



Diversité génétique des populations d'ombre commun du département de la Haute-Loire

Henri PERSAT *, Kathrin WINKLER **, Tamara SCHENEKAR **, Karin Mattersdorfer**
& 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, Universitätsplatz 2, A-8010 Graz, Autriche



2013



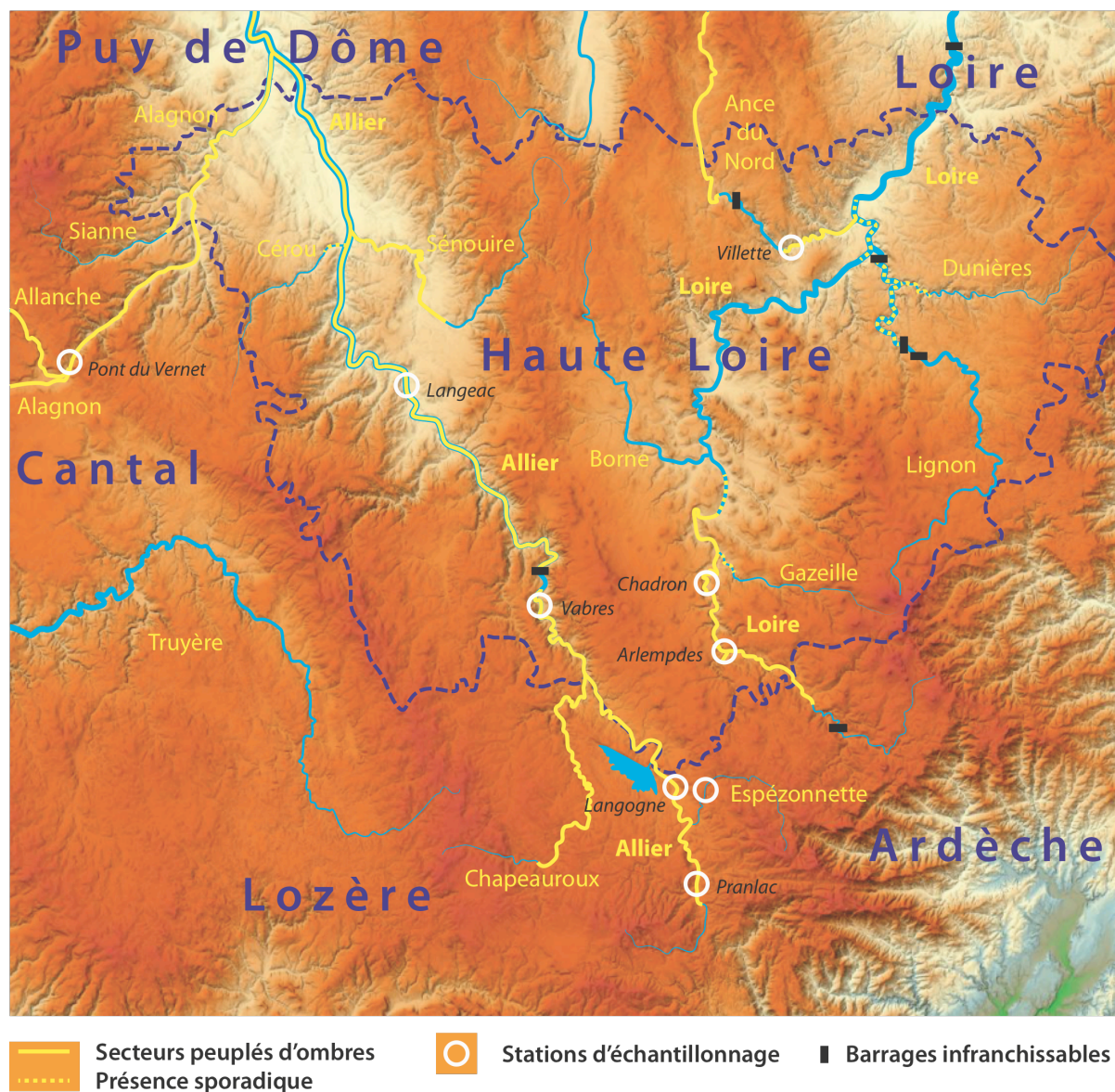


Figure 1 : Répartition de l'ombre commun sur le haut bassin Loire-Allier d'après les indications de la Fédération de Pêche 43 (fond de carte IGN-Géoportail)

En couverture : Ombre pris dans l'Allier à Pranlac le 14 mai 2008 (femelle de 32,2 cm)

Introduction

L'ombre est une espèce autochtone, patrimoniale, à fort intérêt halieutique. Cependant, 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, et classée comme étant vulnérable par l'UICN (Union Internationale pour la Conservation de la Nature). En France, elle 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, 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 nous paraît important de connaître la structure génétique de nos populations. 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 évolué (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 récente des méthodes d'analyse moléculaire, nous disposons aujourd'hui d'outils très performants, modernes, nous permettant d'appréhender des dysfonctionnements au sein des populations à des échelles de temps et d'espace relativement réduites (Grès et al. 2006).

Dans ce contexte, le présent projet vise à :

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

Contexte local :

Le département de la Haute-Loire englobe une bonne partie du bassin supérieur de la Loire, mais ses têtes de bassins proprement dites se trouvent dans les départements limitrophes : Ardèche pour la Loire et l'Allier, Lozère pour l'Allier et le Chapeauroux, Cantal pour l'Alagnon et Puy de Dôme pour l'Ance du Nord. L'ombre commun est largement représenté dans la branche Allier et ses principaux affluents, avec une seule interruption notoire au niveau du barrage de Poutès-Monistrol. Il a par contre une répartition plus restreinte dans la branche Loire où il est confiné à la Loire en

amont du Puy et à l'Ance du Nord. Si quelques individus peuvent être observés sporadiquement dans la Loire en aval du Puy, son cours est tronçonné de microcentrales souvent infranchissables pour les ombres en raison d'échelles à poissons conçues le plus souvent que pour la truite. D'importants affluents sont dépourvus d'ombres pour des raisons naturelles ou humaines (Arzon, Borne, Sumène, Gagne, Gazeille). Une présence sporadique est signalée dans le bas cours du Lignon du Velay (Nicolas, 2013).

Dans ce contexte assez défavorable à l'ombre commun, les autorités piscicoles ont été amenées à procéder à un nombre considérable de rempoissonnements depuis la fin des années 1960 afin de tenter de remédier quelque peu à la faiblesse des populations locales. Le tableau I fait le bilan annuel des plus récents recensés par la Fédération de Pêche de Haute-Loire depuis 1996, le détail des alevinages étant fourni en annexe. D'autres alevinages ont été effectués dans les départements limitrophes, notamment par la Lozère.

Tableau I : Empoisonnements en Ombre commun dans le département de la Haute-Loire (données AAPPMAs et Fédération de Pêche de Haute-Loire)

Années	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Versant ALLIER	12 500	15 000	2 000	14 000	17 500	11 500	8 000	11 000	9 000	11 000	6 000	8 000	7 000	—	12 000
Versant LOIRE	17 200	17 800	3 250	27 500	18 000	15 000	15 000	11 000	10 000	1 000	3 000	2 000	—	—	5 000
TOTAL 43	29 700	32 800	5 250	41 500	35 500	26 500	23 000	22 000	19 000	12 000	9 000	10 000	7 000	0	17 000

Les alevins déversés ont été fournis par la pisciculture domaniale du CSP à Augerolles (Puy-de-Dôme) jusqu'en 2002, avant que sa production ne soit transférée à la pisciculture fédérale de Besse-en-Chandesse (Puy-de-Dôme). Les alevins sont réputés provenir de parents issus de géniteurs prélevés dans l'Allier en 1988 et dans l'Alagnon en 1991, ou d'alevins prélevés dans l'Allier et dans la Loire en 1997. Il s'agit le plus souvent d'alevins d'un été déversés en automne à une taille de 10-12 cm lorsqu'ils provenaient d'Augerolles, mais seulement de 6 à 8 cm quand ils proviennent de Besse aux eaux plus froides.

Echantillonnage :

Pour établir le profil génétique de chaque population, le protocole prévoyait l'analyse de 40 individus par population, sur quatre populations : Haut Allier (amont Poutès), Moyen Allier (aval Poutès), Loire amont, Alagnon.

Les échantillons sont constitués de prélèvements de nageoires récupérés lors de de prospections par pêches électriques effectuées par la Fédération de Pêche de Haute-Vienne et l'Université de Lyon en différentes stations, mais également auprès des pêcheurs à la ligne, notamment pour la Loire (cf. fig. 1).

Les bouts de nageoires ont été conservés dans des micro-tubes remplis d'alcool à 95° et expédiés à notre partenaire autrichien pour analyses (voir l'annexe technique pour les détails).

La plupart des échantillons du Haut-Allier ont été obtenus à l'occasion de l'étude inter-fédérale sur la population d'ombre commun du secteur (Persat et al. 2012).

La Fédération de la Haute-Loire n'a toutefois pas été en mesure de nous procurer des spécimens de l'Alagnon, et seulement quelques spécimens du Moyen Allier à l'occasion d'une pêche électrique à Langeac le 18 octobre 2011. Pour compenser, nous avons été amenés à prendre en compte plus d'échantillons du Haut-Allier à la frontière Ardèche-Lozère, y compris quelques spécimens de son affluent ardéchois, l'Espézonnette, et nous avons intégré dans l'étude un lot de poissons de l'Ance du Nord récoltés à l'occasion d'une étude précédente pour le compte de la Fédération de la Pêche de la Loire (Grès et al. 2006), moyennant une réanalyse complète de ces spécimens, les marqueurs microsatellites n'étant plus les mêmes.

Par ailleurs, nous avons intégré à l'analyse du complexe ligérien, un lot d'individus issus de la pisciculture de Besse-en-Chandesse traité pour le compte de la Fédération de Pêche de Haute-Vienne (Persat et al. 2013), puisque que cette pisciculture est désormais l'unique source d'approvisionnement en poissons de souche "ligérienne" pour le repeuplement en Haute-Loire.

Enfin, nous y avons inclus quelques échantillons de l'Alagnon que nous avons récoltés personnellement lors d'une pêche CSP quelques années auparavant.

Analyses génétiques

Les analyses ont effectuées par les Dr Kathrin Winkler, Tamara Schenekar et Karin Mattersdorfer, sous la direction du Pr Steven WEISS à l'Institut de Zoologie de l'Université de Graz, en Autriche. 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 des sous-échantillons d'une dizaine d'individus par population;
- 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 et une quarantaine d'individus par population, quelques prélèvements pouvant s'avérer parfois inutilisables.

Pour situer les populations de Haute-Loire par rapport aux populations avoisinantes, les résultats ont été comparés à ceux obtenus sur la population de la Combade (Haute-Vienne), celle de la basse rivière d'Ain, celle de la pisciculture de Besse en Chandesse (63), celle de la pisciculture Chauvey (25), celle de la pisciculture d'Obenheim (67) et une du Danube autrichien.

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

Tableau II : Populations considérées avec leur origine, le nombre d'individus considérés, avec entre parenthèses celui analysé avec succès pour les microsatellites, et celui analysé avec succès pour l'ADN mitochondrial.

