



KARL-FRANZENS-UNIVERSITÄT  
GRAZ



Institut für Zoologie



## Impact des alevinages en ombre commun sur la Bourne en aval du barrage d'Auberives : comparaison génétique entre population naturelle et populations introduites

Henri PERSAT \*, Karin MATTERS-DORFER \*\*, Kathrin WINKLER \*\*, 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



2014





Figure 1 : Basse Bourne : plan de situation - Aire de répartition de l'ombre commun dans la Bourne et la Lyonne (en rouge) et dans le canal de la Bourne (en jaune); stations de prélèvements (fond de carte IGN-Géoportail).

Photo de couverture : spécimen de 26,1 cm capturé sur la Bourne à Pont de Manne le 12 septembre 2012

## 1. 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 très récente des méthodes d'analyse moléculaire, nous disposons aujourd'hui d'outils très performants, modernes, nous permettant d'appréhender des disfonctionnements au sein des populations à des échelles de temps et d'espace relativement réduites (Grès et al. 2006).

Une première étude menée pour le compte de la Fédération de pêche de la Drôme à partir de spécimens capturés dans le canal d'Auberives nous avait permis de mettre en évidence le caractère tout à fait patrimonial de la population en question. Toutefois, cette conclusion ne concernait en fait que la partie de la population présente en amont du barrage de Auberives qui alimente ce canal (population de Pont en Royans), mais ne permettait pas de préjuger de ce qu'il pouvait bien exister dans la Bourne en aval de ce barrage, d'autant que le secteur fait l'objet régulièrement de rempoissonnements en Ombres de diverses origines.

Dans ce contexte, la présente étude vise à :

- **Vérifier la "valeur patrimoniale" de la population de la Bourne en aval du barrage d'Auberives comparativement à celle de l'amont sur la base des taux d'introgession de gènes exotiques ;**

- **Evaluer l'influence de la fragmentation du continuum aquatique que représente le barrage sur la structure génétique des populations ;**
- **Proposer, si nécessaire, des mesures de gestion appropriées aux caractéristiques génétiques des populations en place.**

Tableau I : Empoisonnements en Ombre commun dans la Bourne (données Fédérations de Pêche de l'Isère et de la Drôme)

| date          | nombre | stade    | remarques   | origine                |
|---------------|--------|----------|---|------------------------|
| 25/11/80      | 3000   | 1 été    | attribution CSP   |                        |
| 14/10/81      | 5500   | 1 été    | attribution CSP   |                        |
| 13/11/82      | 4200   | 1 été    | attribution CSP (3000)  |                        |
| année 1983    | néant  |          |   |                        |
| 22/10/84      | 3300   | 1 été    | attribution CSP (3000)  |                        |
| année 1985    | néant  |          |   |                        |
| 23/10/86      | 4000   | 1 été    | attribution CSP (3000)  |                        |
| 19/10/87      | 3000   | 1 été    | attribution CSP (3000)  |                        |
| 24/10/88      | 500    | 1 été    |   |                        |
| 02/11/89      | 3000   | 1 été    | attribution CSP (3000)  |                        |
| 27/10/90      | 1000   | 1 été    |   |                        |
| année 1991    | néant  |          |   |                        |
| année 1992    | néant  |          |   |                        |
| 28/10/93      | 3000   | 1 été    | attribution CSP (3000)  |                        |
| année 1994    | néant  |          |   |                        |
| année 1995    | néant  |          |   |                        |
| année 1996    | néant  |          |   |                        |
| année 1997    | néant  |          |   |                        |
| année 1998    | néant  |          |   |                        |
|               |        |          | <i>Le nombre de prises devenant de plus en plus faible il a été décidé de reprendre les campagnes de repeuplement</i> |                        |
| 04/11/99      | 3000   | 1 été    |   | Chauvey (pisciculteur) |
| 06/11/00      | 3000   | 1 été    |   | Chauvey (pisciculteur) |
| 29/11/01      | 3000   | 1 été    |   | Chauvey (pisciculteur) |
| 17/12/02      | 3000   | 1 été    |   | Chauvey (pisciculteur) |
| 28/11/03      | 3000   | 1 été    |   | Chauvey (pisciculteur) |
|               | 250    | 2 étés   | (aval confluent Lyonne)   | Chauvey (pisciculteur) |
| 21/10/04      | 3000   | 1 été    | (300 lac de Pont-en-Royans)   | Chauvey (pisciculteur) |
| 18/10/05      | 3000   | 1 été    | (300 lac de Pont en Royans)   | Chauvey (pisciculteur) |
| 26/10/06      | 3000   | 1 été    | <b>Uniquement en aval du barrage à partir de 2006</b>   | Chauvey (pisciculteur) |
|               | 981    | 1-2 étés | <b>récupération par pêche du canal de la Bourne</b>   |                        |
| 22/10/07      | 3000   | 1 été    |   | Chauvey (pisciculteur) |
| 23-25/10/2007 | 1096   | 1-2 étés | <b>récupération par pêche du canal de la Bourne</b>   | patrimoine             |
| 13-14/10/2008 | 1539   | 1-2 étés | <b>récupération par pêche du canal de la Bourne</b>   | patrimoine             |
| 23/10/08      | 3000   | 1 été    |   | Chauvey (pisciculteur) |
| 12/09/09      | 3000   | 1 été    |   | Besse Puy-de-Dôme      |
|               | 1574   | 1-2 étés | <b>récupération par pêche du canal de la Bourne</b>   | patrimoine             |
| 2010          | 3000   |          |   | Besse Puy-de-Dôme      |
| 15/10/10      | 1221   | 1-2 étés | <b>récupération par pêche du canal de la Bourne</b>   | patrimoine             |
| 2011          | 115    | 1-2 étés | <b>récupération par pêche du canal de la Bourne</b>   | patrimoine             |
| 23/10/08      | 3000   | 1 été    |   | Besse Puy-de-Dôme      |
| Juin 2012     | 1500   | 1 été    |   | Chauvey (pisciculteur) |
| Sept. 2012    | 1500   | 1 an     |   | Besse Puy-de-Dôme      |
| Oct. 2012     | 724    | 1-2 étés | <b>récupération par pêche du canal de la Bourne</b>   | patrimoine             |
| 2013          | 3000   |          |   | Chauvey (pisciculteur) |
| 15/10/10      | 864    | 1-2 étés | <b>récupération par pêche du canal de la Bourne</b>   | patrimoine             |

Limite amont : Confluent de la Vernaison (lac de Pont en Royans)

Limite aval : Confluent avec l'Isère

## **Contexte local :**

La population d'ombre commun de la Bourne occupe un linéaire de quelques kilomètres à la sortie du massif du Vercors, juste avant sa confluence avec l'Isère. Depuis la construction des barrages sur l'Isère, cette population n'a plus de relations avec les éventuelles populations subsistantes plus en amont sur le bassin de l'Isère. Elle est elle-même scindée en deux par le barrage de Auberives-en-Royans, avec une belle population en amont sur le tout petit parcours de Pont-en-Royans à l'entrée de la retenue, et une population plus clairsemée du pied du barrage de Auberives jusqu'à l'entrée de la retenue de Saint Hilaire du Rosier, en amont de Saint Nazaire, soit environ 5 km, plus le bas cours de son affluent, la Lyonne (Barry 2009). Il convient toutefois de signaler la présence régulière d'individus sur plusieurs kilomètres dans le canal d'irrigation de la Bourne alimentée depuis la retenue d'Auberives (figure 1).

