

Fédération de la Haute-Vienne
pour la pêche
et la protection du milieu aquatique

87

Diversité génétique
des ombres communs
de la Haute-Vienne

Henri PERSAT*
Kathrin WINKLER**
Tamara SCHENEKAR**
Karin MATTERS DORFER**
Steven WEISS**

- 2013 -



* 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 Gratz, Autriche



31 rue Jules Noël - 87 000 LIMOGES
Tél : 05.55.06.34.77 - Fax. : 05.55.31.30.37
courriel : federation-peche87@wanadoo.fr
site internet : www.federation-peche87.com



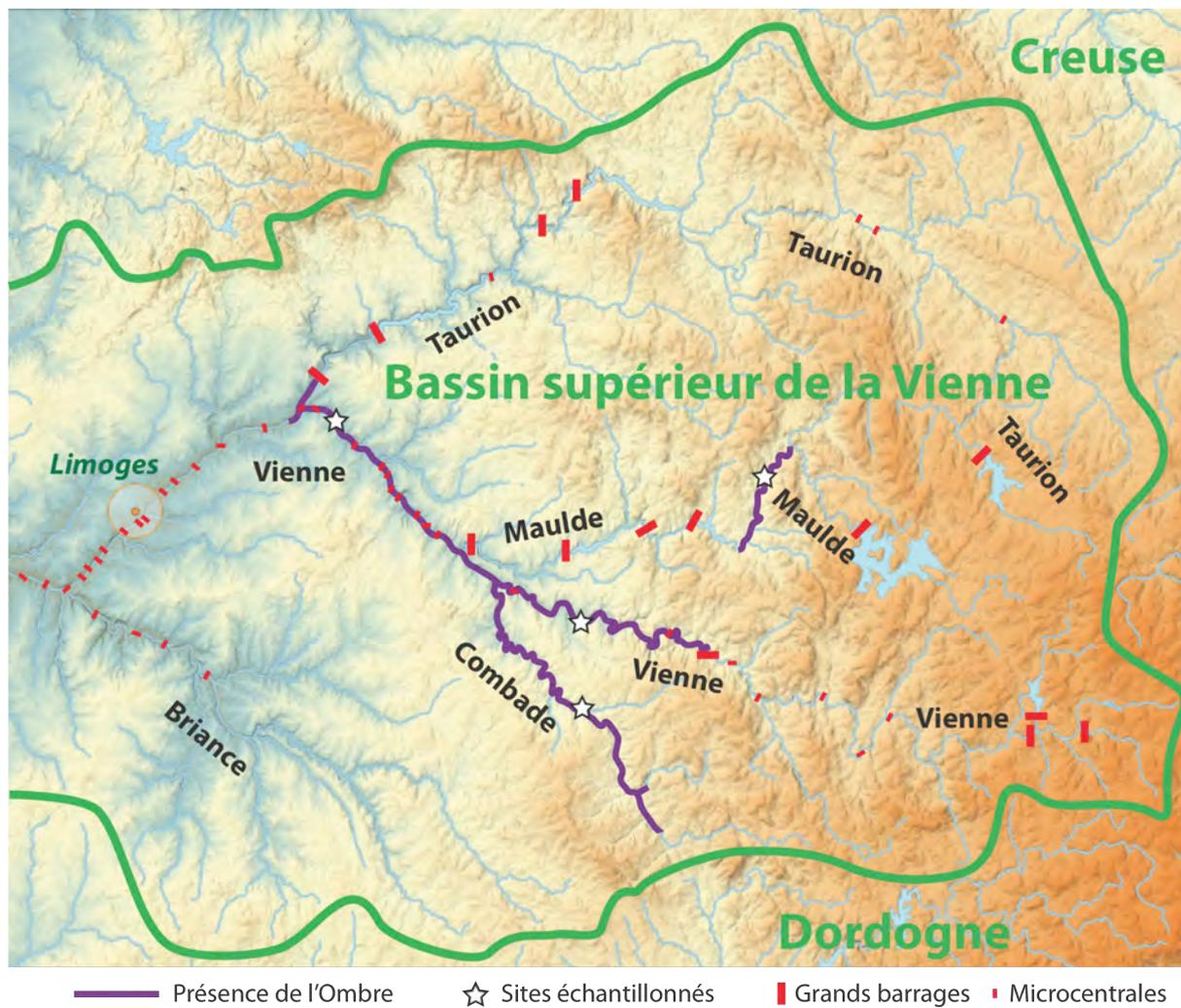


Figure 1 : Répartition de l'ombre commun dans le département de la Haute-Vienne en 2012 selon les indications la Fédération de Pêche (fond de carte IGN-Géoportail)

En couverture : ombre de la Combade de 28,9 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 disfonctionnements 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 limousines sur la base des taux d'introgession 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 :

Dans le département de la Haute-Vienne, les populations d'ombre commun occupent principalement l'axe principal de la Vienne depuis Eymoutiers jusqu'à pratiquement l'entrée de Limoges, et un intéressant linéaire de son affluent rive gauche, la Combade. Deux affluents rive gauche hébergeaient autrefois une forte population, la Maulde qui ne possède plus qu'une population relictuelle confinée sur quelques kilomètres entre de grandes retenues au niveau de Peyrat-le-Château., et le Taurion, dont le cours se situe pour l'essentiel dans le département de la Creuse, et qui n'héberge

plus d'ombres qu'au niveau de sa confluence avec la Vienne, également en raison de la présence de grands barrages de retenue. Pour ce qui est du cours de la Vienne elle-même, s'il ne comporte pas de grands barrages, probablement du fait de la présence d'une voie ferrée au fond de ses gorges, il est tronçonné de multiples barrages de basse chute difficilement franchissables pour les ombres, et donc à même d'engendrer des discontinuités populationnelles amont-aval.. Inversement, la Combade dans le secteur de Châteauneuf-la-Forêt constitue une zone de recolonisation naturelle récente de l'ombre commun grâce à l'effacement du barrage meunier de Soumagnas en 2000.

Dans ce contexte assez défavorable à l'ombre commun, les autorités piscicoles ont été amenées à procéder à un nombre considérable de rempoissonnements depuis 1966 afin de tenter de remédier quelque peu à la faiblesse des populations locales. Le tableau I en fait le bilan annuel, le détail des alevinages étant fourni en annexe.