Population	Origine	N (μ Sats)	N (ADNmt)
ALLIER Ardéchois	Pranlac-Luc	45 (45)	10
ESPEZONNETTE	Lespéron	6 (6)	3
ALLIER Lozérien	Langogne	44 (44)	10
ALLIER Amont Poutès	Alleyras (Vabres)	42 (42)	10
ALLIER Aval Poutès	Langeac (Reilhac)	7 (7)	4
ALAGNON	Jobsac (Pont du Vernet)	5 (5)	1
LOIRE Amont	Salettes-Arlempdes-Goudet	44 (43)	10
ANCE Aval	Tiranges (Gour de Baleyre)	31 (30)	7
BESSE 2011	Pisciculture Fédérale 63	30 (28)	11

ADN mitochondrial

Le séquençage de 55 individus du haut bassin Loire-Allier a permis de repérer sept haplotypes (variantes d'ADN) différents (Tab. III). L'un (At1) semble spécifique à la population de la Loire en amont du Puy, et deux autres (Ht20 et 21) à l'Ance du Nord. Réciproquement, les quatre autres haplotypes apparaissent propres à la branche Allier, l'haplotype Ht23 y étant le plus largement répandu (observé dans 5 populations sur 6, mais également à la pisciculture de Besse-en-Chandesse). Aucun haplotype non ligérien n'a été observé parmi les populations "naturelles" de Haute-Loire. Par contre, un haplotype typiquement danubien apparaît très fréquent dans le lot d'alevins issu de la pisciculture de Besse.

Tableau III : Fréquences des différents haplotypes rencontrés dans les populations de Haute-Loire, ainsi que dans des populations de référence du reste du bassin de la Loire, de l'Ain et de trois piscicultures.

ADN mt		HAPLOTYPES																			Total
		Ligériens									Danubiens				Rhodaniens				Rhénans		
		Vienne		Allier			Loire														
		Ht24	Ht25	Ht26	Ht29	Ht30	Ht23	Ht20	Ht21	At1	Da1	Da4	Da11	Da30	Rh1	Rh4	Ht4	Ht14	Ht3	Ht27	
P	Allier ardéchois			5	2		3														10
	Espézonnette						3														3
	Allier lozérien						10														10
	Allier Vabres			3	4	3															10
	Allier Langeac						4														4
L	Alagnon (15)						1														1
A	Ance du Nord							6	1												7
T	Loire velave									10											10
P	Combade (87)	9	2																		11
I	Ain aval (01)															12	1	3	1		17
O	Besse (63)						4						7								11
N	Chauvey (25)										5	1		1							7
S	Obenheim (67)																		3	8	11

(* le codage des haplotypes, hérité d'études antérieures, n'a pas de relation absolue avec les bassins d'origine)

La figure 2 permet d'apprécier les distances génétiques entre ces différents haplotypes en les replaçant dans un contexte plus vaste prenant en compte les haplotypes connus dans les bassins du Rhin, du Rhône, du Danube austro-bavarois et de Scandinavie.

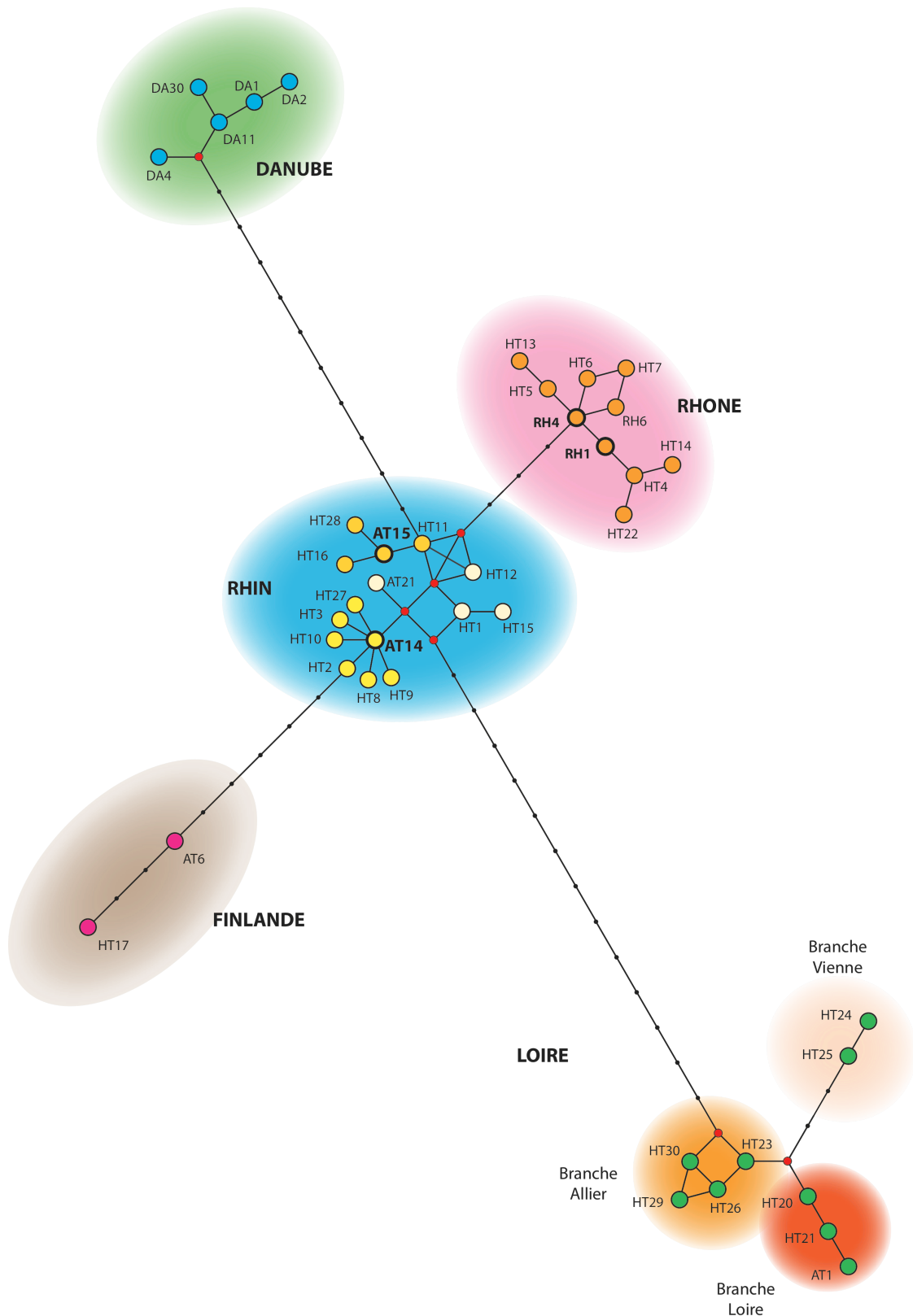


Figure 2 : ADN mitochondrial — Distances relatives entre haplotypes ligériens et vis-à-vis des grands types européens les plus proches. Les haplotypes ligériens semblent bien s'organiser selon les trois grands sous bassins, Vienne, Loire et Allier (le codage des haplotypes est hérité des études antérieures et n'a pas de signification absolue).

Les haplotypes s'organisent en cinq ensembles (clades) principaux : deux centraux correspondants aux bassins du Rhin et du Rhône, et trois distants correspondants au bassin amont du Danube, à la Finlande et au bassin de la Loire. Il convient de noter que l'ensemble Loire est le plus distant de tous. Par ailleurs, ce dernier semble pouvoir se structurer en trois sous-ensembles correspondants aux trois principaux sous bassins ligériens : Loire du Velay, Haut Allier et Haute Vienne.

La grande distance génétique (longueur de branche sur la figure 2) 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, celui-ci est le plus original après celui du Pô (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 la Loire depuis fort longtemps. Le fait que la diversité haplotypique, relativement grande au sein de ce bassin, puisse s'interpréter sur des bases géographiques traduit une absence d'échanges génétiques récents entre les trois branches Loire, Allier et Vienne. Ces échanges supposeraient que les ombres franchissent avec succès de longues barrières écologiques, tout le linéaire fluvial de seconde catégorie qui sépare ces trois têtes de bassins en passant par le bec d'Allier et le bec de Vienne, et il faut remonter à la dernière glaciation, 10 000 ans en arrière, pour trouver des conditions climatiques favorables à de tels échanges.

L'absence totale d'haplotypes non ligériens est assez étonnante étant donnée la présence non négligeable d'un haplotype danubien au sein du lot d'alevins fourni par la pisciculture de Besse-en-Chandesse, et au fait qu'avant la création de cette souche, tous les repeuplements étaient faits à partir d'œufs importés de Scandinavie, Bavière, Suisse, Autriche ou d'ailleurs. Peut-être qu'en multipliant le nombre de spécimens séquencés, on arriverait à en trouver certains porteurs d'une mitochondrie importée, mais cela resterait à une fréquence tout à fait anecdotique.

La diversité génétique des populations d'ombre commun apparaît généralement faible au niveau de l'ADN mitochondrial (rarement plus de deux haplotypes par population sur la base d'une dizaine d'individus séquencés), et celles de Haute Loire ne se départissent pas de ce schéma. Toutefois, à l'échelle du bassin de la Loire, elle reste tout à fait comparable à celle observée dans celui du Rhône (abstraction faites des populations lémaniques d'origine rhénane, et des populations introduites dans ce dernier). La présence d'un seul haplotype, comme dans la Loire amont, a déjà été observée dans d'autres populations natives assez circonscrites. Cela indique que ces populations ont été réduites à un tout petit effectif de géniteurs dans un passé relativement récent, et que les rempoissonnements contemporains n'y ont rien changé.

Microsatellites

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

La richesse allélique des populations de Haute-Loire (Allier 1-4, Loire, Ance) apparaît relativement faible comparativement à celles observées sur les autres populations-échantillons d'autres bassins (4 à 5,4 contre 8 à 10 ailleurs). Par contre elle est assez élevée dans l'échantillon de Besse-en-Chandesse (8,9, mais elle s'accompagne d'un important déséquilibre Hardy-Weinberg sur deux micro-satellites (Tar104 et Tth446).

Tableau IV : Résumé des résultats statistiques sur 12 microsatellites dans chaque population. Nombre d'individus (N), d'allèles (AN), richesse allélique (AR), amplitude allélique (R), hétérozygoté observée (H_O) et théorique (H_E), et valeurs de F_{IS} pour chaque population. Un astérisque * signale une déviation significative par rapport à l'équilibre d'Hardy-Weinberg calculé sur 10 000 permutations.