Cette population a régulièrement fait l'objet d'opérations de soutien par alevinages depuis 1980, complétées ces dernières années par transfert dans la rivière des poissons récupérés dans le canal de la Bourne lors de sa mise en chômage technique hivernal (tableau I). Ces alevinages portent essentiellement sur le tronçon en aval du barrage d'Auberives qui souffre de débits réservés très faibles et d'une raréfaction des frayères.

## **Echantillonnage :**

Pour établir le profil génétique de la population d'ombre commun de la Bourne, en aval du barrage d'Auberives, le protocole prévoyait l'analyse de 40 individus.

Pour ce faire, nous avons profité des pêches effectuées par le bureau d'étude Asconit pour le compte du concessionnaire du barrage en septembre 2012. Une première pêche à Pont de Manne nous a permis de récupérer 18 échantillons, et une seconde en aval immédiat du barrage d'Auberives, 19, ce qui nous a permis d'approcher à peu près le total souhaité. La plupart de ces individus étaient des jeunes de l'année précédente (1+) mesurant environ 25 cm, soit une croissance plutôt bonne. Contrairement à ce que nous avons observé dans le canal d'Auberives, ici aucun poisson ne présentait de déformations de la colonne vertébrale.

Cet échantillonnage a été complété par deux lots d'alevins de pisciculture en provenance de la pisciculture de la Fédération de Pêche du Puy-de-Dôme à Besse-en-Chandesse (63) et de la pisciculture privée Chauvey à Appenans (25) qui correspondent aux stocks habituellement déversés dernièrement par la Société de Pêche "La Gaule Romaneise et Péageoise" (Tableau I).

Les échantillons sont constitués de prélèvements de bouts de nageoires, ou d'alevins complets, conservés dans des micro-tubes remplis d'alcool à 95° et expédiés au laboratoire autrichien pour analyses (voir l'annexe technique pour les détails).

## **Analyses génétiques**

Les analyses ont été effectuées par le Dr Karin Mattersdorfer et mises en relation avec les résultats antérieurs produits par Kathrin Winkler, le tout 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 résultats ont été contrôlés et interprétés par Henri Persat, de l'UMR 5023 de l'Université Lyon1.

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 de chaque lot;
- 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 sur l'ensemble des individus, à l'exception de quelques prélèvements s'étant avéré mauvais.

Pour situer la population de la Bourne aval par rapport aux populations avoisinantes, les résultats ont été comparés à ceux obtenus précédemment sur les populations de la Bourne amont Auberives, de la basse rivière d'Ain, des pisciculture de Chazey-Bons, Apeans et Besse, du Rhin en aval du lac de Constance, et d'un affluent du Danube autrichien.

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

*Tableau II : Populations considérées avec leur origine et le nombre d'individus analysés pour les microsatellites et l'ADN mitochondrial (en bleu, les lots analysés dans le cadre de cette nouvelle étude).*

| <b>Population</b> | <b>Origine</b>                  | <b>Rivière</b>     | <b>N</b>  | <b>SSR</b> | <b>Séquences</b> |
|-------------------|---------------------------------|--------------------|-----------|------------|------------------|
| AIN               | Mollon                          | Ain                | 44        | 43         | 17               |
| BOU               | Bourne - Auberives              | Canal de la Bourne | 40        | 39         | 13               |
| <i>CBH</i>        | <i>Pisciculture Chazey-Bons</i> |                    | <i>45</i> | <i>43</i>  | <i>10</i>        |
| KOH               | Danube - Austria                | Danube             | 30        | 29         | 8                |
| RHI               | Rhin - Stein-Schaffhouse        | Rhin               | 45        | 45         | 3                |
| <i>BPM</i>        | <i>Bourne – Pont de Manne</i>   | <i>Bourne</i>      | <i>18</i> | <i>17</i>  | <i>6</i>         |
| <i>BAD</i>        | <i>Bourne – aval barrage</i>    | <i>Bourne</i>      | <i>19</i> | <i>18</i>  | <i>7</i>         |
| <i>CFF</i>        | <i>Pisciculture Chauvey</i>     |                    | <i>33</i> | <i>32</i>  | <i>10</i>        |
| <i>BES</i>        | <i>Pisciculture de Besse</i>    |                    | <i>30</i> | <i>28</i>  | <i>11</i>        |

### **ADN mitochondrial**

Les 6 et 7 individus nouvellement séquencés sur la Bourne aval se sont tous révélés porteurs du même et unique haplotype mitochondrial Rh1 observé en amont d'Auberives lors de l'étude précédente. C'est le plus commun dans le bassin du Rhône. C'est par exemple le plus fréquent des 4 observés dans la basse rivière d'Ain (Tableau III). Par contre, il est plus rare dans la souche de pisciculture de Chazey-Bons où domine l'haplotype Ht4 (qui toutefois

n'en diffère que d'une seule paire de bases). On ne retrouve aucun de ceux susceptibles d'avoir été fournis par la pisciculture Chauvey (trois haplotypes danubiens) ou celle de Besse (un haplotype ligérien, plus un danubien mais différent de ceux observés chez Chauvey).

On peut en déduire que, au niveau de ce marqueur génétique, la population de la Bourne aval est bien d'un type rhodanien identique à celui de l'amont. Elle ne porte aucune trace des alevinages en provenance d'une des trois piscicultures impliquées dans le "renforcement" artificiel du cheptel de la Bourne. Le fait de n'avoir toujours pas trouvé plus d'un haplotype confirme également la faible diversité génétique de la population locale, due sans doute sa taille réduite et son total isolement depuis la construction des barrages sur l'Isère.

*Tableau III : Haplotypes observés dans les différentes populations considérées (les codes des haplotypes sont hérités d'études antérieures).*

| ADN mt              | HAPLOTYPES |           |     |     |      |      |      |            |     |     |      |         | Total |      |
|---------------------|------------|-----------|-----|-----|------|------|------|------------|-----|-----|------|---------|-------|------|
|                     | Allier     | Danubiens |     |     |      |      |      | Rhodaniens |     |     |      | Rhénans |       |      |
|                     | Ht23       | Da1       | Da4 | Da8 | Da11 | Da30 | Da35 | Rh1        | Rh4 | Ht4 | Ht14 | At15    |       | Ht15 |
| Bourne amont (BOU)  |            |           |     |     |      |      |      | 13         |     |     |      |         |       | 13   |
| Aval barrage (BAD)  |            |           |     |     |      |      |      | 7          |     |     |      |         |       | 7    |
| Pont de Manne (PDM) |            |           |     |     |      |      |      | 6          |     |     |      |         |       | 6    |
| Ain aval (01) (MOL) |            |           |     |     |      |      |      | 12         | 1   | 3   | 1    |         |       | 17   |
| Chazey-Bons (CBH)   |            |           |     |     |      |      |      | 1          |     | 9   |      |         |       | 10   |
| Besse (63) (BES)    | 4          |           |     |     |      | 7    |      |            |     |     |      |         |       | 11   |
| Chauvey (25) (CFF)  |            | 7         | 1   |     |      |      | 2    |            |     |     |      |         |       | 10   |
| Danube (KOH)        |            | 10        | 1   | 1   | 2    |      | 1    |            |     |     |      |         |       | 15   |
| Rhin (RHI)          |            |           | 1   |     |      |      |      |            |     |     |      | 1       | 1     | 3    |

### Microsatellites

Les résultats des analyses microsatellites sont compilés à l'échelle des populations dans le tableau IV.

