrial la population la plus diversifiée est celle de l'Ain (117 allèles pour 42 poissons analysés).

D'une façon générale, l'équilibre de Hardy-Weinberg, indice d'une bonne homogénéité génétique des populations, est respecté dans la plupart des cas

La population la plus diversifiée est celle de l'Ain avec 117 allèles répertoriés, mais celle de l'Alagnon se situe dans la moyenne des meilleures populations étudiées sur le bassin de la Loire (Allier, Combade), ce qui doit toutefois être relativisé du fait du plus grand nombre d'individus analysés sur l'Alagnon qui augmente les chances de trouver plus d'allèles. Les populations de piscicultures présentent une diversité allélique plus élevée en raison de leurs origines mixtes (Besse, Chazey-Bons) ou de leur extraction d'une très grosse population naturelle comme celle d'Obenheim, formée à partir de géniteurs du Rhin germano-suisse en aval des chutes de Schaffhouse. Par contre, celle de Chauvey semble provenir d'une population nettement plus modeste.

L'analyse factorielle des correspondances permet de visualiser la structuration de la variabilité génétique générale : la dispersion du nuage de points (individus) donne une indication de leur diversité (au même titre que la richesse allélique) (figure 7). Ici, le premier plan factoriel F1xF2 fait apparaître une répartition des individus en quatre amas principaux que nous avons visualisés en grisé, plus un ensemble plus diffus en pointillés. La décomposition de ce même plan factoriel permet de rapporter la position des individus à leur origine géographique ce qui permet d'expliciter la structure observée. Ainsi le premier axe (horizontal) de l'analyse (le plus discriminant) oppose un premier groupe concentrant tous les individus issus du bassin de la Loire (groupe I à gauche sur le plan factoriel) à tous les autres dispersés à droite. Les plus excentrés correspondent respectivement aux populations d'origine danubienne (groupe II) et rhénane (III) qui se retrouvent complètement séparées par le second axe de l'analyse (vertical). Le quatrième groupe correspond à la population rhodanienne de l'Ain, tandis que l'amas plus hétérogène en position intermédiaire (V) englobe les individus issus des piscicultures de Besse-en-Chandesse et Chazey-Bons. Dans ce contexte général, les

quelques individus anciens de l'Alagnon que nous avons pu analyser se retrouvent positionnés au centre du plan factoriel, en position intermédiaire entre le groupe Loire et le groupe Besse-Chazey.



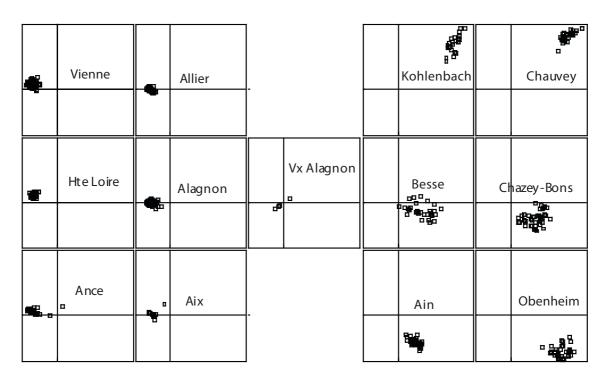
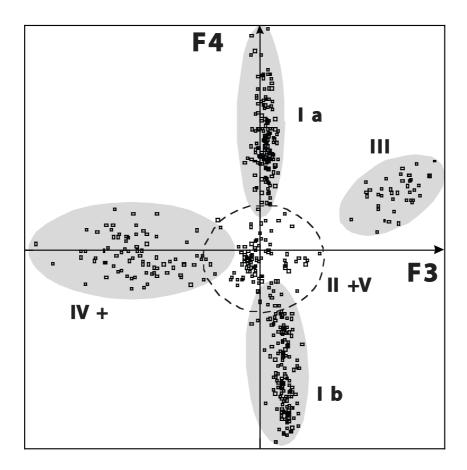


Figure 7 : Analyse factorielle des correspondances des profils génétiques microsatellites de 313 ombres de différentes origines. Plan factoriel F1xF2 global, puis décomposé en 7 sous-

ensembles populationnels selon les orgines géographiques. Chaque point correspond à un individu.



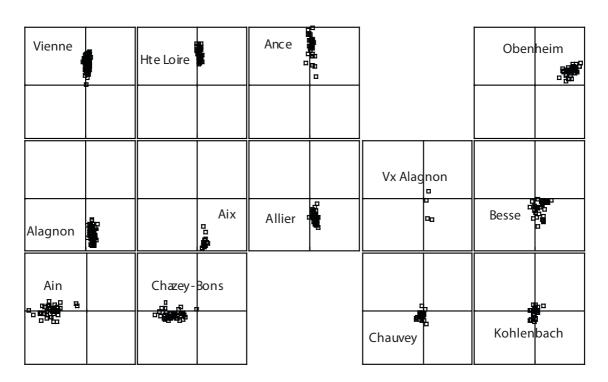
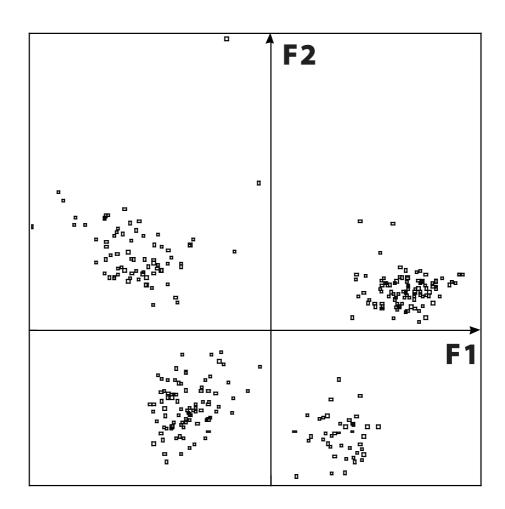