	N		Tar101	Tar106	Thy1	Thy62	Tth305	Tth445	Tth447	Tar104	Thy54	Tth213	Tth414	Tth446	Total
ALLIER Laveyrune Pranlac Espézonnette	51	AN	7	6	3	4	5	8	3	6	2	5	15	5	69
		AR	6,272	5,376	2,995	3,912	4,689	7,371	3,000	5,564	1,999	4,719	12,553	4,162	5,218
		R	252-298	191-299	109-129	230-246	282-312	423-475	168-174	169-245	191-195	298-334	356-534	225-243	
		H_O	0,632	0,732	0,372	0,762	0,784	0,325	0,744	0,714	0,744	0,667	0,241	0,698	0,618
		H_E	0,665	0,677	0,421	0,717	0,743	0,435	0,617	0,601	0,570	0,641	0,224	0,626	0,578
		F_{IS}	0,018	0,006	-0,296	0,095	-0,003	0,111	-0,066	0,201	0,338	0,095	-0,034	0,018	0,027
ALLIER Langogne	44	AN	6	6	3	5	4	7	4	6	3	6	11	3	64
		AR	5,863	5,993	2,879	4,000	3,999	6,394	3,752	5,263	2,511	5,818	9,738	3,000	4,934
		R	252-294	191-299	109-129	230-260	282-312	423-475	168-180	169-245	185-195	296-334	356-534	227-239	
		H_O	0,698	0,907	0,591	0,636	0,750	0,791	0,409	0,581	0,279	0,810	0,786	0,727	0,664
		H_E	0,730	0,816	0,538	0,632	0,712	0,769	0,577	0,597	0,246	0,669	0,773	0,630	0,641
		F_{IS}	0,045	-0,112	-0,100	-0,008	-0,054	-0,028	0,293	0,027	-0,136	-0,213	-0,017	-0,157	-0,036
ALLIER Vabres	42	AN	6	9	3	6	5	8	4	6	3	7	11	4	72
		AR	5,875	7,775	2,982	5,399	4,550	7,184	3,476	5,065	2,3	6,698	10,371	3,755	5,453
		R	262-298	191-299	109-129	230-260	282-316	423-475	168-180	169-241	191-199	298-334	356-514	225-243	
		H_O	0,487	0,810	0,610	0,732	0,800	0,571	0,548	0,561	0,048	0,875	0,821	0,571	0,619
		H_E	0,581	0,814	0,556	0,712	0,742	0,723	0,530	0,587	0,070	0,782	0,812	0,577	0,624
		F_{IS}	0,163	0,005	-0,098	-0,028	-0,08	0,212	-0,033	0,044	0,325	-0,121	-0,011	0,01	0,007
ALLIER Langeac	7	AN	2	5	4	5	3	8	3	5	2	5	5	3	50
		AR	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		R	252-278	191-295	109-129	220-248	282-312	419-471	168-180	181-241	191-195	306-334	356-490	225-239	
		H_O	1	0,8571	0,7143	0,5714	0,75	1	0,7143	0,7143	0,1429	0,5714	0,8571	0,2857	0,682
		H_E	1	0,7033	0,5714	0,5934	0,6786	0,9231	0,6044	0,8132	0,1429	0,7802	0,7912	0,3846	0,666
		F_{IS}	NA	-0,241	-0,277	0,04	-0,125	-0,091	-0,2	0,13	0	0,284	-0,091	0,273	-0,031
ALAGNON Pont du Vernet	5	AN	3	5	5	6	2	5	7	3	3	5	3	5	51
		AR	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		R	204-334	203-283	109-137	202-234	300-350	431-439	164-174	177-231	191-197	294-344	352-482	225-279	
		H_O	0,5	1	0,6	1	0,25	0,5	0,75	1	0,6	0,8	0,6667	0,6	0,689
		H_E	0,6071	0,8571	0,6667	0,8929	0,5357	0,5	0,8929	0,9333	0,6	0,8222	0,6	0,7556	0,722
		F_{IS}	0,2	-0,2	0,111	-0,143	0,571	0	0,182	-0,081	0	0,03	-0,143	0,226	0,052
LOIRE amont	43	AN	5	7	3	4	5	2	4	4	3	6	4	4	51
		AR	4,577	6,218	2,976	4,000	4,595	2,000	3,989	3,975	3,000	5,243	3,965	3,987	4,044
		R	258-350	191-291	109-125	204-264	274-316	447-475	168-184	185-225	191-197	308-326	356-478	235-251	
		H_O	0,632	0,732	0,372	0,762	0,784	0,325	0,744	0,714	0,744	0,667	0,241	0,698	0,618
		H_E	0,665	0,677	0,421	0,717	0,743	0,435	0,617	0,601	0,570	0,641	0,224	0,626	0,578
		F_{IS}	0,051	-0,082	0,118	-0,064	-0,056	0,256	-0,209	-0,191	-0,311	-0,041	-0,077	-0,116	-0,070
ANCE du Nord aval	30	AN	6	4	4	4	6	6	3	7	5	6	NA	4	55
		AR	5,598	3,993	3,996	3,662	6	5,784	3	6,743	4,357	5,823	NA	3,571	4,775
		R	252-342	191-279	109-127	204-264	296-316	431-483	172-184	149-225	185-231	294-338	NA	219-251	
		H_O	0,7333	0,4	0,7	0,2333	0,8966	0,75	0,3667	0,6786	0,25	0,7308	NA	0,1786	0,538
		H_E	0,7045	0,6209	0,6751	0,2175	0,8094	0,7792	0,5034	0,7455	0,2883	0,7134	NA	0,2578	0,574
		F_{IS}	-0,042	0,36	-0,037	-0,074	-0,11	0,038	0,152	0,091	0,135	-0,025	NA	0,311	0,054
BESSE	29	AN	6	12	7	8	7	10	8	10	14	12	NA	8	102
		AR	5,955	11,228	6,933	7,741	7,000	9,91	7,262	9,927	13,052	11,329	NA	7,783	8,920
		R	204-322	175-283	109-137	202-234	282-382	365-545	156-175	149-231	173-231	280-348	NA	219-279	
		H_O	0,538	1,000	0,828	0,862	0,591	0,609	0,690	0,552	1,000	0,964	NA	0,423	0,732
		H_E	0,704	0,875	0,820	0,772	0,790	0,829	0,716	0,893	0,902	0,873	NA	0,801	0,816
		F_{IS}	0,238	-0,145	-0,009	-0,119	0,256	0,270	0,038	0,386*	-0,111	-0,107	NA	0,477*	0,104*
AIN Mollon	43	AN	13	10	10	4	15	23	6	20	11	15	19	8	154
		AR	11,122	8,561	7,97	3,875	11,992	19,258	4,492	15,628	9,422	12,409	16,482	7,288	10,708
		R	208-318	239-283	113-157	188-208	282-350	385-541	160-190	156-286	189-211	264-348	366-557	215-259	
		H_O	0,795	0,698	0,811	0,325	0,829	0,902	0,256	0,738	0,860	0,829	0,780	0,738	0,714
		H_E	0,862	0,766	0,805	0,330	0,792	0,949	0,238	0,906	0,859	0,863	0,799	0,809	0,748
		F_{IS}	0,079	0,09	-0,008	0,016	-0,048	0,049	-0,08	0,188	-0,002	0,04	0,024	0,089	0,047
OBENHEIM Rhin	40	AN	4	10	4	5	8	13	7	12	11	14	11	8	107
		AR	3,757	9,281	3,506	4,534	7,408	11,449	6,376	10,377	9,128	11,717	9,967	7,676	7,931
		R	208-326	215-291	113-145	202-214	366-414	385-589	152-196	149-289	180-236	278-356	352-526	215-275	
		H_O	0,275	0,950	0,275	0,575	0,889	0,974	0,821	0,949	0,795	0,821	0,541	0,900	0,730
		H_E	0,272	0,860	0,251	0,668	0,816	0,896	0,765	0,803	0,721	0,852	0,805	0,842	0,713
		F_{IS}	-0,011	-0,106	-0,097	0,141	-0,091	-0,088	-0,073	-0,184	-0,104	0,038	0,331*	-0,069	-0,025
DANUBE Kohlenbach	29	AN	14	8	5	6	NA	12	5	8	9	15	3	NA	85
		AR	14,000	7,999	4,966	5,965	NA	11,826	4,931	8,000	8,896	14,757	3,000	NA	8,434
		R	208-354	175-215	109-139	202-224	NA	357-427	152-176	149-257	173-229	318-374	348-356	NA	
		H_O	1,000	0,862	0,690	0,655	NA	0,724	0,690	0,750	0,793	0,552	0,517	NA	0,723
		H_E	0,901	0,845	0,617	0,710	NA	0,764	0,574	0,679	0,764	0,862	0,615	NA	0,733
		F_{IS}	-0,112	-0,02	-0,12	0,079	NA	0,053	-0,207	-0,106	-0,039	0,364*	0,162	NA	0,014

NA : non applicable (données manquantes ou insuffisantes)

Cela indique que cette population de Besse, ou à tout le moins le lot analysé, ne correspond pas à une population génétiquement cohérente.

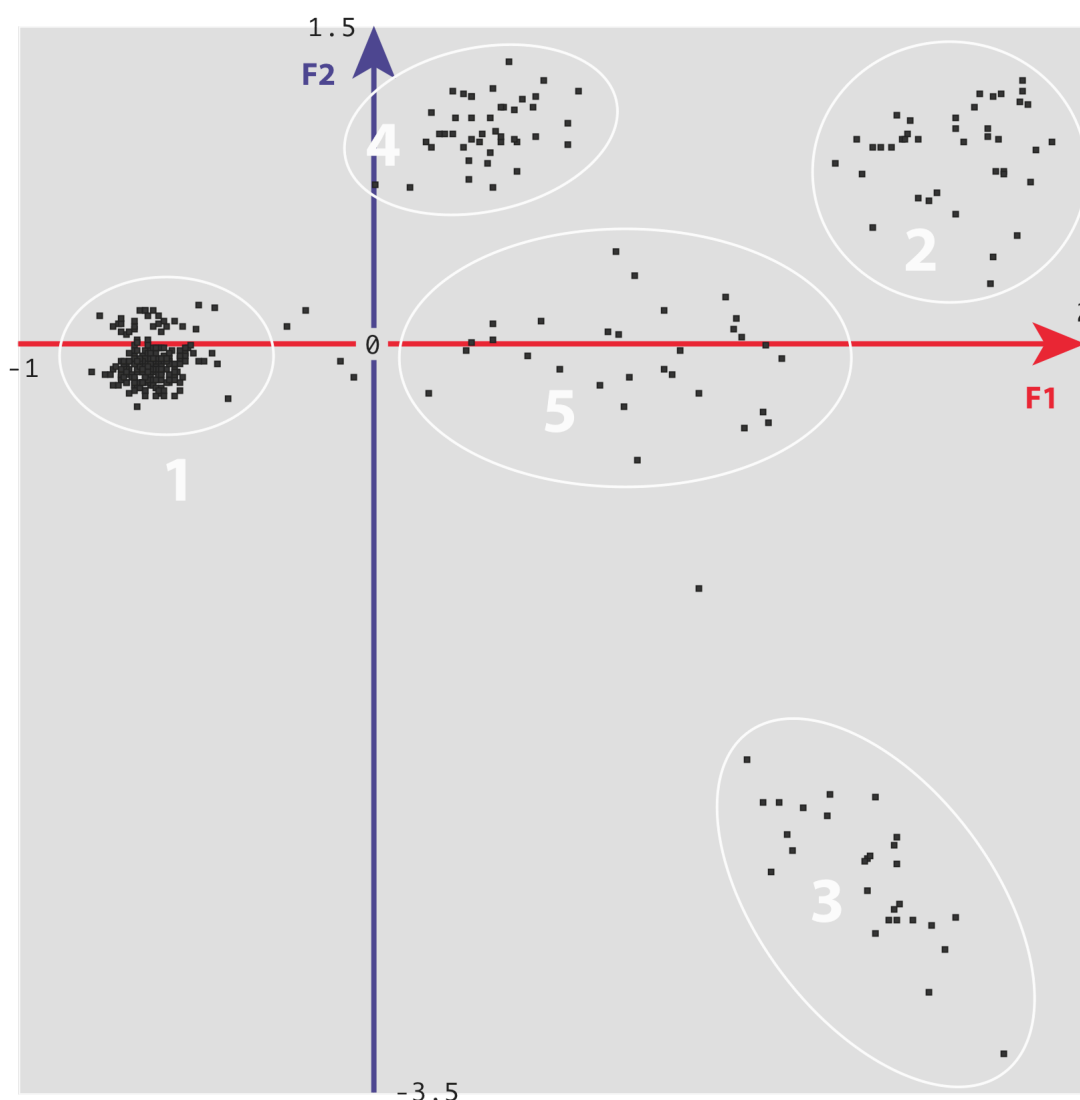


Figure 3 : Analyse factorielle des correspondances des profils génétiques microsatellites de 322 ombres de différentes origines. Plan factoriel F1xF2 global (chaque point correspond à un individu) (les ellipses ne sont que des regroupement visuels faits à main levée)