La prise en compte de nouvelles populations et la relecture des résultats antérieurs nous ont amenés à rectifier un certain nombre de valeurs par rapport au rapport de 2011 (la lecture des résultats microsatellites comporte toujours une part de subjectivité qui peut être reconsidérée à la lumière de résultats supplémentaires).

Le nombre total d'allèles observés en moyenne dans la Bourne (richesse allélique AR de 3,9 à 4,9) apparaît bien inférieur à ceux observés dans les autres populations où cet indice varie de 6,21 (Chauvey) à 9,42 pour la plus diversifiée, à savoir celle de la basse rivière d'Ain. Par contre, avec des Fis faibles, les trois populations de la Bourne présentent un bon équilibre Hardy-Weinberg, ce qui indique que l'on a affaire à des populations génétiquement homogènes. C'est également le cas pour la population de la pisciculture Chauvey, contrairement à celles de Chazey-Bons et Besse-en-Chandesse où respectivement 4 et 2 microsatellites sur 12 présentent une distribution allélique déséquilibrée. On retrouve par ailleurs un déséquilibre au sein de deux microsatellites de la population naturelle du Rhin germano-suisse, et sur un microsatellite de la population danubienne du Kohlenbach, sans conséquence significative à l'échelle de la population dans ce dernier cas.