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

Années						1966	1967	1968	1969
Quantités						10 000	30 000	40 000	20 000
1970	1971	1972	1973	1974	1975	1976	1977	1978	1979
60 000	65 000	120 000	64 000	100 000	31 200	40 000	77 000	55 000	67 000
1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989
110 920	93 500	98 000	85 000	76 000	74 000	55 200	43 000	94 000	?
1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999
?	?	?	?	12 400	7 000	?	?	?	?
2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
?	?	16 000	9 000	20 000	22 000	14 000	17 000	6 300	12 000
2010	2011	2012							
20 000	10 000	10 000							

Il convient de noter que l'essentiel de ces alevinages s'est concentré sur le cours principal de la Vienne depuis son entrée dans le département à Rempnat jusqu'à parfois Limoges, mais principalement d'Eymoutiers à Saint-Priest-Taurion, et accessoirement sur la Maulde et la Combade. Ils ont été pratiqués avec des produits d'au moins cinq piscicultures, privées (Magnet à Ferrières sur Sichon, 03; Couderc à Bourganeuf, 23; Chauvey à Appenans, 25), publique (CSP à Augerolles, 63) ou fédérale (Besse en Chandesse, 63), plusieurs pouvant être sollicitées simultanément la même année, mais celle de Besse étant la seule sollicitée depuis 2002.

La nature des souches élevées dans ces piscicultures reste très incertaine, même si celles d'Augerolles et de Besse se sont attachées à produire une souche de l'Allier. Il est probable que tout ou partie des productions privées soient originaires d'Europe centrale (Rhin ou Danube) ou de Scandinavie.

Jusque dans les années 1990 il s'agissait le plus souvent d'alevins à résorption de vésicule. Par la suite, ce sont plutôt des alevins de quelques semaines ("démarrés") à quelques mois ("fingerlings") qui ont été utilisés.

Echantillonnage :

Pour établir le profil génétique de chaque population, le protocole prévoyait l'analyse de 40 individus par population.

Les échantillons sont constitués de prélèvements de nageoires récupérés lors de d'une prospection par pêches électriques effectuées conjointement par la Fédération de Pêche de Haute-Vienne et l'Université de Lyon en 4 stations (cf. fig. 1) les 9 et 10

novembre 2011 : les spécimens capturés étaient pour la plupart des sub-adultes (1+ et 2+) avec quelques juvéniles (0+).

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).

Malgré son faible calibre la Combade s'est révélée remarquablement riche en ombres et nous n'avons eu aucune difficulté à obtenir le nombre d'échantillons requis (40). Le secteur choisi sur l'amont de la Vienne s'est révélé plus difficile à prospecter en raison de sa largeur et d'une densité en ombres sensiblement plus faible : de fait nous n'avons pu capturer que 35 individus. Le secteur aval de la Vienne s'est avéré encore plus difficile à prospecter en raison de ses dimensions, d'un substrat assez chaotique et d'une météo pluvieuse. Nous n'avons pu y capturer que 14 individus auxquels une pêche complémentaire à la ligne l'année suivante n'a permis d'ajouter qu'un seul spécimen. Enfin, la Maulde s'est avérée extrêmement pauvre aussi bien en truites qu'en ombres et nous n'y avons pris que deux individus sur plus de 300 m prospectés.

Compte tenu de la faiblesse de l'échantillonnage, il a été convenu avec la Fédération de Pêche que l'on compléterait les analyses en traitant un échantillon d'alevins d'un été de la pisciculture fédérale de Besse dans la mesure où c'est une des principales sources d'ombres pour tout le massif central et au-delà (en l'occurrence le lot d'alevins nous a été fourni gracieusement par une AAPPMA cliente), à l'exception d'un individu récupéré l'année précédente à la pisciculture même.

Analyses génétiques

Les analyses ont été 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 4 populations limousines examinées par rapport aux populations avoisinantes, les résultats ont été comparés à ceux obtenus sur la population de la Loire du Velay, celle de l'Allier, celle de la basse rivière d'Ain, celle de la pisciculture

de Besse en Chandesse (63), 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)
VIENNE Amont	Bujaleuf (Bazenant)	35 (34)	11
VIENNE Aval	Saint Priest-Taurion (Les Roches).	15 (15)	13
COMBADE	Châteauneuf-la-Forêt	40 (36)	11
MAULDE	Peyrat-le-Château (Artin)	2 (2)	2
BESSE 2011	Pisciculture Fédérale 63	30 (28)	11

ADN mitochondrial

Le séquençage de 37 individus du bassin de la Vienne n'a permis de repérer que trois haplotypes (variantes d'ADN) différents (Tab. III), dont un déjà connu du haut Allier (Ht26), mais observé seulement (dans la limite du nombre d'individus séquencés) dans la station aval de Saint Priest-Taurion, et deux nouveaux pour la science (Ht24 et Ht25). Le lot d'alevins de la pisciculture de Besse quant à lui s'est avéré porteur de deux autres haplotypes, l'un également connu du haut Allier mais différent de celui trouvé dans la Vienne (Ht23), et l'autre connu du haut bassin du Danube en Autriche (Da11).

Tableau III : Fréquences des différents haplotypes rencontrés dans les populations de Haute-Vienne, 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 Combade	9	2																		11
O Vienne amont	11																			11
P Vienne aval	9		4																	13
U Maulde	2																			2
L Ance du N.						6	1													7
A Loire velave								10												10
T Allier Vabres			3	4	3															10
I Ain aval														12	1	3	1			17
O Besse						4						7								11
N Chauvey										5	1		1							7
S Obenheim																		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.