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 3). Ici, le premier plan factoriel F1xF2 fait apparaître une nette hétérogénéité dans la distribution des individus. On aperçoit cinq amas que nous avons visualisés par des ellipses (figure de gauche). Sur le premier axe factoriel (horizontal en rouge), on note un amas très dense d'individus en négatif (à gauche par rapport au centre d'équilibre du plan, le zéro) qui contrebalance tous le reste des individus en position positive sur le même axe. Ces derniers se répartissent en 4 groupes sous l'effet combiné des facteurs 1 et 2, avec un groupe 5 en position intermédiaire par rapport aux quatre autres. Pour mieux interpréter ce plan factoriel, nous l'avons décomposé suivant l'origine géographique des individus : Allier, Loire, Ance, Alagnon, Besse, Ain, Rhin, Danube (figure 4). Celle-ci

montre que l'amas principal est fait de la superposition de tous les individus du bassin de la Loire (Allier-Loire-Ance), à l'exception de ceux de l'Alagnon en position centrale. Les groupes périphériques correspondent aux populations extérieures, Danube, Rhin Ain, tandis que la population en position intermédiaire s'avère être celle de la pisciculture de Besse-en-Chandesse.

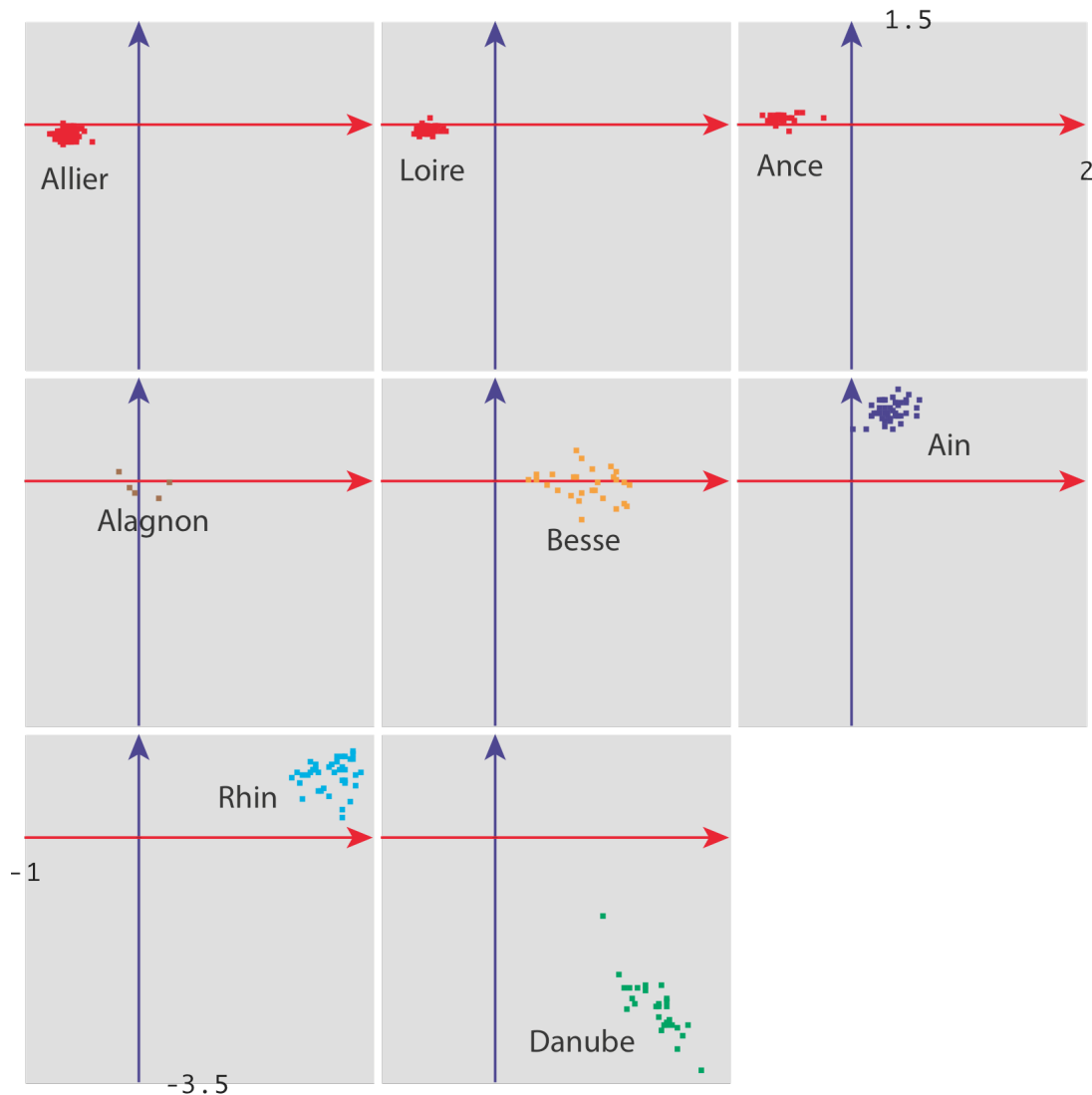


Figure 4 : Analyse factorielle des correspondances des profils génétiques microsatellites de 322 ombres de différentes origines. Plan factoriel F1xF2 décomposé en 8 sous-ensembles populationnels selon les origines géographiques.

L'examen des axes suivants (fig. 5) permet de décomposer l'amas ligérien en trois entités assez bien définies selon l'axe 3 en vert, Allier, Loire et Ance du Nord, et à distinguer quelque peu la branche Loire-Ance de la branche Allier sur l'axe 4, tandis que la population de Besse se trouve ramenée au centre de l'analyse en compagnie des quelques individus de l'Alagnon.

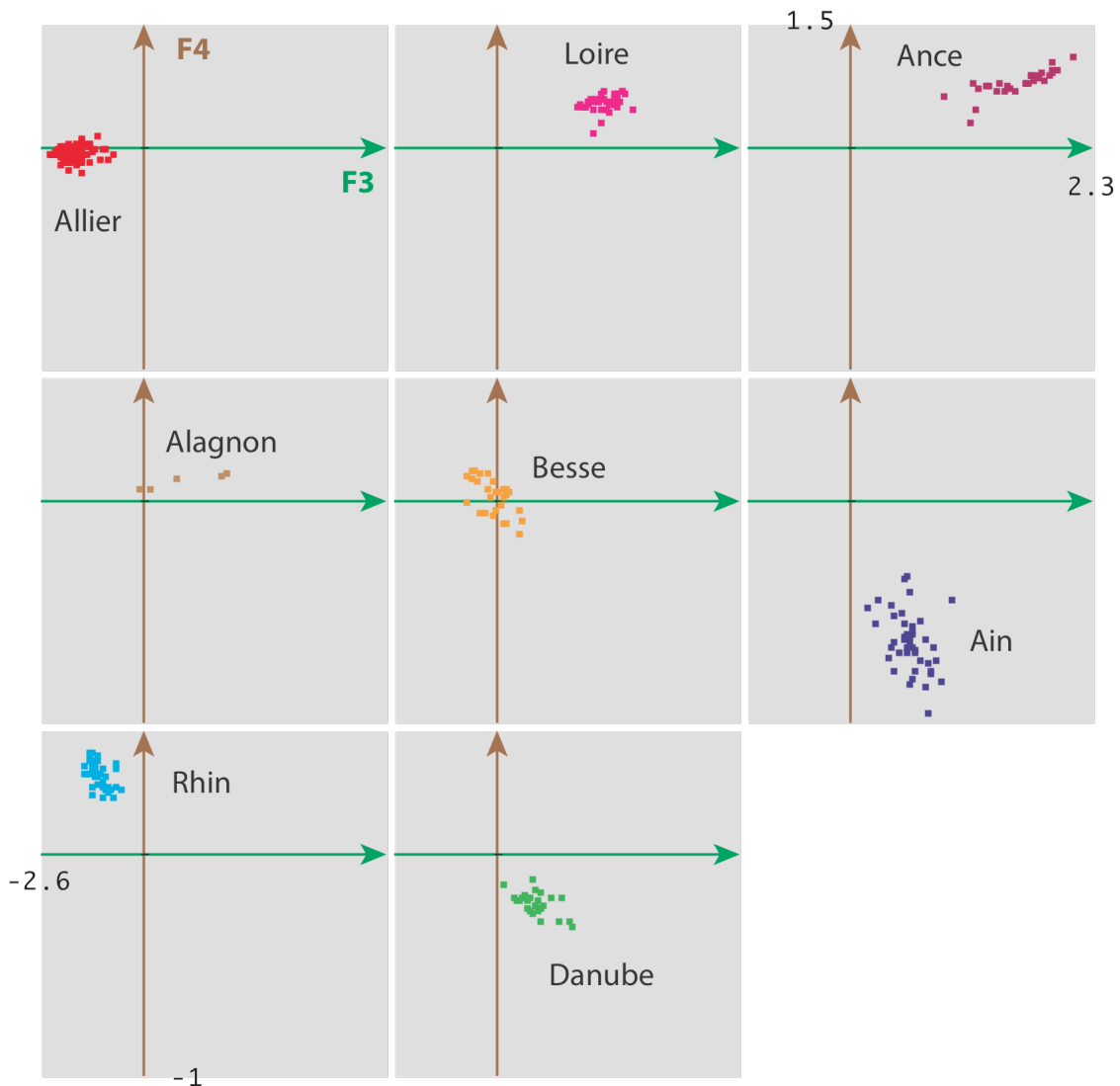


Figure 5 : Analyse factorielle des correspondances des profils génétiques microsatellites de 362 ombres de différentes origines. Plan factoriel F3xF4 décomposé selon les origines géographiques.

Afin de tester la pertinence de la partition en populations telle qu'elle transparait dans l'analyse précédente, nous avons traité ce même jeu de données avec le logiciel Structure. L'analyse découpe successivement et arbitrairement le jeu de données en deux, trois, quatre, K groupes d'individus selon leurs génotypes, et teste la pertinence de ce découpage, tout en mettant en évidence le degré d'apparentement de chaque individu à chaque groupe. En sortie graphique, chaque individu se voit attribuer une ou plusieurs couleurs selon la proportion de traits génétiques susceptibles d'être rapportés à un ou plusieurs groupes.