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

| Population              | N  |          | Tar101        | Tar106  | Thy1          | Thy62   | Tth305        | Tth445  | Tth447  | Tar104        | Thy54   | Tth213        | Tth414        | Tth446        | Total         |       |
|-------------------------|----|----------|---------------|---------|---------------|---------|---------------|---------|---------|---------------|---------|---------------|---------------|---------------|---------------|-------|
| BOU<br>amont            | 39 | AN       | 6             | 6       | 4             | 5       | 4             | 8       | 3       | 7             | 4       | 5             | 4             | 3             | 59            |       |
|                         |    | AR       | 4,92          | 5,65    | 3,21          | 4,42    | 3,45          | 6,76    | 3,00    | 6,07          | 3,13    | 4,11          | 3,43          | 2,83          | 4,25          |       |
|                         |    | R        | 208-278       | 199-299 | 122-134       | 188-224 | 282-382       | 361-483 | 153-162 | 149-291       | 173-197 | 306-352       | 352-410       | 235-247       |               | 0,560 |
|                         |    | $H_O$    | 0,528         | 0,897   | 0,231         | 0,744   | 0,605         | 0,821   | 0,553   | 0,641         | 0,189   | 0,513         | 0,744         | 0,256         |               | 0,531 |
|                         |    | $H_E$    | 0,526         | 0,778   | 0,214         | 0,671   | 0,625         | 0,806   | 0,459   | 0,646         | 0,202   | 0,458         | 0,614         | 0,375         |               |       |
|                         |    | $F_{IS}$ | -0,003        | -0,156  | -0,077        | -0,109  | 0,032         | -0,018  | -0,207  | 0,008         | 0,063   | -0,122        | -0,214        | 0,318         | -0,055        |       |
| BAD<br>aval<br>barrage  | 18 | AN       | 5             | 8       | 4             | 6       | 4             | 7       | 4       | 5             | 5       | 6             | 4             | 2             | 60            |       |
|                         |    | AR       | 5,00          | 7,83    | 3,94          | 5,89    | 4,00          | 7,00    | 4,00    | 4,94          | 4,89    | 5,78          | 4,00          | 2,00          | 4,94          |       |
|                         |    | R        | 208-274       | 191-299 | 118-125       | 188-224 | 282-362       | 361-483 | 153-178 | 149-287       | 175-211 | 306-352       | 352-378       | 235-346       |               | 0,502 |
|                         |    | $H_O$    | 0,471         | 0,889   | 0,333         | 0,556   | 0,471         | 0,706   | 0,611   | 0,500         | 0,333   | 0,278         | 0,588         | 0,294         |               | 0,521 |
|                         |    | $H_E$    | 0,412         | 0,775   | 0,344         | 0,586   | 0,636         | 0,838   | 0,570   | 0,503         | 0,349   | 0,308         | 0,528         | 0,401         |               | 0,036 |
|                         |    | $F_{IS}$ | -0,148        | -0,153  | 0,033         | 0,053   | 0,266         | 0,162   | -0,075  | 0,006         | 0,047   | 0,101         | -0,119        | 0,273         |               |       |
| BPM<br>Pont de<br>Manne | 17 | AN       | 4             | 7       | 2             | 3       | 3             | 7       | 3       | 8             | 3       | 2             | 2             | 3             | 47            |       |
|                         |    | AR       | 4,00          | 7,00    | 2,00          | 3,00    | 3,00          | 7,00    | 3,00    | 8,00          | 3,00    | 2,00          | 2,00          | 3,00          | 3,92          |       |
|                         |    | R        | 258-274       | 263-303 | 122-125       | 188-202 | 282-304       | 361-483 | 153-162 | 149-303       | 175-197 | 306-352       | 370-378       | 235-247       |               | 0,412 |
|                         |    | $H_O$    | 0,471         | 0,882   | 0,059         | 0,235   | 0,118         | 0,941   | 0,176   | 0,882         | 0,118   | 0,059         | 0,765         | 0,235         |               | 0,433 |
|                         |    | $H_E$    | 0,512         | 0,838   | 0,059         | 0,519   | 0,221         | 0,781   | 0,219   | 0,840         | 0,116   | 0,059         | 0,508         | 0,522         |               | 0,05  |
|                         |    | $F_{IS}$ | 0,082         | -0,055  | 0             | 0,554   | 0,475         | -0,213  | 0,2     | -0,053        | -0,016  | 0             | -0,529        | 0,557         |               |       |
| AIN                     | 43 | AN       | 13            | 10      | 10            | 4       | 15            | 23      | 6       | 20            | 11      | 15            | 19            | 8             | 154           |       |
|                         |    | AR       | 10,23         | 7,90    | 7,22          | 3,70    | 10,63         | 17,30   | 4,46    | 13,91         | 8,51    | 9,96          | 12,27         | 6,97          | 9,42          |       |
|                         |    | R        | 208-318       | 239-283 | 113-157       | 188-208 | 282-350       | 385-541 | 160-190 | 157-287       | 189-211 | 264-348       | 366-558       | 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         |       |
| CFF<br>Chauvey          | 32 | AN       | 12            | 6       | 5             | 6       | NA            | 11      | 3       | 7             | 11      | 9             | 3             | NA            | (73)          |       |
|                         |    | AR       | 10,18         | 5,06    | 4,55          | 5,34    | NA            | 9,24    | 3,00    | 5,32          | 8,94    | 7,89          | 2,55          | NA            | 6,21          |       |
|                         |    | R        | 266-354       | 187-215 | 110-134       | 214-248 | NA            | 353-471 | 153-178 | 149-239       | 173-235 | 314-348       | 348-356       | NA            |               | 0,670 |
|                         |    | $H_O$    | 0,793         | 0,806   | 0,677         | 0,633   | NA            | 0,871   | 0,406   | 0,387         | 0,871   | 0,710         | 0,548         | NA            |               | 0,683 |
|                         |    | $H_E$    | 0,865         | 0,727   | 0,715         | 0,583   | NA            | 0,829   | 0,589   | 0,347         | 0,837   | 0,828         | 0,513         | NA            |               | 0,019 |
|                         |    | $F_{IS}$ | 0,085         | -0,112  | 0,053         | -0,088  | NA            | -0,052  | 0,314   | -0,118        | -0,041  | 0,145         | -0,069        | NA            |               |       |
| CBH<br>Chazey-B.        | 40 | AN       | 10            | 13      | 10            | 8       | NA            | 13      | 6       | 14            | 10      | 13            | 13            | 6             | 116           |       |
|                         |    | AR       | 8,36          | 10,73   | 8,65          | 6,29    | NA            | 9,64    | 5,38    | 11,03         | 7,67    | 10,47         | 10,22         | NA            | 8,84          |       |
|                         |    | R        | 296-291       | 195-291 | 110-157       | 188-230 | NA            | 365-525 | 157-188 | 149-275       | 175-231 | 280-348       | 348-538       | 227-279       |               | 0,673 |
|                         |    | $H_O$    | 0,389         | 0,900   | 0,595         | 0,571   | NA            | 0,738   | 0,571   | 0,902         | 0,814   | 0,900         | 0,643         | 0,378         |               | 0,790 |
|                         |    | $H_E$    | 0,826         | 0,875   | 0,808         | 0,616   | NA            | 0,807   | 0,629   | 0,880         | 0,779   | 0,872         | 0,842         | 0,756         |               |       |
|                         |    | $F_{IS}$ | <b>0.532*</b> | -0,029  | <b>0.265*</b> | 0,073   | NA            | 0,087   | 0,093   | -0,026        | -0,046  | -0,033        | <b>0.238*</b> | <b>0.503*</b> | <b>0.150*</b> |       |
| BESSE                   | 28 | AN       | 7             | 12      | 7             | 8       | 7             | 10      | 8       | 10            | 14      | 12            | NA            | 8             | (103)         |       |
|                         |    | AR       | 6,41          | 10,49   | 6,92          | 7,39    | 6,75          | 9,27    | 6,10    | 9,69          | 11,64   | 10,60         | NA            | 4,67          | 8,18          |       |
|                         |    | R        | 204-326       | 175-283 | 109-137       | 202-234 | 282-382       | 365-545 | 157-176 | 149-231       | 173-231 | 280-348       | NA            | 219-279       |               | 0,732 |
|                         |    | $H_O$    | 0,538         | 1,000   | 0,828         | 0,862   | 0,591         | 0,609   | 0,690   | 0,552         | 1,000   | 0,964         | NA            | 0,423         |               | 0,816 |
|                         |    | $H_E$    | 0,704         | 0,875   | 0,820         | 0,772   | 0,790         | 0,829   | 0,716   | 0,893         | 0,902   | 0,873         | NA            | 0,801         |               |       |
|                         |    | $F_{IS}$ | 0,238         | -0,145  | -0,009        | -0,119  | 0,256         | 0,27    | 0,038   | <b>0.386*</b> | -0,111  | -0,107        | NA            | <b>0.477*</b> | <b>0.104*</b> |       |
| N-Al<br>Danube          | 29 | AN       | 14            | 8       | 5             | 6       | NA            | 12      | 5       | 8             | 9       | 15            | 3             | NA            | (85)          |       |
|                         |    | AR       | 12,26         | 7,79    | 4,52          | 5,39    | NA            | 9,38    | 4,15    | 6,87          | 7,58    | 10,85         | 3,00          | NA            | 7,18          |       |
|                         |    | R        | 208-354       | 175-215 | 110-140       | 202-224 | NA            | 357-427 | 153-176 | 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  | <b>0.364*</b> | 0,162         | NA            | 0,014         |       |
| RHI<br>Rhin             | 54 | AN       | 2             | 15      | 2             | 5       | 10            | 23      | 9       | 16            | 18      | 21            | 17            | 12            | 150           |       |
|                         |    | AR       | 1,38          | 11,41   | 2,00          | 3,76    | 8,35          | 16,92   | 5,73    | 12,81         | 12,29   | 15,94         | 11,71         | 8,97          | 9,27          |       |
|                         |    | R        | 208-256       | 195-303 | 113-115       | 202-212 | 374-422       | 467-593 | 152-196 | 149-263       | 175-233 | 278-352       | 352-506       | 215-279       |               | 0,633 |
|                         |    | $H_O$    | 0,022         | 0,911   | 0,244         | 0,578   | 0,634         | 0,881   | 0,489   | 0,911         | 0,795   | 0,955         | 0,475         | 0,705         |               | 0,699 |
|                         |    | $H_E$    | 0,022         | 0,878   | 0,250         | 0,620   | 0,837         | 0,944   | 0,552   | 0,905         | 0,892   | 0,935         | 0,858         | 0,692         |               |       |
|                         |    | $F_{IS}$ | 0             | -0,038  | 0,022         | 0,068   | <b>0.245*</b> | 0,067   | 0,115   | -0,007        | 0,109   | -0,021        | <b>0.449*</b> | -0,018        | <b>0.095*</b> |       |



L'analyse factorielle des correspondances permet de visualiser à l'échelle des individus la structure des populations.

Le premier facteur de l'analyse, en horizontal sur le plan factoriel F1xF2 (figure 4) est entièrement consacré à l'exclusion des individus issus des deux populations, (sauvages en noir, et d'élevage en gris) du Danube, avec toutefois la présence dans ce groupe d'un individu (en vert) provenant de la station en aval du barrage d'Auberives. Le second facteur de l'analyse, en vertical, oppose la population de la Bourne, en bas, à celle du Rhin en haut, de part et d'autre d'un ensemble Ain-Chazey-Bons-Besse.