Figure 8 : Analyse factorielle des correspondances des profils génétiques microsatellites de 313 ombres de différentes origines. Plan factoriel F3xF4 global, puis décomposé en 7 sous-ensembles populationnels selon les origines géographiques.



| | Haute Loire | | Ance | | | |
|---------|-------------|------------------|------|-----|--------|--|
| Viennne | | | | | Allier | |
| Alagnon | | Vieux Alagnon | | Aix | | |
| | | - | | | | |
| | | | | | | |

Figure 9 : Analyse factorielle des correspondances des profils génétiques microsatellites de des ombres du bassin de la Loire. Plan factoriel F1xF2 global, puis décomposé par cours d'eau.

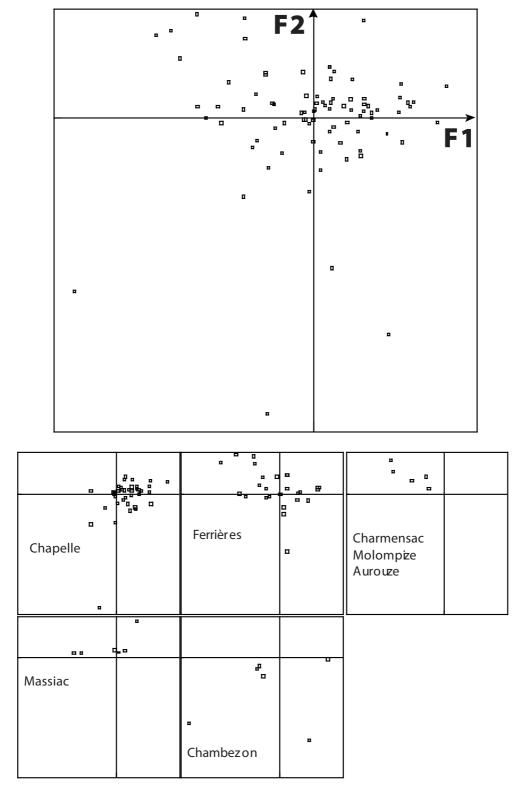


Figure 10 : Analyse factorielle des correspondances des profils génétiques microsatellites de des ombres de l'Alagnon. Plan factoriel F1xF2 global, puis décomposé par stations.

L'examen des axes suivants F3 x F4 (figure 8) nous fournit à nouveau une image en 4 groupes disposés en croix autour d'un cinquième groupe central. L'axe 3 oppose les populations rhodaniennes sauvage (Ain) et de pisciculture (Chazey-Bons) à celle du Rhin (Obenheim) tandis que l'axe 4 scinde l'ancien groupe I (Loire), en deux sous

groupes bien distincts, **Ia** (la branche Allier, plus la population introduite dans l'Aix) et **Ib** (branches Loire et Vienne). L'échantillon de Besse se retrouve ici avoir plus d'affinité avec la population de l'Allier qu'avec celle de l'Alagnon. Le petit échantillon ancien de l'Alagnon se site quant à lui entre les groupes **Ia** et **Ib** ce qui indiquerait qu'il pourrait être issu d'un mélange des deux.

Afin de préciser les choses, nous avons procédé à une seconde analyse des correspondances ne portant cette fois que sur les populations du bassin de la Loire (figure 9). Il en ressort 4 groupes, occupant chacun un des quadrants du plan factoriel : en bas à gauche la branche Vienne, en haut à gauche la branche Loire (Loire, Ance), en bas à droite l'Allier, et en haut à droite l'Alagnon plus l'Aix. L'échantillon de l'Ance apparaît toutefois un peu moins homogène alors que, parmi les anciens individus de l'Alagnon deux s'écartent nettement de ces groupes. Il faut voir dans ces deux cas l'influence d'alevinages en provenance d'Augerolles-Besse, avec notamment l'introduction d'une composante danubienne.

Quoi qu'il en soit, en faisant abstraction des poissons introduits (Aix, et au moins pour partie, anciens Alagnon et Ance), le cadre hydrographique Loire-Allier-Alagnon-Vienne est parfaitement respecté.

Nous avons procédé à une dernière analyse ne traitant que des poissons collectés récemment dans l'Alagnon (figure 10) : l'image globale qui en résulte est très homogène avec seulement quelques rares individus qui s'écartent de l'ensemble (graphe général). Cependant, si on la décompose par stations, de l'amont vers l'aval, on constate que la population de Chapelle d'Alagnon est la plus homogène au centre du plan factoriel, alors que la dispersion (diversité génétique) tend à s'accentuer vers l'aval, la dernière station, Chambezon étant de loin la plus hétérogène. Cela pourrait traduire l'existence d'échanges génétiques avec l'Allier.