Les valeurs du Delta K (tableau V) indiquent que la partition de loin la plus pertinente est celle en 10 groupes. La figure 6 permet de visualiser ces groupes tout en les rapportant à leur lots ou stations d'origine. S'il y a une cohérence évidente entre origine et appartenance à un groupe, ce n'est pas toujours le cas. Le groupe dominant dans le jeu de données (en bleu-gris) se retrouve de façon hégémonique dans toutes les stations de l'Allier, mais il n'apparaît que partiellement sur l'Espézonnette où l'on

observe un génotype particulier en jaune. La majorité des autres groupes se rapportent à des stations/populations précises avec quasiment un seul génotype à chaque fois, à deux exceptions près : Besse-en-Chandesse et Alagnon avec co-existence de deux génotypes contrastés, dont l'un en violet commun aux deux. Le second génotype de Besse (en rouge) ne se retrouve pratiquement nulle part ailleurs, tandis que le second de l'Alagnon (en vert) s'avère curieusement être le génotype dominant sur l'Ance de Nord. En dehors de ce dernier, l'Ance du Nord présente également des traces du génotype mauve de la Loire, du génotype violet Besse-Alagnon, et même une vague trace du génotype rouge de Besse. Si la présence du premier peut s'expliquer par des relations de proximité, celle des deux autres apparaît plus suspecte. Le dixième groupe en gris s'observe seulement chez quelques individus ayant une composante génétique inclassable, mais d'aspect allochtone puisqu'observé sur le Kohlenbach et les échantillons de pisciculture d'Obenheim et Besse.

Tableau V : Statistiques de la pertinence de la partition selon les différentes valeurs de K dans l'analyse Structure.

K	Reps	Mean LnP(K)	Stdev LnP(K)	Ln'(K)	Ln''(K)	Delta K
1	3	-20958,50	0,60	NA	NA	NA
2	3	-17827,60	90,08	3130,90	1138,57	12,64
3	3	-15835,27	129,18	1992,33	706,73	5,47
4	3	-14549,67	173,73	1285,60	727,00	4,18
5	3	-13991,07	374,68	558,60	288,30	0,77
6	3	-13144,17	37,40	846,90	494,13	13,21
7	3	-12791,40	198,85	352,77	536,53	2,70
8	3	-12975,17	108,95	-183,77	230,67	2,12
9	3	-12928,27	281,06	46,90	316,10	1,12
10	3	-12565,27	102,52	363,00	13033,67	127,13
11	3	-25235,93	22058,96	-12670,67	24856,53	1,13
12	3	-13050,07	1058,03	12185,87	23818,07	22,51
13	3	-24682,27	20868,38	-11632,20	22921,33	1,10
14	3	-13393,13	1634,89	11289,13	12087,20	7,39
15	3	-14191,20	1113,37	-798,07	2084,17	1,87
16	3	-12905,10	454,04	1286,10	1786,90	3,94
17	3	-13405,90	1052,60	-500,80	35,93	0,03
18	3	-13942,63	1476,73	-536,73	1487,17	1,01
19	3	-15966,53	5532,83	-2023,90	3767,13	0,68
20	3	-14223,30	1440,82	1743,23	NA	NA

A l'échelle de perception procurée par cette analyse, il apparaît bien que les populations de Haute-Loire n'ont aucun rapport de parenté avec les populations issues des autres bassins. L'ensemble de l'axe Allier héberge une population homogène malgré la présence du barrage de Poutès et une petite différenciation locale (anecdotique ?) au niveau de l'Espézonnette. Côté Loire, la situation apparaît plus contrastée puisque l'Ance du Nord aval se distingue nettement de la Loire, mais ses traces d'affinités avec les populations de Besse et de l'Alagnon posent question. Enfin la population-échantillon de Besse apparaît fondamentalement hétérogène. Elle est faite d'un mélange très imparfait d'un génotype ligérien (Alagnon±Ance ?) avec un génotype clairement étranger dont on sait par l'ADN mitochondrial qu'il est de type danubien, mais que les microsatellites nous disent ne pas être identique à celui de la population du Kohlenbach.

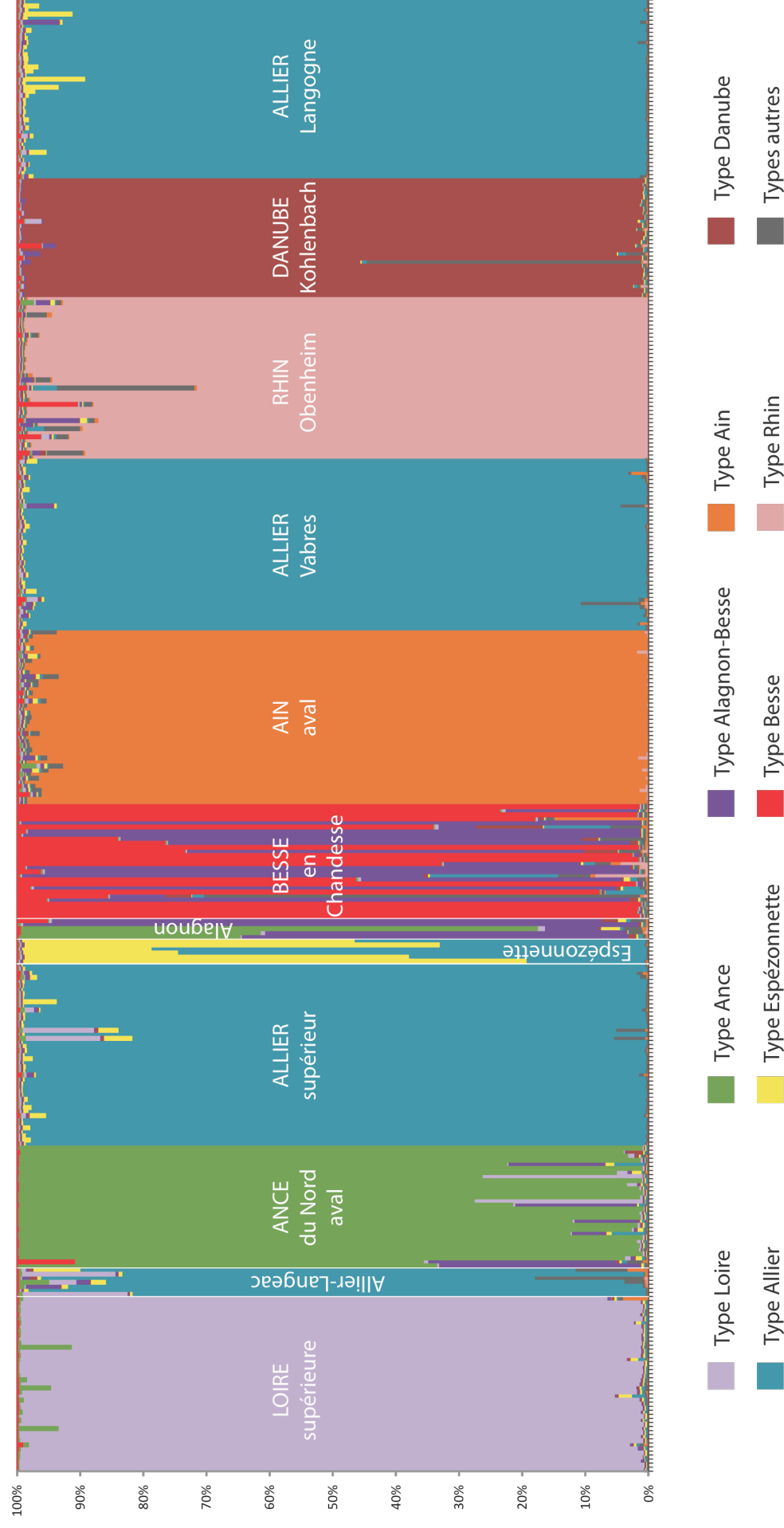


Figure 6 : Aperçu graphique des résultats de la classification des 362 profils génétiques individuels avec le logiciel Structure, pour la partition en 10 groupes. Chaque barre verticale correspond à un individu et sa couleur à son génotype : le degré d'appartenance de chaque individu à un ou plusieurs groupes se voit à sa couleur homogène ou plus ou moins hétérogène. Les individus sont classés par origine et par stations d'échantillonnage (4 stations pour l'axe Allier).

L'efficacité avec laquelle l'analyse des microsatellites sépare les individus des différentes populations du bassin de la Loire indique que la plupart ont une identité propre. Le calcul des distances génétiques F_{st} (tableau VI) fait même ressortir des distances significatives entre les populations de l'Allier, les valeurs pour Langeac n'étant pas très fiables vu le faible nombre d'individus analysés. La population de Langogne se trouve naturellement à une distance génétique intermédiaire (0,029 et 0,022) entre les deux les plus éloignées géographiquement et génétiquement (0,047), Allier amont (Pranlac+Espézonnette+Pêcheurs) et Vabres. Avec très peu d'individus analysés sur l'Alagnon, il est difficile de se prononcer, mais tout en conservant une distance génétique très significative, c'est avec les populations de Langeac et surtout de Besse que les distances sont les plus faibles. Enfin, en dehors de l'Alagnon, c'est avec la population du Danube que l'échantillon de Besse présente le moins de différence, ce qui rapproche le lot de l'Alagnon de celui du Danube.

Tableau VI : Estimation des distances génétiques F_{st} prises deux à deux entre les populations considérées (haut-allier groupées).

POPULATIONS	N	ALLIER L-P-E	ALLIER Langogne	ALLIER Vabres	ALLIER Langeac	ALAGNON Pt du Vernet	LOIRE amont	ANCE aval	BESSE	AIN aval	OBNENHEIM Rhin
ALLIER L-P-E	51	0									
ALLIER Langogn	44	0.029***	0								
ALLIER Vabres	42	0.047***	0.022***	0							
ALLIER Langeac	7	0.008	0.029*	0.046**	0						
Alagnon	5	0.215***	0.192***	0.181***	0.168**	0					
Loire amont	43	0.307***	0.280***	0.291***	0.261***	0.218***	0				
Ance aval	30	0.366***	0.341***	0.330***	0.349***	0.201***	0.285***	0			
Besse	29	0.237***	0.219***	0.226***	0.187***	0.066**	0.225***	0.269***	0		
Ain aval	43	0.353***	0.343***	0.351***	0.324***	0.236***	0.327***	0.365***	0.201***	0	
Obenheim	40	0.362***	0.349***	0.349***	0.322***	0.216***	0.343***	0.370***	0.167***	0.264***	0
Danube	29	0.345***	0.309***	0.311***	0.304***	0.181***	0.320***	0.343***	0.160***	0.290***	0.272***

*** $p < 0.001$; ** $p < 0.01$; * $p < 0.05$

Diversité génétique des populations de Haute-Loire

Pour affiner notre échelle de perception, nous avons procédé aux mêmes analyses, mais sur les seules populations du bassin de la Loire, soit sur 222 individus.

Le premier facteur de l'analyse factorielle des correspondances sépare clairement les populations de la branche Loire (Loire et Ance) de la branche Allier, à une exception près, l'Alagnon (figure 7). Le second facteur quant à lui distingue l'Ance de la Loire tout en rappelant l'affinité entre l'Ance et l'Alagnon avec toutefois des individus très dispersés. Sinon, les populations de l'Allier restent bien groupées au même endroit dans le plan factoriel.