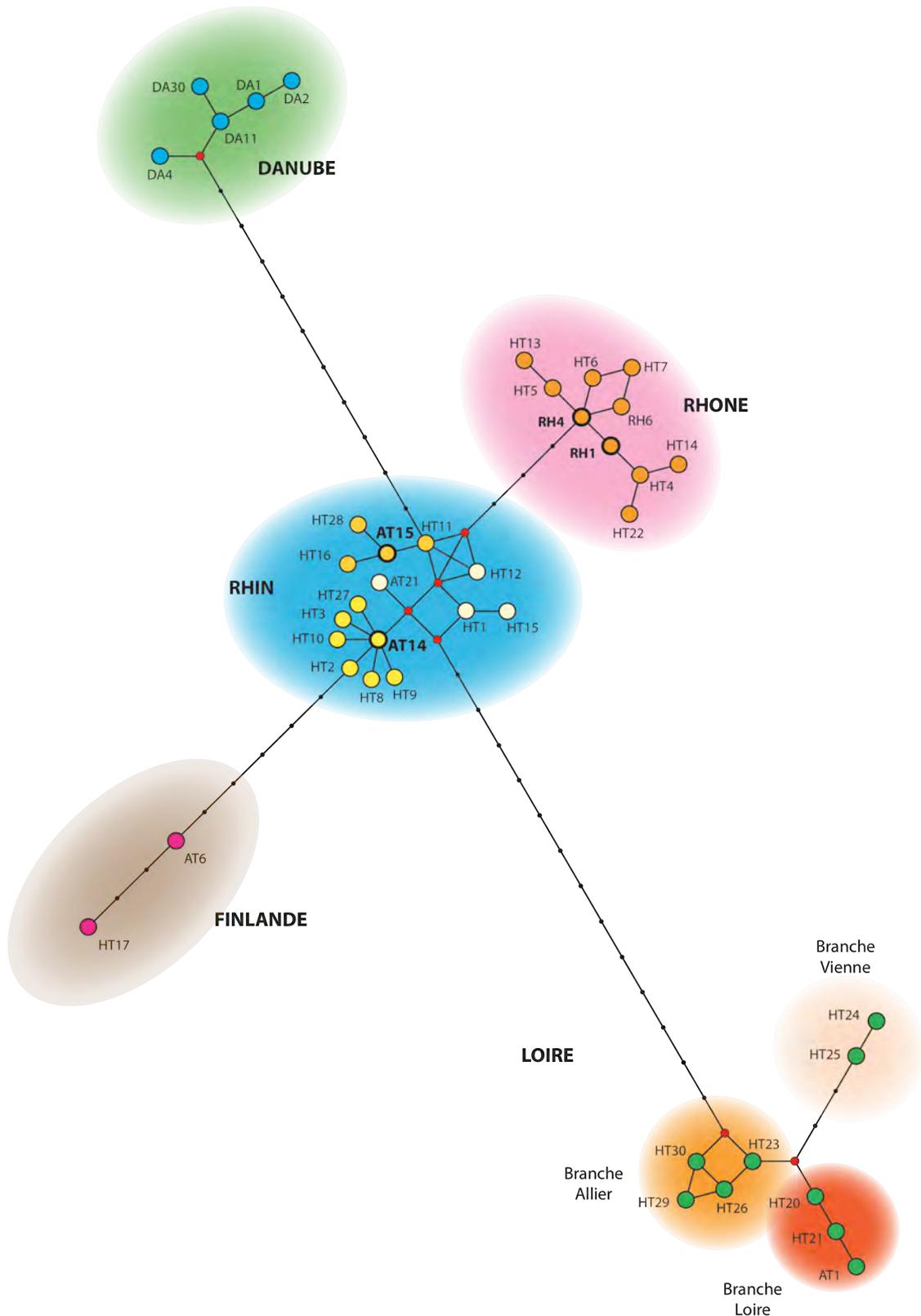


Figure 2 : ADN mitochondrial — Distances relatives entre haplotypes ligériens et vis-à-vis des grands types européens les plus proches. Les 2 haplotypes spécifiques à la Vienne correspondent à une variante assez nette du type ligérien. Chaque segment correspond à une mutation (un changement de paire de bases dans la séquence d'ADN)(le codage des haplotypes est hérité des études antérieures et n'a pas de sens très précis).

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.

La présence en Vienne d'un haplotype connu de l'Allier pourrait traduire un tel échange, mais ce dernier n'a pour l'instant été observé que dans la population la plus aval examinée. On ne peut donc écarter l'hypothèse qu'il ait été introduit avec des alevinages en provenance d'Augerolles ou de Besse qui ont élevé et élèvent encore une souche à composante Allier, même si l'analyse de l'ADNmt montre que la souche de Besse comporte toujours des gènes d'ascendance danubienne. Si on fait abstraction de cet haplotype "Allier", la diversité génétique des ombres du bassin de la Vienne apparaît très faible puisque l'on n'a observé que deux haplotypes locaux, dont l'un franchement rare puisque trouvé qu'à deux exemplaires uniquement sur la Combade. Un effort d'analyse plus important permettrait peut-être d'en trouver un ou deux de plus, avec sans doute une très faible occurrence, mais cela ne changerait rien au fait que la lignée "Vienne" présente une très faible diversité mitochondriale "naturelle".

Maintenant, il convient de souligner à quel point sa diversité mitochondriale "artificielle" est restée spectaculairement faible. En effet, dans l'hypothèse où l'haplotype "Allier" Ht26 serait issu des rempoissonnements, il serait bien le seul. Force est de constater que l'on ne retrouve aucun des haplotypes "étrangers" (en gros, le reste de la figure 2) censés avoir été introduits à l'occasion des alevinages répétés recensés depuis 1966, pas même l'haplotype Da11 pourtant encore observé dans la souche de Besse. Ces millions d'alevins ou juvéniles déversés pendant plus de 40 ans n'ont laissé quasiment aucune trace au niveau des mitochondries des 37 ombres de Haute-Vienne analysés ici. Même en multipliant le nombre de spécimens séquencés, il est peu probable que l'on retrouve pas plus d'un ou deux autres haplotypes "étrangers", et encore, avec une très faible fréquence.

Microsatellites

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

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

	N	Tar101	Tar106	Thy1	Thy62	Tth305	Tth445	Tth447	Tar104	Thy54	Tth213	Tth414	Tth446	Total
VIENNE	87	AN	7	9	1	6	5	10	4	12	4	14	6	82
Combade +		AR	NA	7,179	1,000	5,492	NA	6,923	3,854	8,635	3,000	3,990	NA	5,611
Vienne amont +		R	262-338	191-307	109-109	202-256	274-316	411-463	168-178	173-241	191-199	298-310	356-514	225-251
Vienne aval +		H_o	0,605	0,663	NA	0,675	0,556	0,692	0,598	0,727	0,595	0,675	0,585	0,698
Maulde		H_E	0,675	0,758	NA	0,665	0,584	0,765	0,652	0,743	0,649	0,688	0,830	0,777
		F_{is}	0,105	0,126	NA	-0,014	0,049	0,096	0,083	0,021	0,083	0,018	0,297*	0,102
ALLIER	42	AN	6	9	3	6	5	8	4	6	3	7	11	72
Vabres		AR	NA	6,873	2,86	4,793	NA	6,238	3,004	4,527	1,835	6,097	NA	3,377
		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	0,577
		H_E	0,581	0,814	0,556	0,712	0,742	0,723	0,530	0,587	0,070	0,782	0,812	1,000
		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
LOIRE	43	AN	5	7	3	4	5	2	4	4	3	6	4	51
amont		AR	NA	5,387	2,843	3,987	NA	2,000	3,884	3,785	2,979	4,516	NA	3,845
		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
		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
		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
BESSE	29	AN	6	12	7	8	7	10	8	10	14	12	NA	102
		AR	NA	9,627	6,519	7,03	NA	8,471	6,077	9,254	10,924	9,724	NA	6,753
		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
		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	0,270	0,038	0,386*	-0,111	-0,107	NA	0,477*
AIN	43	AN	13	10	10	4	15	23	6	20	11	15	19	154
Mollon		AR	NA	7,212	6,684	3,462	NA	15,14	3,435	12,194	8,245	10,099	NA	6,633
		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
		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
		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
OBENHEIM	40	AN	4	10	4	5	8	13	7	12	11	14	11	107
		AR	NA	8,346	3,039	4,436	NA	9,899	5,831	8,516	7,608	9,667	NA	7,018
		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
		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
		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
DANUBE	29	AN	14	8	5	6	NA	12	5	8	9	15	3	85
		AR	NA	7,511	4,285	5,061	NA	8,234	3,812	5,753	6,970	10,257	NA	NA
		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
		H_E	0,901	0,845	0,617	0,710	NA	0,764	0,574	0,679	0,764	0,862	0,615	NA
		F_{is}	-0,112	-0,02	-0,12	0,079	NA	0,053	-0,207	-0,106	-0,039	0,364*	0,162	NA