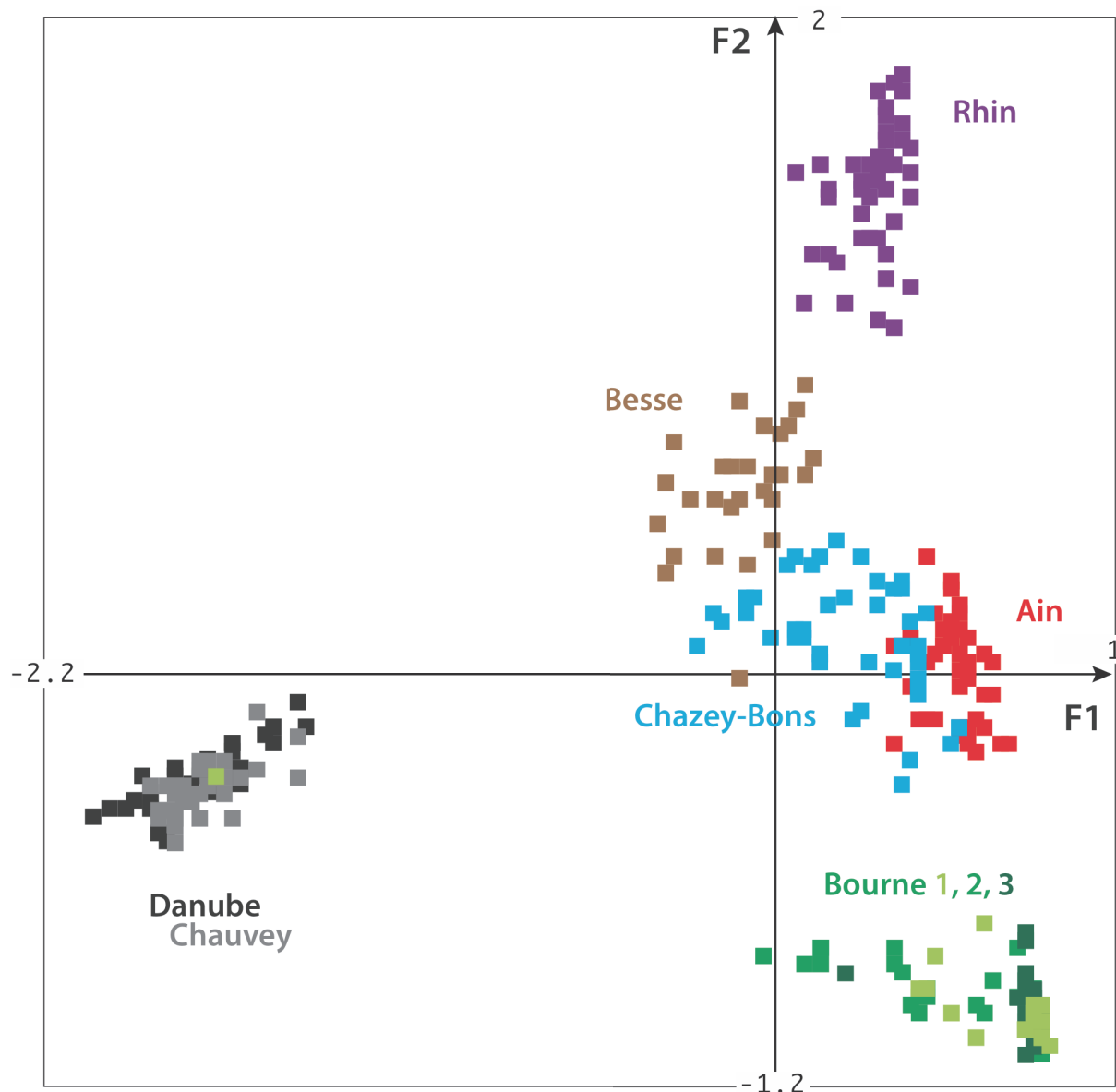


Figure 4 : Plan factoriel F1xF2 de l'analyse factorielle des correspondances des profils génétiques microsatellites de 294 ombres appartenant à 9 populations échantillons: chaque point correspond à un individu, chaque couleur à sa population d'appartenance.

Le plan factoriel F3xF4 a été décomposé en 9 sous-plans population-échantillon pour une meilleure lisibilité (figure 5). Là, le facteur 3 oppose les populations de la Bourne à celles de l'Ain et de Chazey-Bons, tandis que le facteur 4 est monopolisé par la particularité de la population de Besse, tout en séparant l'Ain de Chazey-Bons. La faible

dispersion des individus des trois populations de la Bourne (à l'exception de l'individu extrait par le premier facteur) indique que ces trois populations sont très homogènes. Ce plan factoriel permet également de constater que si les deux populations danubiennes sont bien proches, elles n'en sont pas tout à fait identiques pour autant.