Le tableau affiné des distances génétiques (Tab. VII) fait néanmoins ressortir des différences significatives entre les populations de l'Allier, mais la puissance de discrimination des données microsatellites peut conduire à ce genre de résultats simplement par effet échantillon dès lors qu'il y a une certaine parenté locale (effet famille). Le fait que ce soit l'échantillon des pêcheurs, c'est à dire celui ne provenant pas d'un endroit mais de différents coins, qui apparaisse le plus proche de tous les autres traduit bien ce phénomène.

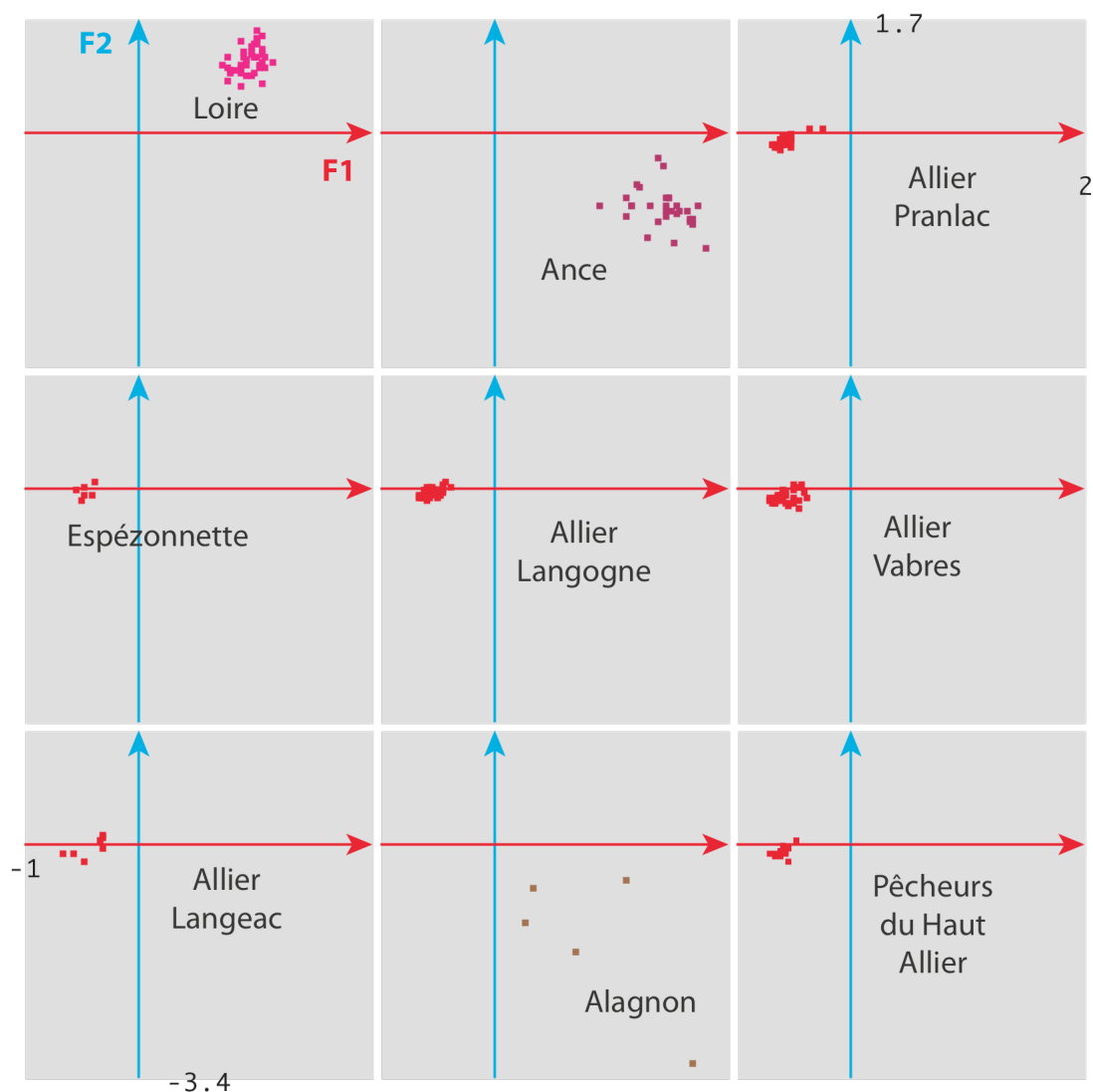


Figure 7 : Analyse factorielle des correspondances des profils génétiques microsatellites de 222 ombres capturés sur le bassin Loire Allier. Plan factoriel F1xF2 décomposé selon les stations de prélèvements.

Tableau VII : Distances génétiques F_{st} entre les échantillons populationnels du bassin de la Loire.

POPULATIONS		Pranlac	HAUT ALLIER Espézonnette	Pêcheurs	ALLIER Langogne	ALLIER Vabres	ALLIER Langeac	ALAGNON Pt du Vernet	ANCE aval
Pranlac	30	0							
Espézonnette	6	0.185***	0						
Pêcheurs	15	0.035**	0.172***	0					
Langogne	44	0.060***	0.147***	0.015*	0				
Vabres	42	0.059***	0.180***	0.010	0.036***	0			
Langeac	7	0.054**	0.160**	0.085***	0.105***	0.071***	0		
Alagnon	5	0.214***	0.178**	0.214***	0.158***	0.164***	0.157**	0	
Ance aval	30	0.394***	0.397***	0.400***	0.353***	0.358***	0.367***	0.178***	0
Loire amont	43	0.355***	0.307***	0.346***	0.310***	0.326***	0.304***	0.191***	0.266***

L'analyse Structure fait apparaître une décroissance régulière de la pertinence des partitions de 2 à 4 groupes, avant de s'effondrer pour les suivantes, puis de remonter nettement pour l'hypothèse de partition en 10 groupes (tableau VIII).

Tableau VIII : Statistiques de la pertinence de la partition des seules populations du bassin de la Loire selon les différentes valeurs de K dans l'analyse Structure.

K	Reps	Mean LnP(K)	Stdev LnP(K)	Ln'(K)	Ln''(K)	Delta K
1	3	-9210,23	0,65	NA	NA	NA
2	3	-7303,97	1,04	1906,27	1392,13	1337,52
3	3	-6789,83	0,70	514,13	369,47	526,02
4	3	-6645,17	1,04	144,67	104,73	100,62
5	3	-6605,23	32,66	39,93	53,27	1,63
6	3	-6512,03	3,35	93,20	16,33	4,88
7	3	-6435,17	10,81	76,87	34,40	3,18
8	3	-6392,70	22,17	42,47	1375,37	62,04
9	3	-7725,60	2458,60	-1332,90	2758,23	1,12
10	3	-6300,27	10,16	1425,33	1411,33	138,89
11	3	-6286,27	53,84	14,00	63,13	1,17
12	3	-6335,40	30,96	-49,13	8,17	0,26
13	3	-6392,70	88,26	-57,30	135,37	1,53
14	3	-6314,63	37,67	78,07	138,03	3,66
15	3	-6374,60	77,18	-59,97	NA	NA

La partition en 2 groupes correspond à la divergence principale Loire/Allier, avec toujours l'exception Alagnon (figure 8). La partition suivante en 3 groupes extrait l'Ance (en jaune) du groupe Loire tout en laissant l'Alagnon associé. Cette association perdure avec la partition en 4 groupes qui se contente d'extraire de l'ensemble Allier un sous-groupe (en vert) présent un peu partout mais peu fréquent à Langogne. Enfin, celle en 10 groupes aboutit à une image très complexe que nous avons décomposée dans la figure 9.

Le premier groupe correspond toujours au génotype Loire dont on retrouve quelques traces sur l'Ance. Le second groupe correspond au génotype Ance présent également de façon notable chez deux individus de l'Alagnon. Le troisième est essentiellement présent sur l'Espézonnette. Le quatrième est commun à tout l'Allier mais plus abondant sur le haut Allier. Le cinquième est plus spécifique du haut Allier quoique bien représenté à Langeac. Les groupes 6 et 7 sont plus spécifiques du secteur de Vabres, et les 8 et 9 de celui de Langogne. Enfin, le groupe 10 s'observe plus particulièrement sur le bas Allier et l'Alagnon.

L'impression générale qui en résulte est l'existence d'une assez forte complexité génétique avec des particularismes locaux sur l'axe Allier comparativement à ce que l'on peut observer sur la Loire ou l'Ance. Cela peut toutefois n'être que l'effet d'un échantillonnage plus étalé dans le temps et dans l'espace, mais tient plus probablement au fait que l'on doit avoir affaire à des populations tournant sur un plus grand nombre de géniteurs et sur un plus grand linéaire de cours d'eau.