NA : non applicable (données manquantes ou insuffisantes)

La richesse allélique des trois sous-populations de la Loire (Vienne, Allier, Loire) apparaît relativement faible comparativement à celles observées sur les autres échantillons, mais, au sein de ce bassin, c'est dans le sous-bassin de la Vienne qu'elle est la plus élevée et dans la Loire en amont du Puy qu'elle est de loin la plus faible, l'Allier se situant en position intermédiaire. Inversement, c'est dans l'échantillon de la pisciculture de Besse-en-Chandesse que l'on dénote la plus forte richesse allélique, supérieure même à celle de la population naturelle la plus riche, celle de l'Ain. Par contre, cette richesse allélique s'accompagne d'un important déséquilibre Hardy-Weinberg sur deux microsattellites (Tar104 et Tth446) indiquant que cette population de Besse, ou à tout le moins le lot analysé, ne correspond pas à une population génétiquement cohérente. On observe à un moindre degré la même chose sur un des microsattellites (Tth414) de l'ensemble Vienne ce qui peut indiquer que regrouper les échantillons des quatre stations inventoriées n'était peut-être pas souhaitable. La population d'Obenheim présente aussi

un déséquilibre sur ce même marqueur alors qu'elle est globalement équilibrée, de même que la population du Danube malgré un déséquilibre sur le marqueur Tth213.

L'absence de variabilité sur Thy1 semble une particularité des populations de la Haute-Vienne, tandis que la faible variabilité sur Thy54 et Tht213, associée à une faible amplitude allélique, semble s'étendre à l'ensemble des populations du bassin de la Loire.

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 répartition des individus en cinq amas que nous avons visualisés par des couleurs différentes (figure de gauche). La décomposition de ce plan factoriel selon l'origine des échantillons (figures de droite) montre que ces amas correspondent bien à des entités populationnelles différentes.

Le premier facteur de l'analyse (c'est à dire porteur de l'information principale, axe horizontal en rouge sur le plan factoriel F1xF2 de la figure 3) sépare les individus appartenant aux trois populations ligériennes (en rouge) de tous les autres, et particulièrement de ceux de la pisciculture d'Obenheim (souche rhénane) en bleu clair. Quelle que soit leur rivière d'origine, ces trois populations ligériennes apparaissent extrêmement homogènes et semblables (nuage de points très compact) comparativement à toutes les autres.

Le second facteur de l'analyse (axe vertical en bleu sur le plan factoriel) sépare quant à lui les individus de la population danubienne (en vert) de ceux de l'Ain (en bleu sombre).

Par rapport à cette structure générale, l'échantillon de la pisciculture de Besse apparaît en position intermédiaire, mais néanmoins non au centre du plan factoriel (la croisée des axes), ce qui indique également une identité particulière

La figure 4 permet de visualiser l'information portée par les axes suivants. Le troisième facteur de l'analyse (horizontal en vert) sépare les individus de l'Ain de ceux d'Obenheim avec les individus du Danube en position intermédiaire, ce qui ne fait guère que confirmer l'information portée par le plan factoriel F1xF2 pour ces populations.

Le quatrième facteur apporte quant à lui une information nouvelle puisqu'il distingue très nettement entre elles les trois populations ligériennes initialement confondues, prouvant que malgré leur forte similitude à l'échelle globale, elles ont chacune leur identité propre.

Dans ce plan factoriel, la population de Besse se retrouve au centre, c'est à dire en position intermédiaire entre le Danube et l'ensemble ligérien sur les axes 3 et 4.

Afin de tester la pertinence de la partition en populations telle qu'elle transparaît dans l'analyse précédente, nous avons traité ce même jeu de données avec le logiciel Structure. 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, tout en mettant en évidence le degré d'appartenance de chaque individu à chaque groupe. En sortie graphique, chaque individu se voit attribuer une ou plusieurs couleurs selon qu'il comporte des traits génétiques susceptibles d'être rapportés à un ou plusieurs groupes.