Afin de tester la pertinence de la partition en populations telle qu'elle transparaît dans l'analyse précédente, nous avons traité ce même jeu de données avec le logiciel "Structure". Dans son principe, l'analyse teste la pertinence statistique d'un découpage en deux, trois, quatre, N groupes génétiques, tout en évaluant le degré d'apparentement de chaque individu à chacun des groupes. On retient alors la partition présentant la meilleure pertinence statistique (son Delta K).

En sortie graphique, chaque individu est représenté sous la forme d'une barre verticale d'une ou plusieurs couleurs selon le pourcentage de ses traits génétiques qui peuvent être rapportés à un ou plusieurs groupes. Ainsi, si 100 % de ses traits se rapportent à un seul groupe, l'individu apparaîtra monochrome de la couleur de ce groupe. Si 66 % de ses traits se rapportent à un groupe et 33 % à un autre groupe, deux tiers de la longueur de sa barre sera de la couleur du premier et le dernier tiers de celle du second, etc.

Comme précédemment nous avons procédé d'abord à une analyse globale sur l'ensemble de notre jeu de données, puis une analyse réduite aux seules populations ligériennes.

L'analyse globale retient la partition en 8 groupes comme de loin la plus judicieuse (Δ Ks A maximum) (fig. 11A).

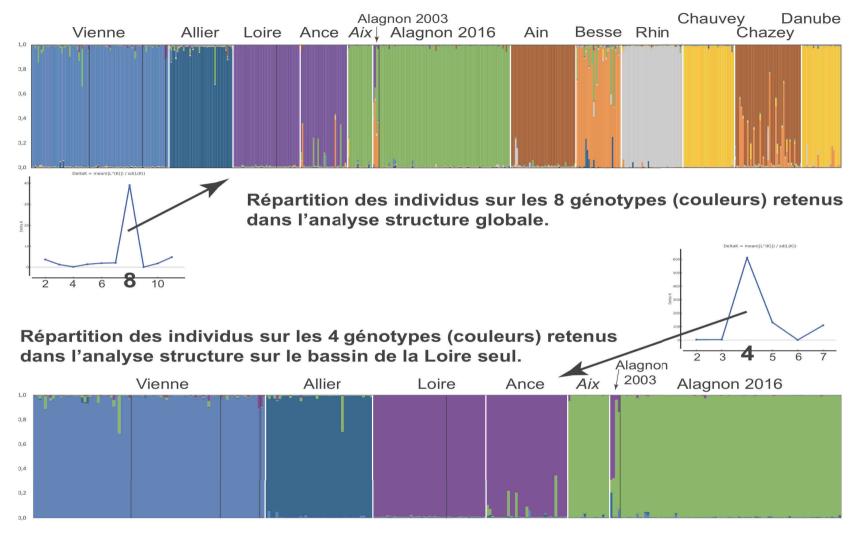


Figure 11: Répartition des individus selon les groupes (couleurs) déterminés statistiquement avec le logiciel "Structure": chaque individu est représenté par une barre verticale dont la couleur, homogène ou hétérogène, dépend de son degré d'affinités avec les entités retenues dans l'analyse, à savoir (A) 8 dans le cas de l'analyse globale (courbe de gauche), et (B) - 4 dans le cas de l'analyse limitée aux seules populations du bassin de la Loire (courbe de droite).

On observe ainsi successivement de gauche à droite, un premier ensemble homogène d'individus originaires du bassin de la Vienne, puis un second ensemble homogène représenté par les individus de l'Allier. Le troisième ensemble réunit les individus de la Loire, très homogènes, et ceux de l'Ance avec quelques hétérogénéités oranges et vertes. Ces dernières apparaissent se rapporter au groupe suivant Aix-Alagnon, très homogène à l'exception des anciens échantillons de l'Alagnon chez qui on retrouve la petite composante orange observée dans l'Ance mais aussi la couleur violette caractéristique du groupe Loire-Ance. Le cinquième groupe (en marron) également homogène réunit les poissons de l'Ain.

Le sixième groupe se caractérise par la couleur orange entraperçue dans l'Ance et les anciens Alagnon et correspond aux individus de notre échantillon de Besse-en-Chandesse qui présentent une certaine hétérogénité, avec des composantes vertes et bleues sombres associées à l'Alagnon et l'Allier. Le septième groupe en gris caractérisent la souche rhénane très homogène de la pisciculture d'Obenheim, et le huitième en jaune celle de la pisciculture Chauvey que l'on assimile directement à la souche danubienne du Kohlenbach également en jaune. Enfin, on retrouve la couleur marron de la population rhodanienne de l'Ain dans la pisciculture de Chazey–Bons, avec toutefois une sensible composante orange de type Besse qui reflète bien son origine mixte, puisque formée à l'origine avec des individus de la pisciculture d'Augerolles à l'origine de la souche de Besse.

L'analyse "Stucture" sur les seules populations ligériennes (fig. 11B) ne change rien à la première image et aboutit comme pour l'analyse des correspondances à une partition en 4 blocs homogènes, Vienne, Allier, Loire-Ance, et Alagnon, avec juste un peu d'hétérogénéité dans l'Ance et surtout les anciens Alagnon qui, faute de la présence de Besse dans le jeu de données, se retrouvent mathématiquement reclassés avec un des groupes génotypiques, en l'occurrence ici celui de Loire-Ance.