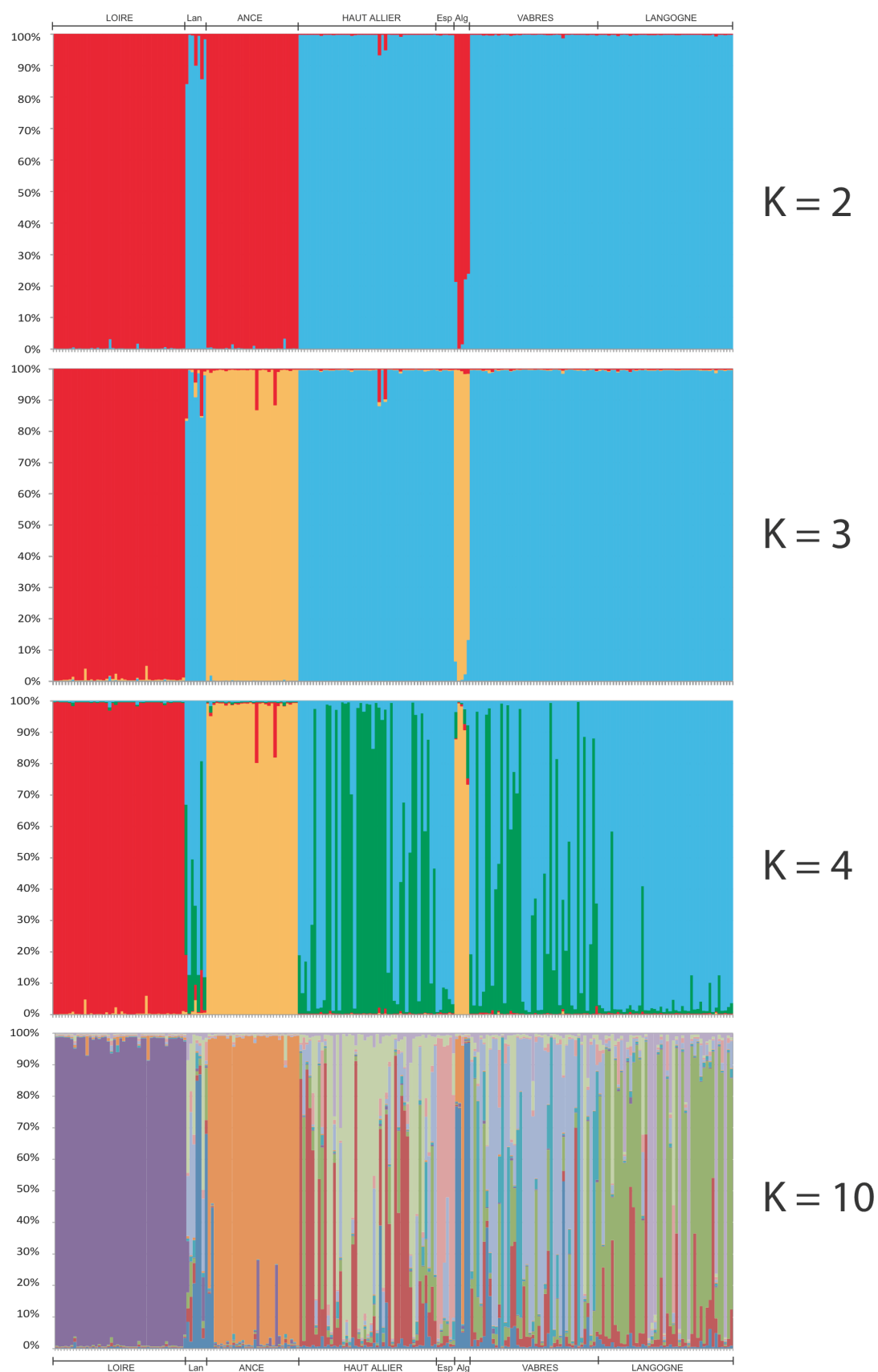
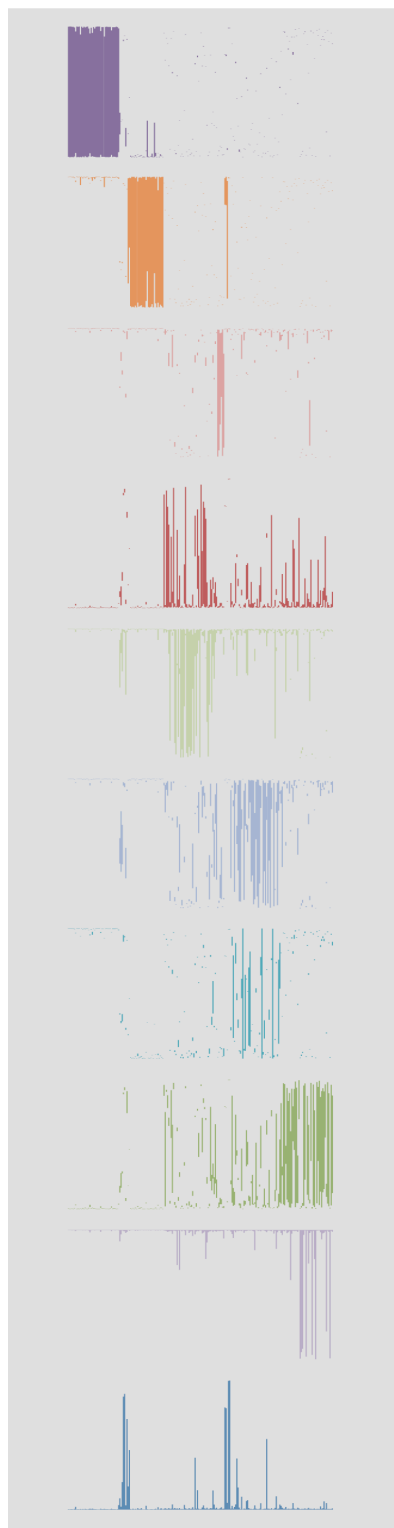


Figure 8 : Classification des 222 profils génétiques individuels des ombres de la Haute-Vienne avec le logiciel Structure selon les partitions en deux, trois, quatre et dix groupes.



1 - LOIRE (Ance)

2 - ANCE (Alagnon)

3 -ESPEZONNETTE

4 - HAUT ALLIER 1 (Vabres, Langogne)

5 - HAUT ALLIER 2 (Langeac, Vabres, Langogne)

6 - VABRES 1 (Langeac, Haut Allier)

7 - VABRES 2

8 - LANGOGNE 1 (Vabres, Haut Allier))

9 - LANGOGNE 2

10 - LANGEAC-ALAGNON (Vabres)

Figure 9 : Image de la classification en dix groupes décomposée par groupe.

Structure génétique de l'échantillon d'alevins de Besse en Chandesse

L'aspect hétérogène de l'échantillon de la pisciculture fédérale de Besse en Chandesse nous a semblé devoir nécessiter une analyse en propre.

L'analyse factorielle des correspondances des 29 profils microsatellites disponibles fait apparaître une structure assez élatée dans le plan factoriel F1xF2 (figure 10). 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.

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 mitochondrial 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 de poissons danubiens avec des poissons ligériens.

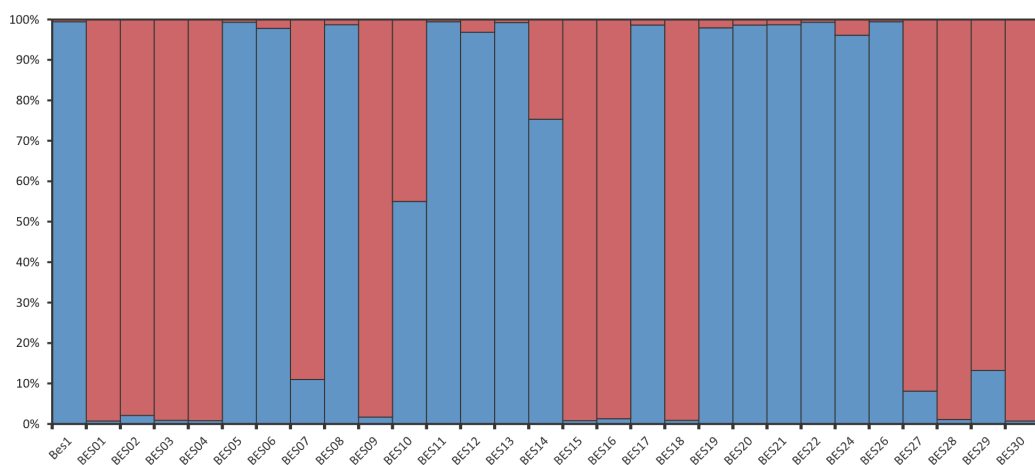
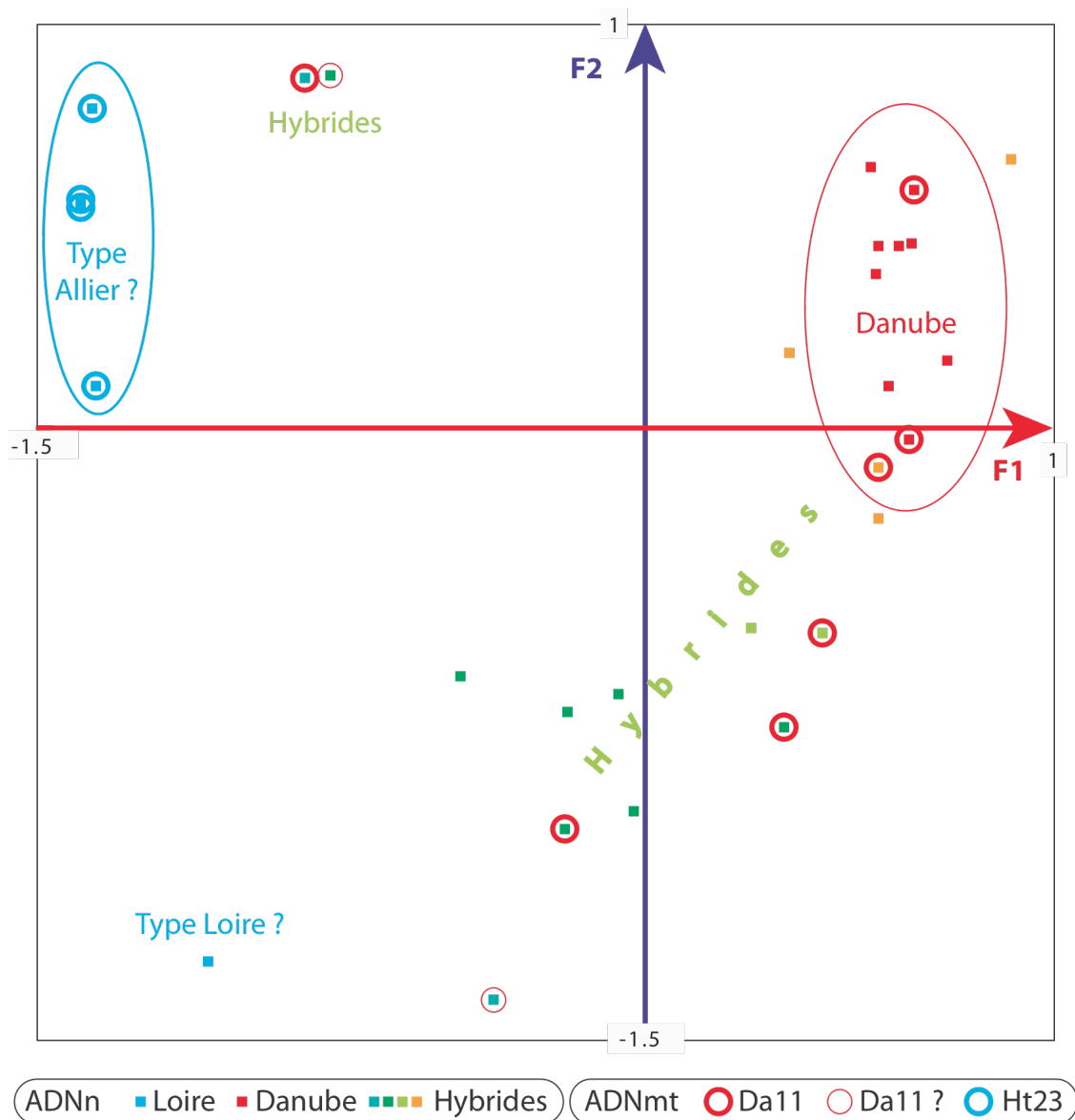


Figure 10 : Analyse factorielle des correspondances sur les profils génétiques microsatellites de 29 individus de Besse en Chandesse et haplotypes associés) et profils microsatellites des mêmes individus selon l'unique partition en deux groupes retenue par l'analyse Structure.

Conclusion :

L'analyse génétique des populations d'ombre commun de Haute-Loire selon deux types de marqueurs congruents (ADN nucléaire et ADN mitochondrial) montre qu'elles présentent toutes un profil typiquement ligérien, mais avec des composantes originales selon les rivières examinées. Cela permet d'affirmer que l'on a affaire à des populations natives spécifiques à chacune d'elles. Les différences génétiques entre stations successives le long de l'Allier apparaissent faibles, seule celle de l'aval se différenciant peut-être un peu, en liaison avec la principale population limitrophe, celle de son affluent l'Alagnon, mais le nombre très réduits d'individus examinés ne permet pas de se prononcer.

La population de la Loire en amont du Puy apparaît la plus appauvrie du point de vue génétique. Sa situation démographique mériterait d'être surveillée de près, et il conviendrait d'améliorer la connectivité avec les affluents locaux pour lui donner plus de chances de surmonter un accident de type pollution sur l'axe principal, beaucoup de ces bas cours pouvant constituer des zones refuges, ne serait-ce que pour les juvéniles.