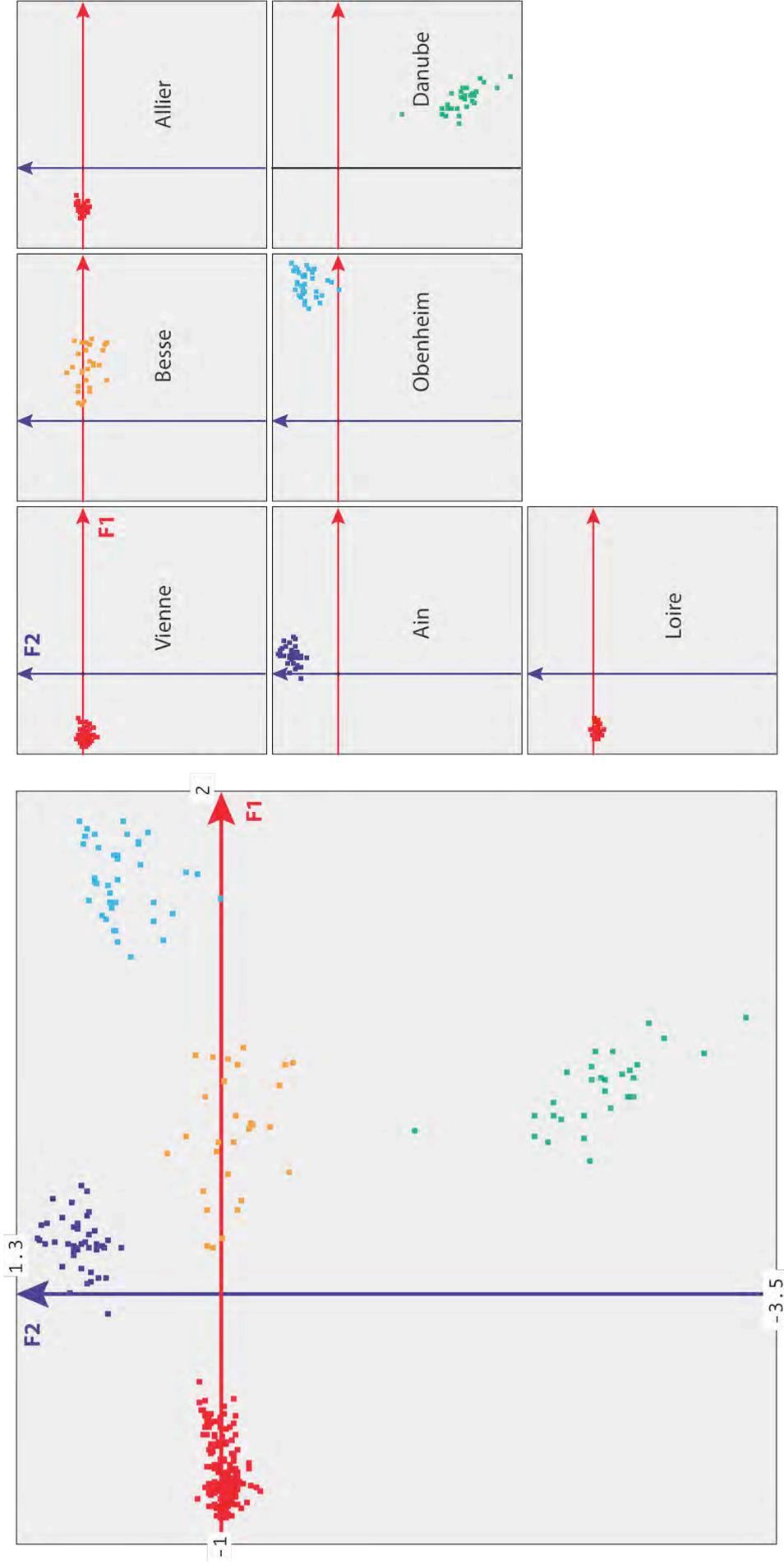


Figure 3 : Analyse factorielle des correspondances des profils génétiques microsatellites de 313 ombres de différentes origines. Plan factoriel F1x2 global, puis décomposé en 7 sous-ensembles populationnels selon les origines géographiques. Chaque point correspond à un individu.

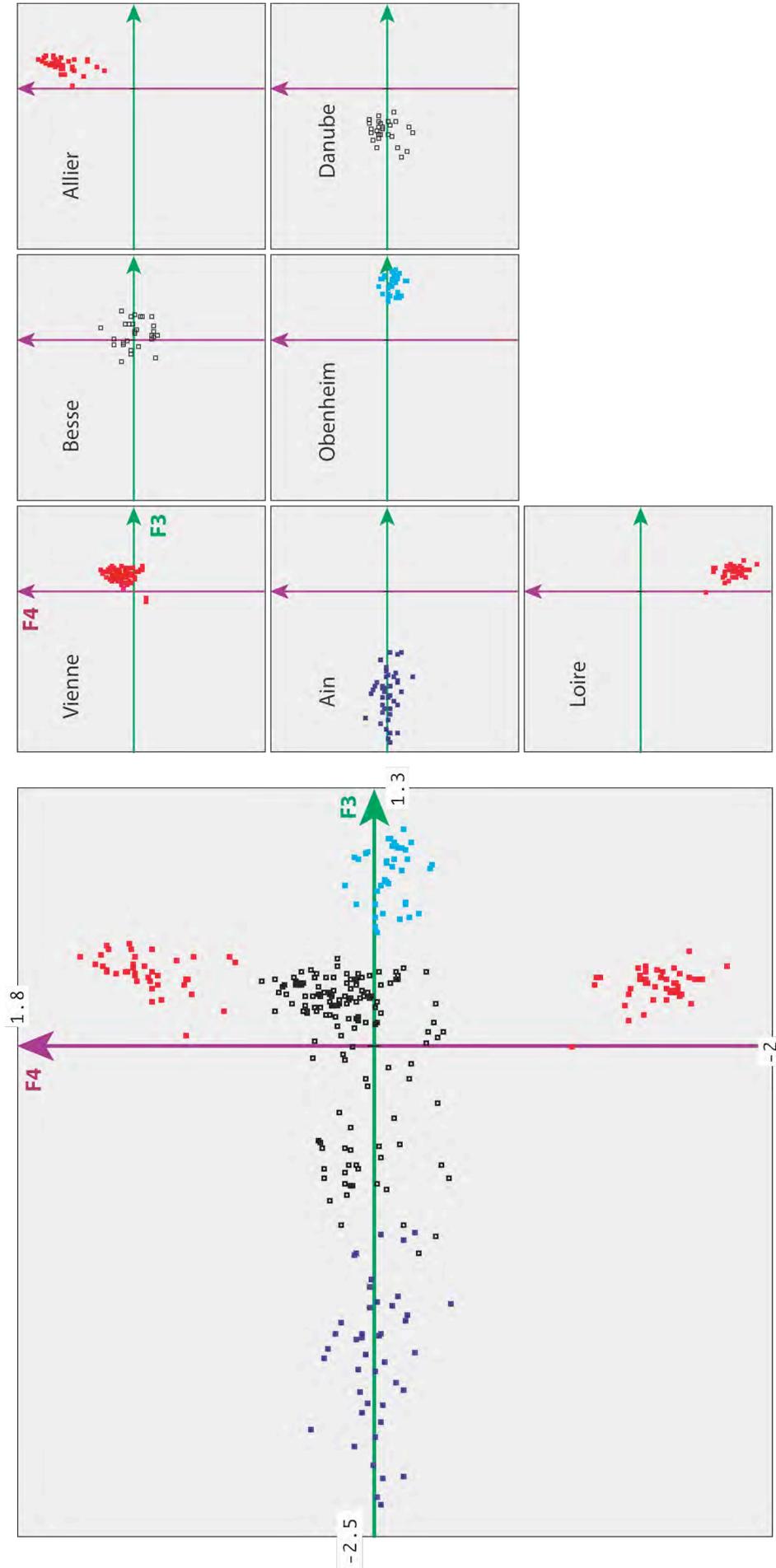


Figure 4 : Analyse factorielle des correspondances des profils génétiques microsatellites de 313 ombres de différentes origines. Plan factoriel F3xF4 global, puis décomposé en 7 sous-ensembles populationnels selon les origines géographiques.