L'efficacité avec laquelle l'analyse des microsatellites sépare les individus des différents ensembles populationnels indique que chacun a une identité propre ainsi que le confirme les valeurs des distances génétiques Fst toutes significatives, même entre les populations les plus proches génétiquement, comme celles au sein du bassin de la Vienne, de Besse et du Danube (Tableau VI).

La population de l'Aix apparaît remarquablement proche de celle de l'Alagnon (Fst de 0,059) tout en restant relativement proche de celle de Besse (Fst de 0,211) : issue d'alevinages en provenance de la pisciculture d'Augerolles, on peut supposer que le stock de poissons de l'époque était surtout à base de géniteurs de l'Alagnon, ce qui laisse entendre que depuis qu'il a été transféré à Besse, il a singulièrement évolué, apparemment en intégrant des individus de l'Allier, puisque la distance Besse-Alagnon est remontée à 0,210 tandis que la distance Besse-Allier est descendue à 0,221, alors que la distance Aix (Augerolles)-Allier était de 0,298.

Ce sont des populations de la branche Loire que l'Alagnon se distingue le plus (Fst > 0,3) alors qu'il paraît plus proche de la branche Vienne. Cela peut être simplement dû à l'absence de variabilité sur le microsatellite Thy1 dans le bassin de la Vienne, avec une fixation sur l'allèle 109 que l'on retrouve dans l'Alagnon (valeurs de R dans le Tableau XX). De même, l'affinité toute relative entre l'Alagnon et les populations des piscicultures de Chauvey ou de Chazey-Bons, comme avec celle du Kohlenbach, tient probablement aux données manquantes sur deux microsatellites (Tth305 et Tth446).

Tableau VI: Estimation des distances génétiques F_{St} prises deux à deux entre les dix-sept populations-échantillons considérées : toutes les valeurs sont significatives. (en italiques grisées, les valeurs peu fiables faute d'un échantillon suffisant)

| | | LVI | UVI | COM | MAU | ALL | LOI | ARL | ANC | AIX | ALA † | ALA | AIN | BES | OBE | CHA | СНВ |
|-------|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | N° | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 |
| UVI | 2 | 0,069 | | | | | | | | | | | | | | | |
| COM | 3 | 0,026 | 0,036 | | | | | | | | | | | | | | |
| MAU | 4 | 0,329 | 0,333 | 0,324 | | | | | | | | | | | | | |
| ALL | 5 | 0,268 | 0,265 | 0,263 | 0,388 | | | | | | | | | | | | |
| LOI | 6 | 0,301 | 0,300 | 0,272 | 0,369 | 0,337 | | | | | | | | | | | |
| ARL | 7 | 0,316 | 0,293 | 0,280 | 0,376 | 0,328 | 0,056 | | | | | | | | | | |
| ANC | 8 | 0,353 | 0,344 | 0,319 | 0,459 | 0,360 | 0,301 | 0,294 | | | | | | | | | |
| AIX | 9 | 0,299 | 0,304 | 0,295 | 0,452 | 0,298 | 0,392 | 0,393 | 0,399 | | | | | | | | |
| ALA † | 10 | 0,215 | 0,220 | 0,178 | 0,288 | 0,213 | 0,242 | 0,208 | 0,224 | 0,152 | | | | | | | |
| ALA | 11 | 0,216 | 0,221 | 0,204 | 0,361 | 0,251 | 0,327 | 0,311 | 0,334 | 0,059 | 0,109 | | | | | | |
| AIN | 12 | 0,310 | 0,299 | 0,291 | 0,387 | 0,314 | 0,340 | 0,337 | 0,367 | 0,319 | 0,236 | 0,312 | | | | | |
| BES | 13 | 0,236 | 0,234 | 0,212 | 0,317 | 0,221 | 0,275 | 0,267 | 0,303 | 0,211 | 0,092 | 0,210 | 0,199 | | | | |
| OBE | 14 | 0,356 | 0,349 | 0,339 | 0,435 | 0,357 | 0,379 | 0,377 | 0,402 | 0,359 | 0,263 | 0,347 | 0,271 | 0,180 | | | |
| CHA | 15 | 0,331 | 0,313 | 0,303 | 0,444 | 0,337 | 0,314 | 0,338 | 0,375 | 0,343 | 0,233 | 0,308 | 0,268 | 0,176 | 0,290 | | |
| СНВ | 16 | 0,271 | 0,267 | 0,253 | 0,351 | 0,287 | 0,308 | 0,298 | 0,334 | 0,278 | 0,176 | 0,271 | 0,083 | 0,135 | 0,244 | 0,215 | |
| КОН | 17 | 0,283 | 0,268 | 0,255 | 0,381 | 0,291 | 0,293 | 0,303 | 0,344 | 0,302 | 0,181 | 0,278 | 0,219 | 0,129 | 0,236 | 0,120 | 0,165 |

Au sein de l'Alagnon lui-même, la population de l'amont semble se différencier plus significativement de celle de Ferrières que de celles plus en aval, mais les valeurs sont minimes (Tableau VII) : cela tient probablement au fait que les populations de l'aval sont génétiquement plus hétérogènes, ce qui réduit les écarts relatifs entre elles. D'ailleurs, il n'y a pratiquement aucune différence entre la station intermédiaire de Ferrières et l'ensemble aval.