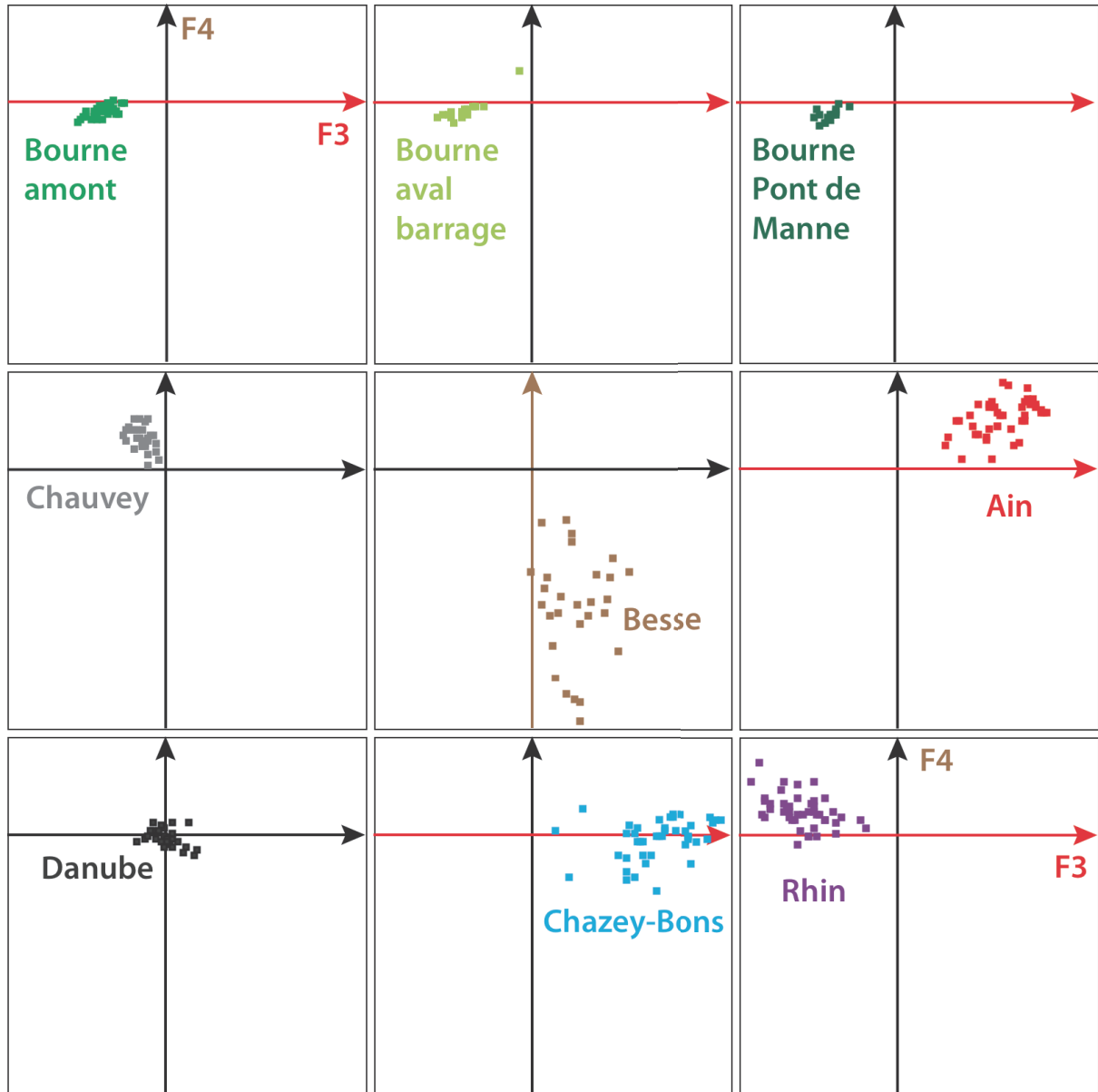


Figure 5 : Plan factoriel F3xF4 de la même analyse décomposé par populations

L'efficacité avec laquelle l'analyse des microsatellites sépare les individus de chaque population indique que chacune a son identité propre. Celles du Danube, tant naturelle (Kohlenbach) que de pisciculture (Chauvey), et du Rhin sont naturellement les plus exotiques, et donc extraites par les deux premiers facteurs, tandis que le caractère hybride quoique qu'exotique de celle de Besse la rend moins distinguable, même si le quatrième facteur lui est presque entièrement dévolu. Par contre l'antagonisme entre les populations rhodaniennes du haut Rhône (Ain, Chazey-Bons) et celles de la Bourne est suffisamment marqué pour qu'il ressorte complètement dès le facteur 3.

Ces différences génétiques entre chaque population sont confirmées par les valeurs de  $F_{ST}$  (Tableau V) : même les différences entre les trois lots de la Bourne apparaissent significatives, encore que celle entre Bourne amont et aval Auberives soit limite, alors que la population de Pont de Manne se différencie plus nettement des deux autres. Comme le laissait supposer le premier facteur de l'AFC, ce sont bien les deux populations danubiennes naturelle et d'élevage qui sont les plus éloignées génétiquement de tout le reste. La population d'élevage Chauvey apparaît toutefois significativement bien différente de la population naturelle considérée pour le bassin danubien, celle du Kohlenbach, en Autriche ( $F_{ST}$  de 0,123\*\*\*). Cette différence reste néanmoins bien inférieure à celle que l'on observe entre par exemple la Bourne et la Basse rivière d'Ain ( $F_{ST}$  de  $\pm 0,250$ \*\*\*).

Tableau IV : Estimation des distances génétiques  $F_{ST}$  prises deux à deux entre les neuf populations considérées : toutes les différences sont hautement significatives à une probabilité inférieure à 0,001 (\*\*\*), sauf entre l'amont et l'aval du barrage d'Auberives où la différence reste néanmoins encore significative (\*).

|           | Bou 1    | Bou 2    | Bou 3    | Ain      | Chazey-B. | Chauvey  | Danube   | Besse    |
|-----------|----------|----------|----------|----------|-----------|----------|----------|----------|
| Bou 1     | —        |          |          |          |           |          |          |          |
| Bou 2     | 0.017*   | —        |          |          |           |          |          |          |
| Bou 3     | 0.061*** | 0.081*** | —        |          |           |          |          |          |
| Ain       | 0.243*** | 0.255*** | 0.279*** | —        |           |          |          |          |
| Chazey-B. | 0.228*** | 0.230*** | 0.256*** | 0.088*** | —         |          |          |          |
| Chauvey   | 0.370*** | 0.367*** | 0.427*** | 0.295*** | 0.243***  | —        |          |          |
| Danube    | 0.355*** | 0.347*** | 0.401*** | 0.275*** | 0.226***  | 0.123*** | —        |          |
| Besse     | 0.264*** | 0.249*** | 0.289*** | 0.191*** | 0.126***  | 0.190*** | 0.175*** | —        |
| Rhin      | 0.334*** | 0.318*** | 0.358*** | 0.224*** | 0.194***  | 0.274*** | 0.259*** | 0.119*** |

Tableau V : Statistiques de la pertinence de la partition selon les différentes valeurs de K

| K  | Reps | Mean LnP(K) | Stdev LnP(K) | Ln'(K)  | Ln''(K) | Delta K       |
|----|------|-------------|--------------|---------|---------|---------------|
| 1  | 3    | -17075,63   | 1,50         | NA      | NA      | NA            |
| 2  | 3    | -14647,63   | 3,79         | 2428,00 | 1018,97 | 269,15        |
| 3  | 3    | -13238,60   | 7,78         | 1409,03 | 280,67  | 36,08         |
| 4  | 3    | -12110,23   | 24,15        | 1128,37 | 1935,70 | 80,15         |
| 5  | 3    | -12917,57   | 2296,99      | -807,33 | 2534,77 | 1,10          |
| 6  | 3    | -11190,13   | 3,10         | 1727,43 | 1758,83 | <b>566,97</b> |
| 7  | 3    | -11221,53   | 228,19       | -31,40  | 56,67   | 0,25          |
| 8  | 3    | -11196,27   | 46,22        | 25,27   | 21,57   | 0,47          |
| 9  | 3    | -11192,57   | 105,19       | 3,70    | 660,97  | 6,28          |
| 10 | 3    | -11849,83   | 1005,61      | -657,27 | 841,03  | 0,84          |
| 11 | 3    | -11666,07   | 877,70       | 183,77  | NA      | NA            |

n.a. : non applicable

L'ensemble du jeu de donnée a été soumis à l'analyse Structure pour estimer le nombre de génotypes principaux le plus probable, et déterminer le degré d'appartenance génétique de chaque individu à chacun de ces génotypes.

L'analyse découpe successivement et arbitrairement le jeu de données en deux, trois, quatre, K groupes d'individus et teste la pertinence de ce découpage. En sortie

graphique, chaque individu se voit attribuer une ou plusieurs couleurs selon qu'il comporte des traits génétiques susceptibles d'être rapportés à l'un ou plusieurs groupes.

Les valeurs du Delta K (tableau VI) nous indiquent que la partition statistiquement de loin la plus probable comporte 6 groupes, la partition en deux groupes correspondant à celle apparaissant sur le premier axe de l'analyse factorielle des correspondances et opposant les poissons danubiens, sauvage ou de pisciculture, à tous les autres.

La figure 6 nous offre une vision précise des profils génétiques de l'ensemble des populations. Les trois de la Bourne se regroupent au sein d'un premier ensemble, en bleu sombre. Ceux de Chauvey et du Danube se regroupent dans l'ensemble 2 (en marron). Les quatre autres populations forment autant d'ensembles plus ou moins homogènes (de 3 à 6).

L'examen détaillé de chaque ensemble laisse entrevoir la présence d'individus porteurs de gènes d'un autre ensemble.

C'est le cas de la Bourne, notamment amont, où un certain nombre d'individus sont porteurs de gènes danubiens (marron). On observe même en aval du barrage d'Auberives, la présence d'un spécimen 100% danubien, preuve qu'il s'agit d'un alevin Chauvey ayant survécu localement (au moins 1 an) après son déversement. Par contre, on n'observe aucune trace de l'ensemble 3 (Besse), l'autre fournisseur d'alevins pour le repeuplement local, dans les populations de la Bourne, tandis qu'il y aurait peut-être une petite trace de gène Ain (bleu clair) dans la Bourne amont et de gène Rhin (vert) en aval d'Auberives (restes d'alevinages beaucoup plus anciens ?).