Les valeurs du Delta K (tableau V) indiquent que la partition la plus pertinente est celle en 6 groupes qui répartissent bien les individus selon leurs origines géographiques sauf que ceux de Besse se trouvent associés à ceux du Danube dans un même groupe (le groupe II en vert clair sur la figure 5).

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	-18229,20	1,05	—	—	—
2	3	-16043,23	252,22	2185,97	312,90	1,24
3	3	-14170,17	303,85	1873,07	808,90	2,66
4	3	-13106,00	137,94	1064,17	86,77	0,63
5	3	-12128,60	51,12	977,40	22,30	0,44
6	3	-11173,50	4,12	955,10	531,43	128,93
7	3	-10749,83	2,77	423,67	310,93	112,10
8	3	-10637,10	1,91	112,73	131,53	68,94
9	3	-10655,90	142,59	-18,80	51,43	0,36
10	3	-10623,27	4,97	32,63	—	—

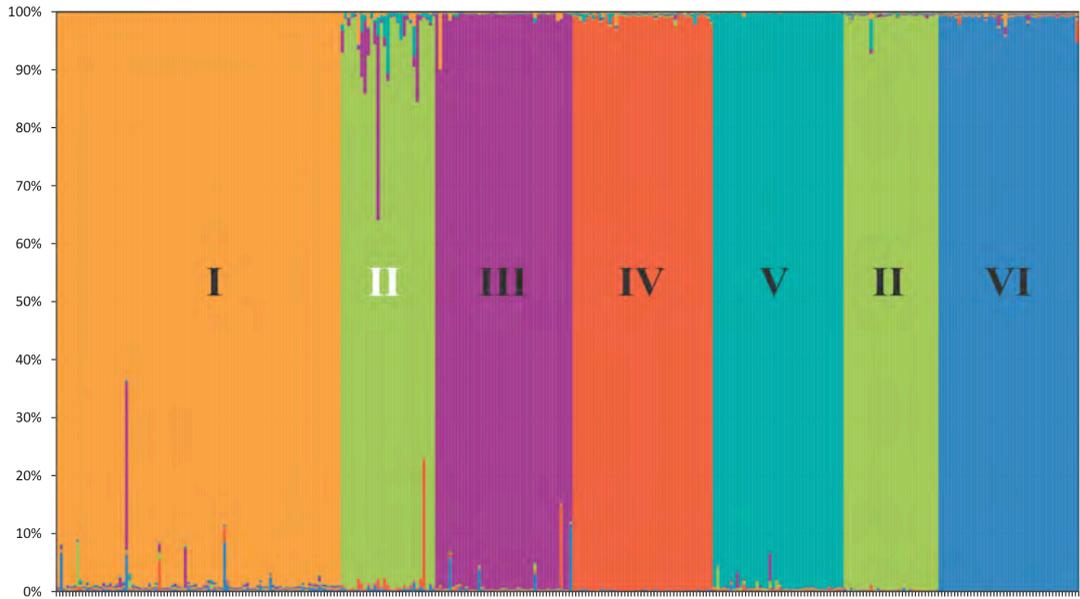
La partition en 7 groupes, statistiquement un peu moins forte, sépare par contre efficacement les individus de Besse (groupe VII en vert foncé) du groupe II Danubien. Par contre, celle en 8 groupes, nettement plus faible du point de vue statistique, ne fait que scinder en deux (VIIa et VIIb) le lot de Besse avec beaucoup d'individus à profil mixte (vert et gris) exprimant un degré d'appartenance intermédiaire à l'un ou l'autre sous-groupe. Cela pourrait résulter d'une partition peu pertinente en raison de différences génétiques trop faibles, mais en l'occurrence cela signe sans doute ici l'existence d'une population hétérogène à base d'individus danubiens comme le suggère la partition la meilleure, celle en 6 entités qui associe bien le lot de Besse à celui du Danube.

L'efficacité avec laquelle l'analyse des microsatellites sépare les individus des différentes populations indique que chacune a une identité propre ainsi que le confirme les valeurs de Fst toutes significatives, même entre les deux populations les plus proches génétiquement, celles de Besse et du Danube (Tableau VI).

*Tableau VI : Estimation des distances génétiques F_{st} prises deux à deux entre les sept populations considérées : toutes les valeurs sont significatives à une probabilité d'erreur inférieure à 1 pour mille ***.*

	VIENNE	BESSE	ALLIER	LOIRE	AIN	O BENHEIM	DANUBE
VIENNE	0						
BESSE	0.244***	0					
ALLIER	0.303***	0.248***	0				
LOIRE	0.273***	0.245***	0.308***	0			
AIN	0.370***	0.223***	0.386***	0.353***	0		
O BENHEIM	0.380***	0.177***	0.388***	0.360***	0.290***	0	
DANUBE	0.299***	0.173***	0.350***	0.334***	0.319***	0.299***	0