Tableau VII : Distances génétiques Fst entre les secteurs amont et aval de l'Alagnon.

| | | Chapelle | Ferrières |
|-----------|----|----------|-----------|
| | N | 41 | 26 |
| Ferrières | 26 | 0,028 | |
| Aval | 17 | 0,014 | 0,012 |

Rappel sur la structure génétique de l'échantillon d'alevins de Besse en Chandesse

Lors de l'étude pour le compte de la Fédération de la Haute-Vienne, l'aspect hétérogène de l'échantillon de la pisciculture fédérale de Besse en Chandesse nous avait conduit à procéder à une analyse en propre dont nous rappelons les résultats ci-dessous.

L'analyse factorielle des correspondances des 29 profils microsatellites disponibles a fait apparaître une structure assez éclatée dans le plan factoriel F1xF2 (figure 8). Nous avons reporté sur ce plan factoriel les informations complémentaires disponibles au niveau de l'ADN mitochondrial (cercles) et de l'hétérogénéité génétique individuelle (couleurs) tirée des profils fournis par l'analyse Structure associée qui ne retient qu'une partition possible en deux groupes.

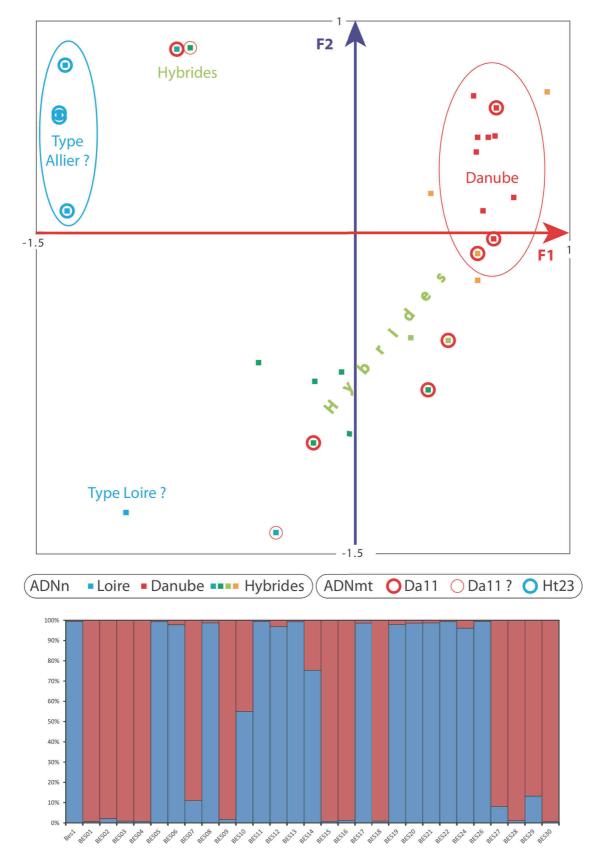


Figure 11 : Analyse factorielle des correspondances sur les profils génétiques microsatellites de 29 individus de Besse en Chandesse et haplotypes associés) et profils microsatellites des mêmes individus selon l'unique partition en deux groupes retenue par l'analyse Structure.

L'ADN mitochondrial permet de rapporter tous les individus du coin supérieur gauche du plan factoriel à un génotype ligérien (en bleu) car ils sont porteurs de l'haplotype ligérien Ht23 (plutôt de type Allier), tandis que tous ceux du coin supérieur droit appartiennent indubitablement à un génotype danubien (en rouge) car porteurs de l'haplotype Da11. Le reste du plan factoriel semble occupé par des individus plus ou moins hybridés avec toutefois un doute pour un individu en bas à gauche qui pourrait représenter un autre génotype ligérien (type Loire ?). En fait, ce poisson est le seul n'appartenant pas au lot de 2012 : il s'agit d'un échantillon que j'avais pu récolter à l'occasion d'une visite d'un parasitologue à la pisciculture de Besse en mars 2011.

Il est à noter que les quatre individus porteurs de l'haplotype ligérien Ht23 présentent tous un profil microsatellite ligérien pratiquement pur, tandis que, parmi les sept individus porteurs de l'haplotype mitchondrial danubien Da11, cinq présentent un profil microsatellite plus ou moins hybridé voir antagoniste. L'association de l'haplotype danubien avec des profils microsatellites très largement ligériens chez certains individus indique qu'il ne s'agit pas là d'hybrides de première génération. Par contre l'absence d'haplotypes ligériens chez les individus à profils microsatellites hybrides indique que l'hybridation ne s'est faite, au moins sur ce lot, que dans le sens d'un croisement femelles danubiennes X mâles ligériens puisque l'ADN mitochondrial n'est transmis que par les femelles. Cela correspondrait bien aux pratiques souvent employées en pisciculture pour renforcer la rusticité des souches d'élevage en les croisant avec des géniteurs sauvages. Sachant qu'il est beaucoup plus facile de se procurer des mâles sauvages matures que des femelles dans la nature, le croisement va toujours préférentiellement dans le sens femelles de pisciculture (éventuellement d'ascendance étrangère) X mâles sauvages (ici ligériens).