La recherche d'une influence des alevinages sur la génétique des populations locales s'est avérée plutôt négative. Si on perçoit bien une contribution ligérienne dans la souche de Besse-en-Chandesse, la réciproque n'est pas vraie, sa composante danubienne, pourtant dominante, ne se retrouvant nulle part dans les rivières de Haute-Loire. Tout se passe comme si les populations locales étaient génétiquement étanches à tout apport extérieur. Toutefois, la parenté relevée entre certains ombres de l'Alagnon et ceux de l'Ance aval pose problème : on peut se demander si cette parenté ne serait pas dû à des transferts entre ces deux cours d'eau. Vu que l'Ance aval est néanmoins classée prioritairement avec la Loire dans toutes les analyses, si transfert il y a eu, ce serait dans le sens Ance -> Alagnon, mais les données ne reposent que sur un très peu nombre d'individus (5 juvéniles !) et génétiquement très hétérogènes. Une autre explication possible serait que ces deux populations partagent entre elles quelques gènes danubiens qui induiraient cette parenté dans les analyses. Pour savoir à quoi s'en tenir, il serait nécessaire de procéder à une étude approfondie du réseau hydrographique de l'Alagnon (Alagnon-Allanche-Sianne), à cheval sur trois départements dans la mesure où il héberge sans doute la plus grosse population d'ombre commun de tout le bassin de la Loire. Logiquement la diversité génétique devrait y être naturellement plus élevée qu'ailleurs. Le mieux serait de la mener parallèlement à l'inventaire approfondie de la production de Besse-en-Chandesse dans la mesure où celle-ci est censée en descendre. En effet, si le lot examiné s'est avéré fortement chargé en gènes danubiens, cela ne permet pas de préjuger du reste de la production de cette pisciculture l'année en question (cohorte 2011), et a fortiori les années précédentes. Il faudrait d'ailleurs y adjoindre la population de l'Ance amont, séparée de l'aval par le barrage de Passouira.

Enfin, il serait intéressant de voir de quoi il en retourne pour les rivières où les populations sont les plus clairsemées, Sénouire et surtout Lignon du Velay, qui elles, pourraient être plus issues des alevinages, mêmes si elles se maintiennent désormais sans depuis une dizaine d'années.

En résumé, cette étude permet d'ores et déjà d'affirmer que les populations d'ombres communs de la Haute-Loire appartiennent à des souches locales natives à forte valeur patrimoniale, non renouvelables en cas de disparition. Celles-ci méritent donc une politique de protection en conséquence, en mettant notamment un terme à toute opération de soutien artificiel avec des souches extérieures, et même avec des souches d'une autre branche du bassin de la Loire. D'ailleurs, même pour ce qui est du

soutien local avec des souches locales, on est en droit de se demander si cela en vaut vraiment la peine, d'autant que cela peut comporter un certain risque sanitaire pour les populations natives.

La politique de protection de l'espèce doit donc être plutôt orientée sur la reconquête d'un habitat et d'une eau de qualité (effacement des petits barrages, passes à poissons adaptées aux ombres, amélioration des débits réservés, maîtrise des vidanges des gros barrages).

Si des transferts de populations s'avéraient néanmoins nécessaires, ils ne devraient se faire qu'au sein de chaque branche, Allier et Loire, et de façon parfaitement contrôlée sur le plan génétique.

Références

- Barry, S., 2009 : *Historique des populations d'ombres commun, Thymallus thymallus (L.1758), sur le bassin de l'Isère, suivi de la fraie et de l'émergence des alevins sur la Bourne*. Rapport Master 1 BEE, Université de Grenoble, 15p.
- 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.
- Caudron A. 2008. Etude pluridisciplinaire des populations de truite commune (*Salmo trutta* L.) des torrents haut-savoyards soumises à repeuplements : diversité intra-spécifique, évaluation de pratiques de gestion et ingénierie de la conservation de populations natives. PhD Thesis, Univ. Savoie, 295p.
- Freyheit S., 2010. L'Ombre Commun dans le département des Vosges : Etat des lieux, projets associés et perspectives pour la gestion de l'espèce. Rapport Licence Professionnelle Aquaculture, Université de Savoie, Chambéry, FNPF-FDP88, 96p.
- 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/software/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.
- Miller, S.A., Dykes, D.D., and Polesky H.F. 1988. A simple salting out procedure from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*, **16**: 1215.
- Nicolas, S. 2013. Données actualisées relatives à l'ombre commun dans le département de la Haute-Loire. Fédération de Pêche de la Haute-Loire. Note, 16p.
- 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., Nicolas S., Peyronnet V., Prouha V. 2012 : Etude de la population d'ombre commun sur la bassin du Haut-Allier. Rapport technique de Phase III de l'Université Claude Bernard Lyon-1 et des Fédérations de Pêche 07, 43, 48 auprès de la FNPF, 45p.
- 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 (ADN_{mt})

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'ADN_{mt} 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 répliqués).

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_o) 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 trois premiers axes ont été conservés. Un code couleur 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-populations (« clusters », classes), en assignant les individus à des groupes en équilibre de Hardy-Weinberg, sans information *a priori* sur leur appartenance à une population.

Bilan des alevinages en ombres communs pratiqués dans le département de la Haute-Loire depuis 1996

AAPMA		Quantités déversées (en nombre d'individus : juvéniles d'automne (un été) ou d'un an révolu surlignés en jaune)														
		1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Contexte piscicole = Allier amont (espèce repère = TRF ; salmonicole conforme)																
Le Puy-en-Velay		0	0	0	0	3000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total		0	0	0	0	3000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Contexte piscicole = Allier moyen (espèce repère = cyp. rhéophyles ou OBR ; intermédiaire conforme ou perturbé)																
Chanteuges		1000	2000	1000	1500	1500	1000	0	1000	0	0	0	0	1000	0	2000
Langeac		3000	6000	0	5000	6000	5000	3000	5000	5000	0	0	5000	5000	0	5000
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	8000	5000 (?)	0	0	0	0
Villeneuve-d'Allier		1000	1500	0	1000	1500	2500	1000	1000	0	0	0	0	0	0	1000
Brioude		1500	1250	0	1000	1500	500	1000	1000	1000	1000	500	750	0	0	1000
Total		6500	10750	1000	8500	10500	9000	5000	8000	6000	9000	5500	5750	6000	0	9000
Contexte piscicole = Allier aval (espèce repère = BRO ; cyprinicole perturbé)																
Brioude		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1000	500	750	0	0	1000
Sainte-Florine		1000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total		1000	0	0	0	0	0	0	0	0	1000	500	750	0	0	1000
Contexte piscicole = Ance du Sud amont (espèce repère = TRF ; salmonicole conforme)																
Saugues		2000	2000	1000	2000	2000	1000	1000	1000	0	0	0	0	0	0	1000
Total		2000	2000	1000	2000	2000	1000	1000	1000	0	0	0	0	0	0	1000
Contexte piscicole = Senouire aval (espèce repère = TRF ; salmonicole conforme)																
Brioude		1500	1250	0	1500	1000	500	1000	1000	1000	0	0	500	0	0	0
Paulhaguet		500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total		2000	1250	0	1500	1000	500	1000	1000	1000	0	0	500	0	0	0
Commandés directement par l'APPMA																
TOTAL BV ALLIER		11500	14000	2000	12000	16500	10500	7000	10000	7000	10000	6000	7000	6000	0	11000
Contexte piscicole = Allagnon (espèce repère = TRF ; salmonicole conforme)																
Blesle		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lempdes		1000	1000	0	2000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	0	1000	1000	0	1000
Charbonnier-les-Mines		0	0	0	0	0	0	0	0	1000	0	0	0	0	0	0
TOTAL BV ALLAGNON		1000	1000	0	2000	1000	1000	1000	1000	2000	1000	0	1000	1000	0	1000

^

====>

Contexte piscicole = Loire amont (espèce repère = TRF ; salmonicole conforme)													
Le Puy-en-Velay	1200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Goudet-Arlempdes	1000	1000	0	1500	2000	0	0	0	0	0	1000	0	0
Solignac-sur-Loire	1000	2500	0	4000	1500	1000	1000	1000	1000	1000	2000	0	4000
Total	3200	3500	0	5500	3500	1000	1000	1000	1000	1000	3000	0	5000
Contexte piscicole = Loire aval (espèce repère = cyp. rhéophyles ou OBR ; intermédiaire conforme ou perturbé)													
Le Puy-en-Velay	0	1500	0	6000 ⁽¹⁾	2000 ⁽²⁾	2000 ⁽²⁾	2000	2000	0	0	0	0	0
Total	0	1500	0	6000	2000	2000	2000	2000	0	0	0	0	0
Contexte piscicole = Lignon amont (espèce repère = TRF ; salmonicole conforme)													
Tence	0	0	0	0	2000	2000	2000	2000	0	0	0	0	0
Total	0	0	0	0	2000	2000	2000	2000	0	0	0	0	0
Contexte piscicole = Lavalette : levée Morin (espèce repère = BRO ; cyprinicole perturbé)													
AAPPMA / FBPMA	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	0	0	0	0	0
Total	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	0	0	0	0	0
Contexte piscicole = Lignon aval (espèce repère = TRF ; salmonicole perturbé à conforme ?)													
Yssingaux	5000	4800	750	7000	5000	3000	3000	3000	3000	3000	0	0	0
Sainte-Sigolène	3000	2000	500	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	0	0	0
Total	8000	6800	1250	9000	7000	5000	5000	5000	5000	5000	0	0	0
Contexte piscicole = Dunière (espèce repère = TRF ; salmonicole perturbé)													
Sainte-Sigolène	0	0	0	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	0	0	0
Total	0	0	0	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	0	0	0
Contexte piscicole = Ance du Nord amont (espèce repère = TRF ; salmonicole conforme)													
Craponne-sur-Arzon	500	1000	0	2000	0	0	1000	0	0	0	0	0	0
Retournac	1000	0	0	1000	1250	500	500	500	500	500	0	0	0
Total	1500	1000	0	3000	1250	500	1500	500	500	500	0	0	0
Contexte piscicole = Ance du Nord aval (espèce repère = TRF ; salmonicole perturbé)													
Retournac	2500	3000	0	1000	1250	1500	500	500	500	500	0	0	0
Total	2500	3000	0	1000	1250	1500	500	500	500	500	0	0	0

(1) dont 3000 OBR en aval du Puy-en-Velay ; (2) en aval du Puy-en-Velay

TOTAL BV LOIRE	17200	17800	3250	27500	18000	15000	11000	10000	1000	3000	2000	0	5000
-----------------------	--------------	--------------	-------------	--------------	--------------	--------------	--------------	--------------	-------------	-------------	-------------	----------	-------------

TOTAL DEPARTEMENT	29700	32800	5250	41500	35500	26500	23000	19000	12000	9000	10000	7000	17000
--------------------------	--------------	--------------	-------------	--------------	--------------	--------------	--------------	--------------	--------------	-------------	--------------	-------------	--------------

Lieux des déversements 2004 OBR 1 été :

- * BV Allagnon - AAPPMA Lempdes : amont et/ou aval barrage centrale électrique de Chambezon
- * BV Allier - AAPPMA Brioude : Tapon & aval barrage Bageasse
- * BV Loire - AAPPMA Chadron : Le Mazel (1^{ère} catégorie) à la Planche (2^{ème} catégorie)