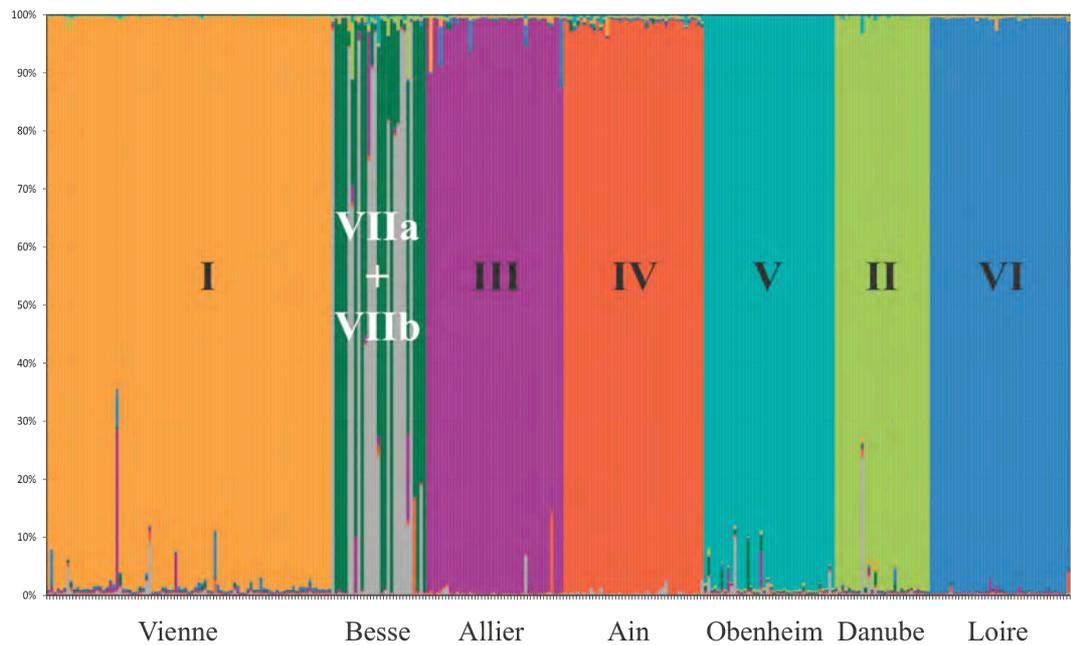
K = 6



K = 7



K = 8



Vienne

Besse

Allier

Ain

Obenheim

Danube

Loire

<==== Figure 5 : Aperçu graphique des résultats de la classification des 313 profils génétiques individuels avec le logiciel Structure, pour des partitions successives en 6, 7 et 8 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.).

Diversité génétique des populations du haut bassin de la Vienne

A l'échelle d'appréhension procurée par le jeu de données analysé précédemment, l'ensemble des populations de la haute Vienne apparaît comme très homogène (une seule entité, groupe I, dans l'analyse Structure précédente). Pour affiner notre échelle de perception, nous avons donc procédé aux mêmes analyses, mais sur les seuls 87 individus de haute Vienne.

Tableau VII : Résumé des résultats statistiques sur 12 microsatellites 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 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
COMBADE	36	AN	6	7	1	5	5	7	4	9	3	4	7	6	64
		AR	NA	5,966	1,000	4,821	NA	5,350	3,781	6,423	2,998	3,995	NA	5,540	4,430
		R	262-338	191-307	109-109	202-256	274-316	415-463	168-178	173-241	191-199	298-310	426-502	225-251	
		H_o	0,800	0,571	NA	0,636	0,500	0,697	0,528	0,759	0,618	0,690	0,591	0,657	0,641
		H_e	0,745	0,689	NA	0,600	0,643	0,743	0,628	0,690	0,623	0,724	0,769	0,762	0,692
		F_{is}	-0,077	0,173	NA	-0,061	0,229	0,063	0,161	-0,101	0,009	0,048	0,235	0,14	0,076
VIENNE aval	15	AN	5	6	1	4	4	6	3	6	3	3	6	6	53
		AR	NA	5,852	1,000	3,998	NA	5,926	3,000	6,000	3,000	3,000	NA	5,852	4,181
		R	262-338	191-307	109-109	204-256	274-316	415-459	168-178	173-241	191-199	302-310	430-502	225-251	
		H_o	0,667	0,933	NA	0,800	0,800	0,786	0,800	0,615	0,357	0,615	0,800	0,667	0,713
		H_e	0,719	0,768	NA	0,674	0,721	0,791	0,662	0,680	0,574	0,625	0,889	0,768	0,715
		F_{is}	0,077	-0,225	NA	-0,196	-0,116	0,007	-0,217	0,099	0,387	0,015	0,111	0,136	0,005
VIENNE amont	34	AN	3	6	1	4	4	7	3	7	3	4	10	5	57
		AR	NA	5,33	1,000	3,869	NA	5,001	3	5,633	3	3,78	NA	4,809	3,936
		R	262-286	191-307	109-109	204-256	274-316	411-463	168-178	185-241	191-199	298-310	356-514	225-251	
		H_o	0,471	0,647	NA	0,697	0,526	0,690	0,618	0,758	0,647	0,727	0,583	0,765	0,648
		H_e	0,433	0,769	NA	0,669	0,511	0,659	0,639	0,734	0,645	0,657	0,754	0,705	0,652
		F_{is}	-0,089	0,161	NA	-0,042	-0,032	-0,048	0,033	-0,032	-0,003	-0,109	0,231	-0,086	0,007
MAULDE	2	AN	1	2	1	1	1	1	1	2	3	1	1	2	17
		AR	NA	NA	NA										
		R	278-278	191-231	109-109	256-256	304-304	419-419	174-174	185-225	191-199	310-310	502-502	239-251	
		H_o	NA	0,500	NA	NA	NA	NA	NA	0,500	1,000	NA	NA	0,500	0,625
		H_e	NA	0,500	NA	NA	NA	NA	NA	0,500	0,833	NA	NA	0,500	0,583
		F_{is}	NA	0,000	NA	NA	NA	NA	NA	0,000	-0,333	NA	NA	0,000	-0,111

Les deux populations de la Vienne et celle de la Combade présentent des diversités génétiques assez voisines même si c'est la Combade la plus riche (Tab. VII). Surtout les trois populations sont bien chacune en équilibre Hardy-Weinberg, ce qui prouve que le déséquilibre constaté lors de l'analyse à l'échelle de l'ensemble du sous bassin était bien dû à un assemblage artificiel de populations aux caractéristiques génétiques quelques peu différentes, ce que l'on peut apprécier à travers le nombre d'allèles et l'amplitude allélique R différents selon les populations.