L'existence de fréquents déséquilibres de liaisons entre les différentes combinaisons alléliques possibles (10 sur 66) prouve que les allèles ne sont pas répartis indépendamment comme dans toute population panmictique mais s'associent préférentiellement chez certains individus. Ce lot d'alevins de la pisciculture de Besse est bien issu d'un croisement bien imparfait entre poissons danubiens et poissons ligériens.

Conclusions:

L'analyse génétique des populations d'ombre commun le long du cours de l'Alagnon selon deux types de marqueurs congruents (ADN nucléaire et ADN mitochondrial) montre qu'elles présentent un profil typiquement ligérien, mais avec une composante originale qui permet d'affirmer que l'on a affaire à des populations natives propres à cette rivière.

La recherche d'une influence des alevinages sur la génétique des populations locales s'est en l'occurrence avérée négative.

Au long de l'Alagnon, les différences génétiques entre stations apparaissent faibles quoique la population la plus amont, sur le secteur de Chapelle d'Alagnon, semble bien génétiquement différenciée de l'aval. Ceci peut être mis en relation avec son isolement de l'aval depuis plusieurs siècles par un seuil infranchissable, le seuil Gaspard. Cela ne se traduit guère au niveau de l'ADN nucléaire, mais nettement au niveau de l'ADN mitochondrial où on observe un fort contraste de fréquence entre les deux haplotypes observés, celui largement dominant à Chapelle étant rare en aval. Chaque individu ne pouvant être porteur que d'une seule version d'ADN mitochondrial

(transmis par la mère), alors qu'il peut porter jusqu'à quatre versions différentes d'ADN nucléaire (transmis par les deux parents), les processus de sélection ou de simple dérive génétique entrainant une perte de diversité génétique (fixation) sont 4 fois plus rapides pour le premier, ce qui expliquerait qu'il marque bien mieux la présence de ce seuil infranchissable depuis plusieurs siècles.

La suppression de ce seuil, ou son équipement d'une passe à poisson fonctionnelle pour l'ombre commun, permettrait de voir si ces différences génétiques amont aval, somme toute bien minimes, reposent sur le simple hasard ou si elles expriment une certaine composante adaptative local : en ce cas, les différences génétiques amont aval devraient perdurer malgré l'ouverture du passage.

Pour ce qui est des secteurs plus en aval, l'échantillonnage est peut-être trop léger et clairsemé pour mettre en évidence de possibles différences et des analyses plus approfondies seraient requises pour évaluer l'importance des échanges potentiels avec les populations de l'Allier compte tenu de la présence d'infranchissables encore en place ou récemment effacés.

Ceci dit, l'étude permet d'affirmer que la population d'ombres communs de l'Alagnon appartient à une souche locale native à forte valeur patrimoniale, non renouvelable en l'état en cas de disparition. Celle-ci mérite donc une politique de protection en conséquence, en mettant notamment un terme, comme cela a été fait depuis 2012, à toute opération de soutien artificiel avec des souches extérieures (même issues du reste du bassin de la Loire) dont on a pu au demeurant constater souvent l'inefficacité (Persat et al. 2016), alors que cela comporte toujours un certain risque sanitaire pour les populations natives.

Cette politique de protection doit donc être orientée sur la protection de l'habitat avec libération du lit de la rivière par suppression des enrochements de berges là où ils ne sont pas indispensables, et élimination des derniers infranchissables, notamment donc le seuil Gaspard. La préservation de la qualité des eaux reste un préalable incontournable, de même que la protection des géniteurs, notamment lors de la fraie qui se déroule bien après l'ouverture de la truite.

Les bas cours de l'Allanche, comme des autres principaux affluents, doivent être également préservés en tant que zones de fraie et refuges potentiels pour les alevins et les juvéniles en cas de pollution accidentelle majeure, hélas toujours possible, dans le cours principal de l'Alagnon.