Le lot d'alevins issu de la pisciculture Chauvey apparaît particulièrement homogène alors que ce n'est pas le cas pour ceux de Chazey-Bons et de Besse où l'on dénote des influences multiples que l'analyse de l'ADN mitochondrial nous avait déjà permis de soupçonner. Il s'agit de la trace des échanges historiques d'œufs ou d'alevins entre ces deux piscicultures et avec des fournisseurs d'Europe centrale. Le fait que leurs productions ne soient pas en équilibre génétique d'Hardy-Weinberg prouve que leurs lignées respectives ne sont toujours pas homogénéisées. Pour en savoir plus, il faudrait échantillonner l'ensemble de leur production, plutôt qu'analyser comme ici un seul lot d'alevins, probablement issu d'un nombre réduit de géniteurs et pas forcément représentatif de l'ensemble.

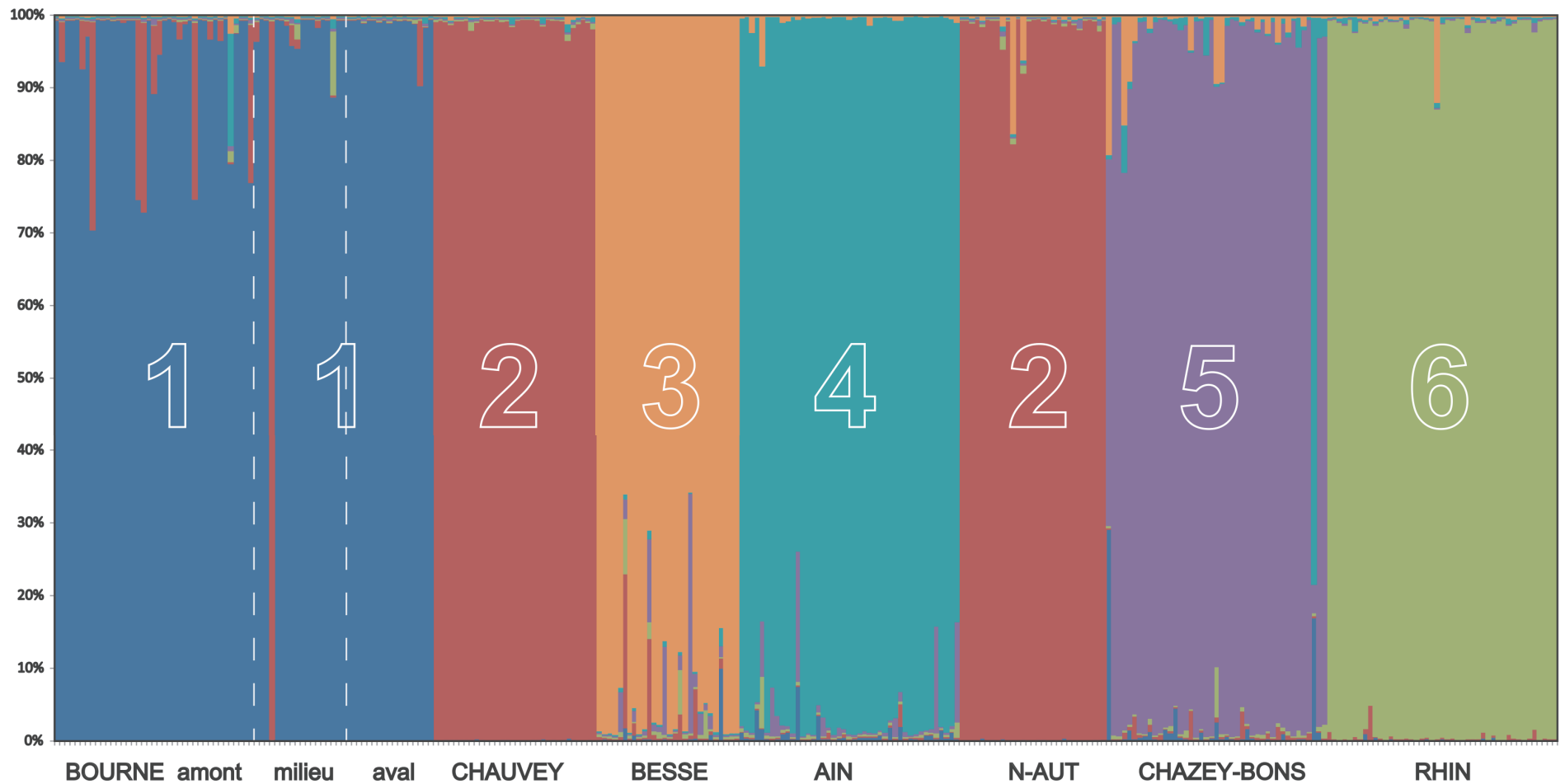


Figure 6 : Profils génétiques des individus selon la partition en 6 groupes (6 couleurs) retenue par l'analyse Structure : un individu correspond à une barre verticale complète, si cette barre est d'une seule couleur, le profil génétique de cet individu correspond à 100 % au groupe de cette couleur, si cette barre est composée de plusieurs couleurs, l'individu possède des gènes de plusieurs groupes en proportion : par exemple un individu de Chazey-Bons (groupe violet) présente un génotype à 80 % de type Ain (bleu clair).



## Diversité génétique interne aux populations de la Bourne

Nous avons essayé d'affiner la perception de la structuration génétique de la population de la Bourne entre et au sein des trois stations à travers une analyse spécifique (en retirant au passage l'individu exogène "danubien" repéré dans la station aval barrage). La figure 7 montre que la variabilité génétique tend à s'organiser selon un certain gradient amont aval sur l'axe 1.