Références utiles

- Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi, L., Raufaste, N., and Bonhomme F. 1996–2004. *GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations*?, Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5171, Université de Montpellier II, Montpellier, France.
- Bernatchez, L and Danzmann G. 1993. Congruence in control-region sequence and restriction-site variation in mitochondrial DNA of brook charr (*Salvelinus fontinalis* Mitchill). *Molecular Biology and Evolution*, **10**: 1002-1014.
- Froufe, E., Knizhin, I., and Weiss, S. 2005. Phylogenetic analysis of the genus *Thymallus* (grayling) based on mtDNA control region and ATPase 6 genes, with inferences on control region constraints and broad-scale Eurasian phylogeography. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **34**: 106-117.
- Goudet, J. M. 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3), http://www.unil.ch/izea/softwares/fstat.html (updated from Goudet 1995).
- Grès P., Persat H., Weiss S., Kopun T., 2006. Etude des populations d'Ombre commun du Forez, sur l'Ance du Nord, le Lignon du Forez et l'Aix. Caractérisation Génétique et Dynamique des Populations. Rapport Fédération de Pêche de la Loire, 102p. + annexes.
- Gum, B., Gross, R., and Kuehn, R. 2005. Mitochondrial and nuclear DNA phylogeography of European grayling (*Thymallus thymallus*): evidence for secondary contact zones in central Europe. *Molecular Ecology*, **14**: 1707-1725.
- Peakall, R., and Smouse, P.E. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, **6**: 288-295.
- Persat, H. 1996. Threatened populations and conservation of the European grayling *Thymallus thymallus* (L., 1758). *In* Conservation of Endangered Freshwater Fish in Europe. *Edited by* A. Kirchhofer and D. Hefti. Birkhäuser Verlag, Basel. pp. 233-247.
- Persat H., 2011 : L'ombre commun. *In* Keith *et al.* 2011, *Les poissons d'eau douce de France*. MNHN, Collection Inventaires @ Biodiversité, Biotope Editions, p.413-415.
- Persat, H., and Eppe, R. 1997. Alevinage, pollution et cloisonnement de l'espace fluvial dans les structures génétiques des populations de poisson: l'ombre commun, *Thymallus thymallus*, dans le Rhône au niveau de la Savoie. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* **70**(344-45): 287-299.
- Persat H., Mattersdorfer K, Charlat S., Schenekar T., Weiss S., 2016. Genetic integrity of the European grayling (*Thymallus thymallus*) populations within the Vienne River drainage basin after five decades of stockings. *Cybium*, 2016, 40(1): 7-20.

- Persat H., Winkler K., Schenekar T., Mattersdorfer K., Weiss S., 2013 : Diversité génétique des populations d'ombre commun du département de la Haute-Vienne. Rapport technique, UMR 5023 Université Lyon 1 et Institut de Zoologie de l'Université de Graz : 29p.
- Persat H., Winkler K., Schenekar T., Mattersdorfer K., Weiss S., 2016: Genetic integrity of the European grayling (*Thymallus thymallus*) populations within the Vienne River drainage basin after five decades of stockings. *Cybium*, 40(1): 7-20.
- Pritchard, J.K., Stephens, M., and Donnelly, P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, **155**: 945-959.
- She, J.X., Autem, M., Kotulas, N., Pasteur, N., and Bonhomme, F. 1987. Multivariate analysis of genetic exchanges between *Solea aegyptiaca* and *Solea senegalensis* (Teleosts, Soleidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, **32**: 357-371.
- Stamatakis, A. 2006. RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics*, **22**: 2688-2690.
- Takezaki, N, and Nei, M. 1996, Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. *Genetics*, **144**: 389-399.
- Tamura, K., Dudley, J., Nei, M., and Kumar, S. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) Software Version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* **24**: 1596-1599.
- Uiblein, F., Jagsch, A., Honsig-Erlenburg, W., and Weiss, S. 2001. Status, habitat use, and vulnerability of the European grayling in Austrian waters. *Journal of Fish Biology* **59**(sA): 223-247.
- Van Oosterhout, C., Hutchinson, W.F., Wills, D.P.M., and Shipley P. 2004. Micro-Checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, **4**: 535-538.
- Weiss S., Persat H., Eppe R., Schlötterer C., Uiblein F., 2002. Complex pattern of colonization and refugia revealed for European grayling *Thymallus thymallus*, based on complete sequencing of the mitochondrial DNA control region. *Molecular Ecology*, 11: 1393-1407.

ANNEXE TECHNIQUE*

Analyse de l'ADN mitochondrial (ADNmt)

La région de contrôle de l'ADN mitochondrial (ADN $_{mt}$) a été amplifiée par PCR avec les amorces LRBT-25 et LRBT-1195, initialement publiées par Uiblein et~al. (2001), avec les conditions décrites dans Froufe et~al. (2005). Alors que la totalité de la région de contrôle avait initialement été ciblée (soit environ 1082 paires de bases), nous avons rencontré des difficultés d'amplification dans la deuxième partie (côté 3') à cause d'une séquence répétée impliquant 82 paires de bases. Afin d'outrepasser ce problème, nous avons adapté la stratégie d'amplification utilisée en démarrant la réaction par la première moitié (côté 5') de la région de contrôle avec les amorces LRBT-25 et INT-5' (5'- ATA TAA GAG AAC GCC CGG CT - 3'), puis amplifié la seconde moitié (côté 3') avec une amorce nouvellement conçue (CRint3F; 5' - GAA ACC ACT CAC TGA AAG CCG - 3') et HN20 (5'- GTG TTA TGC TTT AGT TAA GC - 3') (Bernatchez & Danzmann 1993).

Les fragments d'ADN ont été purifiés à l'aide d'ExoSAP-IT et séquencés (BigDye, ABI PRISM 3130xl capillary genotyper). Les séquences d'ADNmt ont été éditées, combinées, et alignées avec 62 haplotypes publiés (Weiss et~al.~2002, Gum et~al.~2005) à l'aide de MEGA 5.6.1 (Tamura et~al.~2007). La liaison potentielle entre les allèles microsatellites et l'ADN $_{mt}$ a été testée en utilisant FSTAT, en opérant un recodage des haplotypes uniques en variables muettes. Les relations phylogénétiques entre haplotypes ont été évaluées par le maximum de vraisemblance tel qu'implémenté dans RAxML 7.0.4 (Stamatakis et~al.~2006). La pertinence des noeuds de la topologie ainsi construite a été évaluée par bootstrap (1000 réplicats).

Extraction de l'ADN et analyses des microsatellites

L'ADN génomique des individus a été extrait à l'acétate d'ammonium concentré selon le protocole de Miller et al. (1988) modifié. La variation allélique a été recherchée pour 12 loci microsatellites (Thy1, Thy54, Thy62, Tth447, Tar101, Tar104, Tar106, Tth213, Tth305, Tth446, Tth414, Tth445). Quatre loci di-nucléotides et 8 loci tétra-nucléotides ont été combinés dans deux réactions PCR de 6 loci chacune. Chaque mélange de 10 µl était constitué de 10-100 ng d'ADN, de 0.2 µM de chaque amorce, de 5 µl 2x Type-it Multiplex PCR Master Mix (QUIAGEN) et d'eau. Les procédures pour la PCR étaient conformes aux recommandations du constructeur, et sont disponibles auprès des auteurs sur demande.

Le nombre d'allèles par locus (AN), et les taux d'hétérozygotie observée (H_0) et attendue (H_E) ont été calculés à l'aide du logiciel GENETIX 4.05 (Belkhir et~al. 1996-2004). La richesse allélique par locus (AR) et les écarts à l'équilibre de Hardy-Weinberg (F_{IS} par population) ont été calculés en utilisant FSSTAT version 2.9.3.2 (Goudet 2001). Le logiciel MicroChecker (van Oosterhout et~al. 2004) a été utilisé pour vérifier la présence potentielle d'allèles nuls. Le déséquilibre de liaison (LD) à l'échelle de la population a été testé en utilisant FSSTAT avec 12 000 permutations. La signification statistique des tests a été évaluée après correction des probabilités par la méthode de Bonferroni.

La structure génétique des populations a été analysée à différents niveaux afin de mettre en évidence la variabilité de la façon la plus optimale.

Analyses statistiques

Le degré de différenciation entre les populations a été quantifié par F_{ST} et R_{ST} , calculés par FSSTAT GenAlEx 6.4 (Peakall & Smouse 2006).

Une analyse factorielle des correspondances (AFC; selon les recommandations de She *et al.* (1987) dans GENETIX 4.05) a été réalisée afin de représenter graphiquement les relations génétiques entre individus. Les quatre premiers axes ont été conservés. Un code population permet de visualiser l'appartenance de chaque individu à sa population d'origine.

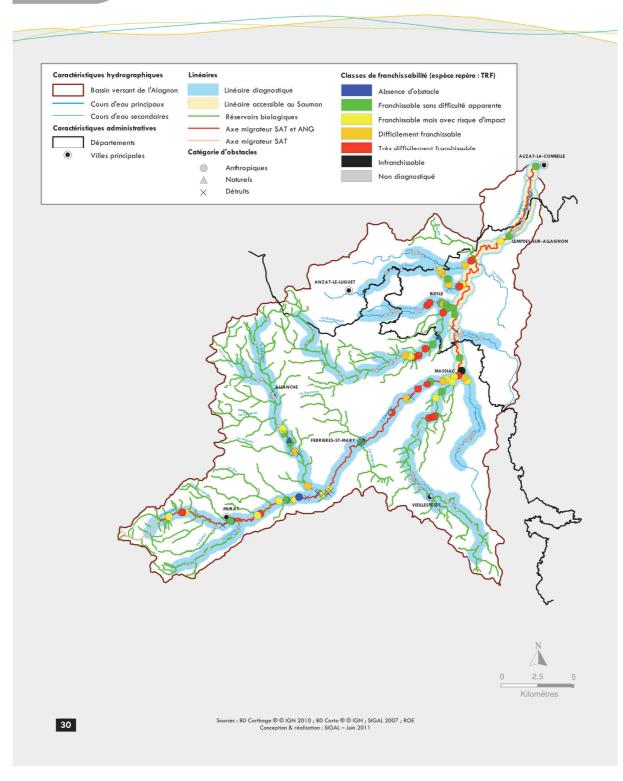
La structure génétique des populations a également été explorée par une approche Bayésienne de classification, réalisée à l'aide de "STRUCTURE ver. 2.3.3" (Pritchard *et al.* 2000). Cette approche définit « *K* » sous-ensembles (« clusters », classes), en assignant les individus à des groupes en équilibre de Hardy-Weinberg, sans information *a priori* sur leur appartenance à une population, et permet de sélectionner le nombre d'ensembles K décrivant le mieux la variabilité générale au sein du jeu de données.

^{*} Informations complémentaires actualisées disponibles dans Persat et al. 2016



Obstacles à la continuité écologique





Extrait du rapport "SAGE Alagnon, Etat initial, 2011". Le seuil infranchissable Gaspard est celui en rouge situé à l'aval de Murat mais partiellement occulté par un autre seuil en jaune (plus franchissable) juste en amont.



Julien Lesbre, le pêcheur amateur (lycéen) ayant fourni le plus d'échantillons, en action sur son parcours de Ferrières Saint-Mary le 27 juin 2016, avec ci-dessous le plus gros ombre qu'il ait jamais pêché jusqu'alors, précisément ce jour-là, 47,4 cm (nota bene : les blessures sur les nageoires sont anciennes).