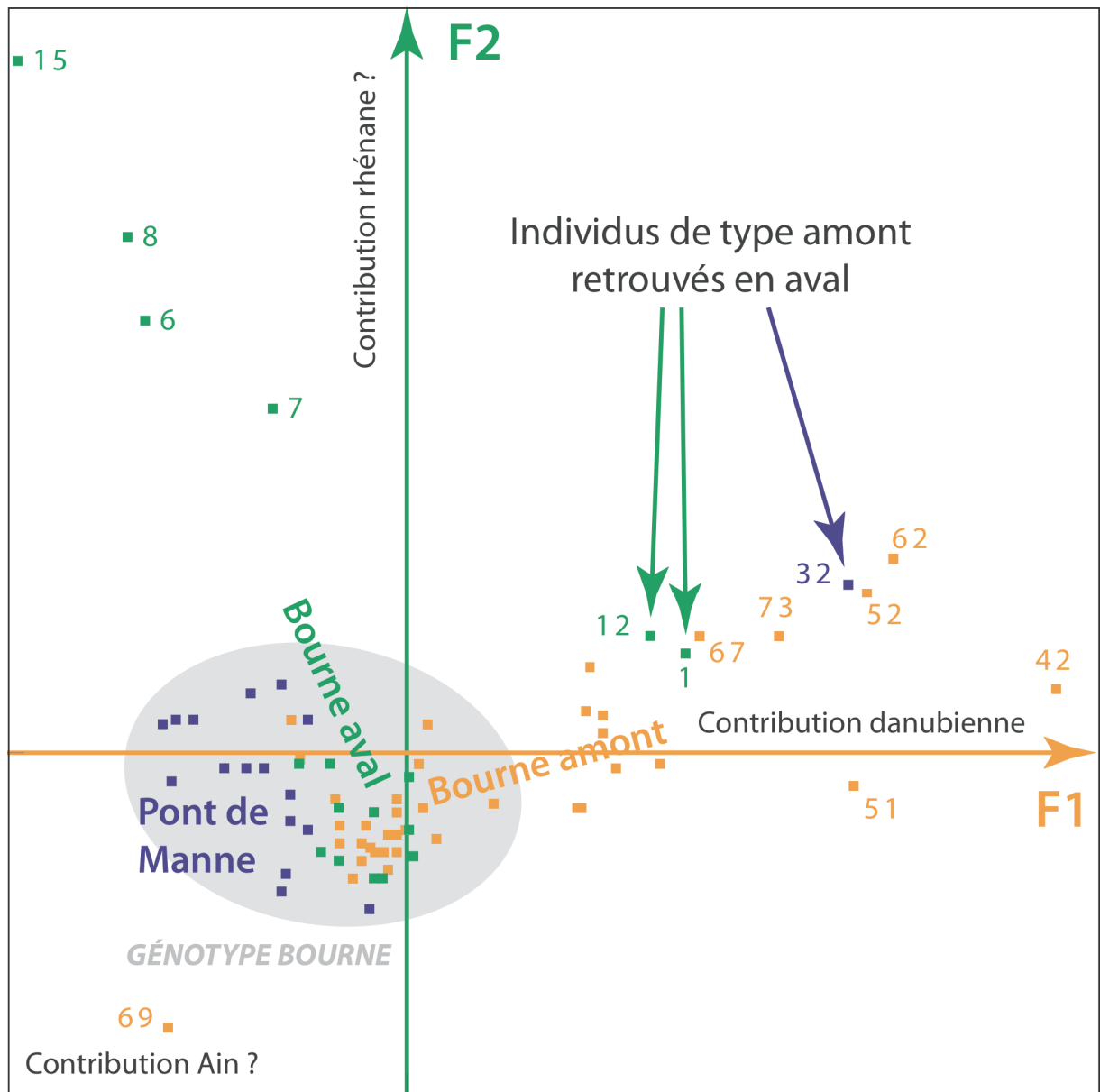


Figure 7 : Analyse factorielle des correspondances des profils génétiques des seuls individus de la Bourne, l'individu de type danubien repéré précédemment étant exclu du jeu de données : plan factoriel F1x F2 des 73 individus colorés en fonction de leur lieu de capture.

Si des profils génétiques apparaissent communs aux trois populations, ceux classés à droite du plan factoriel apparaissent plutôt spécifiques à la station amont, marqués par une contribution danubienne issue des alevinages Chauvey, tandis que ceux situés au centre gauche apparaissent très spécifiques de la station la plus aval, Pont

de Manne. Dans un tel schéma, il apparaît évident que quelques-uns des individus trouvés dans les stations aval sont probablement nés à l'amont avant de dévaler par dessus le barrage d'Auberives. Enfin, on constate que la station en aval du barrage est celle qui présente le plus d'individus atypiques, dégagés par l'axe 2, notamment l'individu 15 auquel l'analyse Structure attribuait une composante génétique rhénane, même si on retrouve un poisson de la station amont (le 69) en position totalement excentrée sur cet axe, en l'occurrence celui auquel l'analyse Structure attribuait une composante génétique Ain.

De fait, c'est bien à Pont de Manne que la population est la plus homogène, et donc sans doute la plus représentative du génotype ancestral Bourne.

## **Conclusion :**

L'analyse génétique de la population d'ombre commun de la Bourne étendue à deux nouvelles stations selon deux types de marqueurs congruents, nucléaires et mitochondriaux, confirme qu'elle appartient sans l'ombre d'un doute à l'ensemble populationnel rhodanien. Par contre l'introduction dans le jeu de données d'un lot d'alevins issus de la pisciculture Chauvey modifie sensiblement notre impression initiale quant à la pureté apparente de la souche locale. Il apparaît évident que l'on observe une trace d'introggression de gènes danubiens introduits par les alevinages en provenance de cette pisciculture. Si cette trace reste faible (quelques % seulement à l'échelle de l'ensemble des poissons analysés sur la Bourne), elle est nettement plus marquée à l'amont du barrage d'Auberives (ou tout au moins dans le canal de la Bourne où nous nous sommes procurés les échantillons analysés) qu'en aval. Quelques traces d'alevinages, probablement anciens et d'autres origines que Chauvey sont également perceptibles, mais par contre on ne détecte aucune trace des alevinages récents en provenance de Besse-en-Chandesse.

Il est possible que les conditions prévalant sur la Bourne en aval du barrage d'Auberives soient plus sévères qu'en amont (éclusées, débits réservés, frayères moins protégées ?), ce qui pourrait contre sélectionner les poissons issus de pisciculture. Il n'est d'ailleurs pas certains que les gènes allochtones introduits dans la population de la Bourne perdure bien longtemps si les alevinages devaient être interrompus.

En définitive, il n'y a pas de différence fondamentale entre l'amont et l'aval du barrage d'Auberives : on est toujours dans la même population native de la Bourne. Seul le taux d'introggression de gènes étrangers est (provisoirement ?) légèrement supérieur à l'amont qu'à l'aval. Il n'y a donc aucune raison de ne pas améliorer la connectivité longitudinale le long de la Bourne en adaptant la passe à poissons d'Auberives à cette espèce aux capacités de franchissement nettement moindres que celles de la truite.

Naturellement cela n'aurait pas beaucoup de sens si on n'améliorait pas sensiblement les conditions hydrauliques régnant à l'aval du barrage d'Auberives en limitant la fréquence et l'amplitude des écluses, et en augmentant le débit réservé, tant sur la Bourne que sur son affluent, la Lyonne.

L'ensemble de la Bourne royannaise abrite bien une **population native, originale, et à haute valeur patrimoniale**, encore peu altérée par les alevinages. Il conviendrait donc d'opter pour un **mode de gestion adapté à la conservation** de cette population, **et surtout de son milieu**, de façon à ne pas prendre le risque de perdre un écotype probablement **irremplaçable**, ainsi que le peu de succès des alevinages le laisse penser.



## ANNEXE TECHNIQUE

### Analyse de l'ADN mitochondrial (ADN<sub>mt</sub>)

La région de contrôle de l'ADN mitochondrial (ADN<sub>mt</sub>) 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<sub>mt</sub> 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<sub>mt</sub> 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 ( $H_o$ ) 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 deux 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.



## 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.
- 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.
- 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., Winkler K., Weiss S. 2012. Diversité génétique de la population d'ombre commun de la Bourne. Rapport Fédération de Pêche de la Drôme, 17p.
- 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., Schlotterer 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.