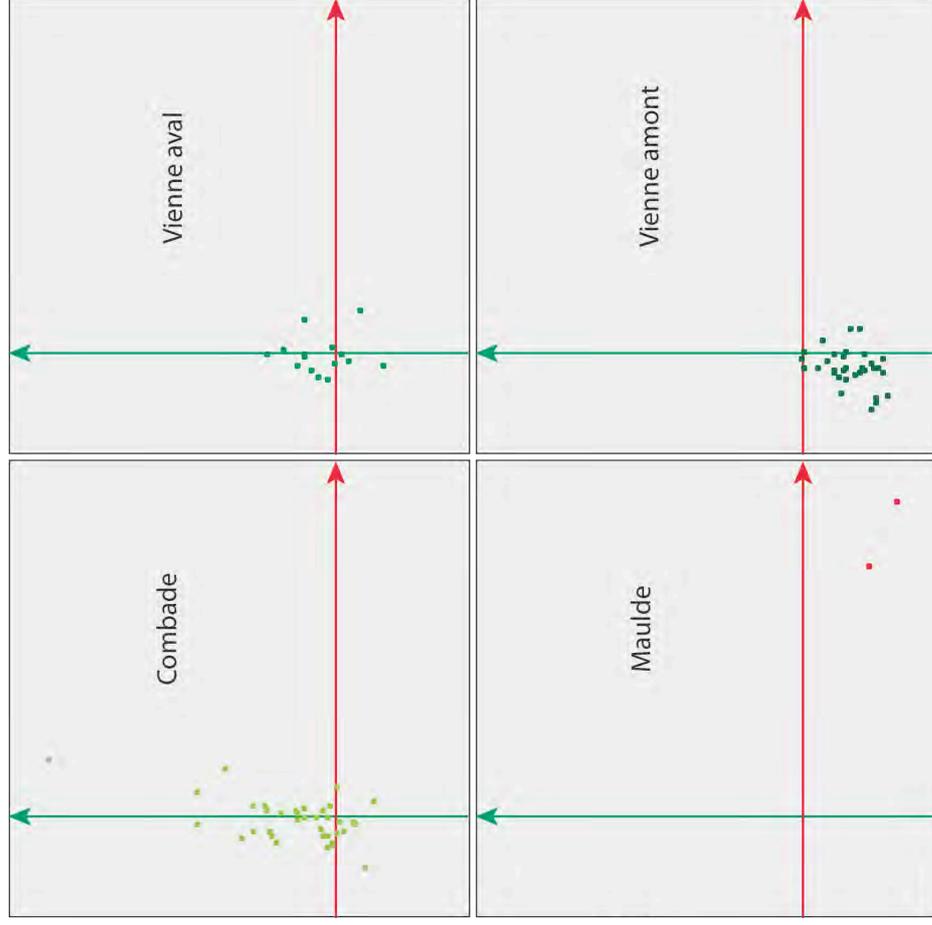
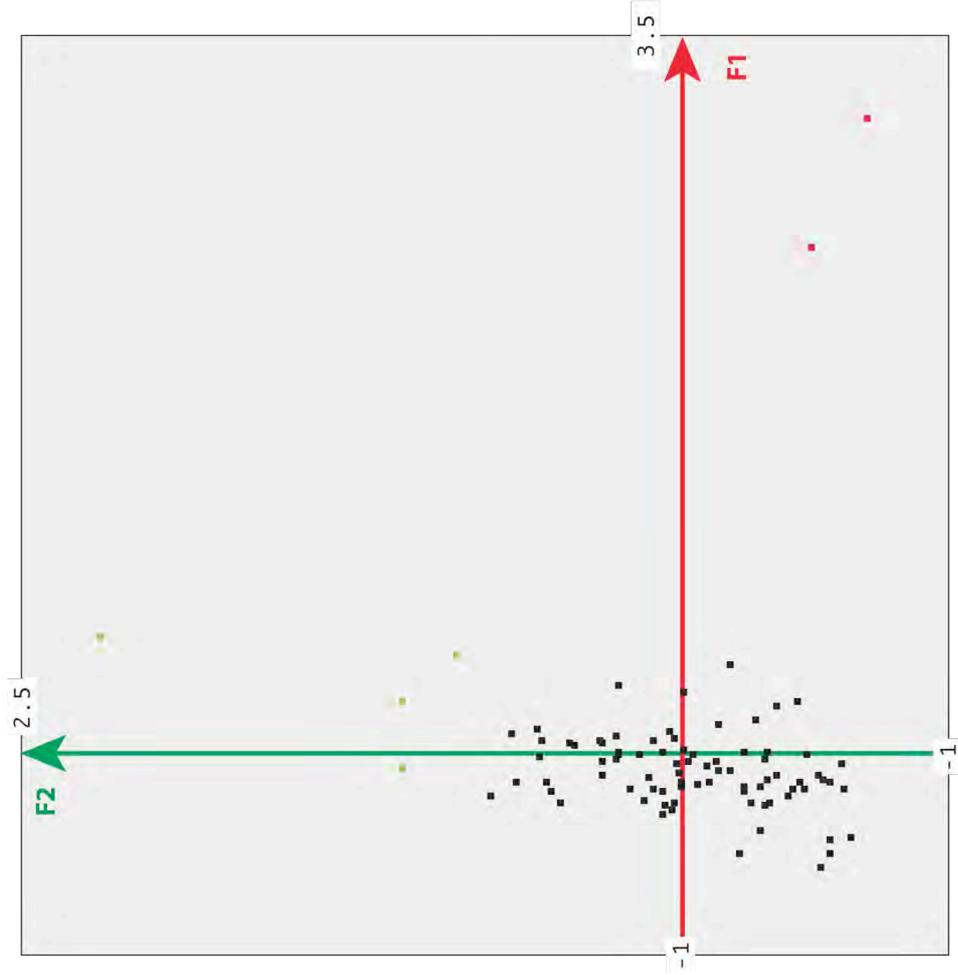


Figure 6 : Analyse factorielle des correspondances des profils génétiques microsatellites de 87 ombres de haute Vienne. Plan factoriel F1xF2 global, puis décomposé par stations de prélèvements.

Le tableau des distances génétiques (Tab. VIII) ne fait ressortir qu'une seule différence significative, entre la population de la Vienne amont et celle de la Combade. Cela indique l'absence d'échanges génétiques récents entre ces deux populations sans doute du fait de la présence d'un barrage gênant la remontée des ombres de la Combade dans la station amont de la Vienne (barrage dit de l'Usine). Les fortes valeurs associées à la Maulde n'ont aucune signification vue la taille ridicule de l'échantillon, mais on ne peut toutefois exclure qu'avec plus d'échantillons on ait pu obtenir quelque chose de plus probant, cette population étant totalement isolée de la Vienne depuis plus d'un demi-siècle.

Tableau VIII : Distances génétiques F_{st} entre les 4 échantillons populationnels de la Haute-Vienne

	Combade	Vienne aval	Maulde	Vienne amont
Combade	0			
Vienne aval	0,029	0		
Maulde	0,251	0,231	0	
Vienne amont	0,060*	0,030	0,250	0

* Différence significative

La figure 6 montre que la principale information portée par le premier axe factoriel ne concerne que les deux seuls individus que nous avons pu capturer dans la Maulde et qui se distinguent clairement de tous les autres. Le second axe se contente de répartir les individus des trois autres sites de façon relativement continue en distinguant toutefois assez nettement les poissons de la Vienne amont de ceux de la Combade qui présentent plus de diversité avec quelques excentriques, tandis que ceux de la Vienne aval se situent en position intermédiaire. Les axes factoriels suivants n'apportent pas d'information complémentaire.

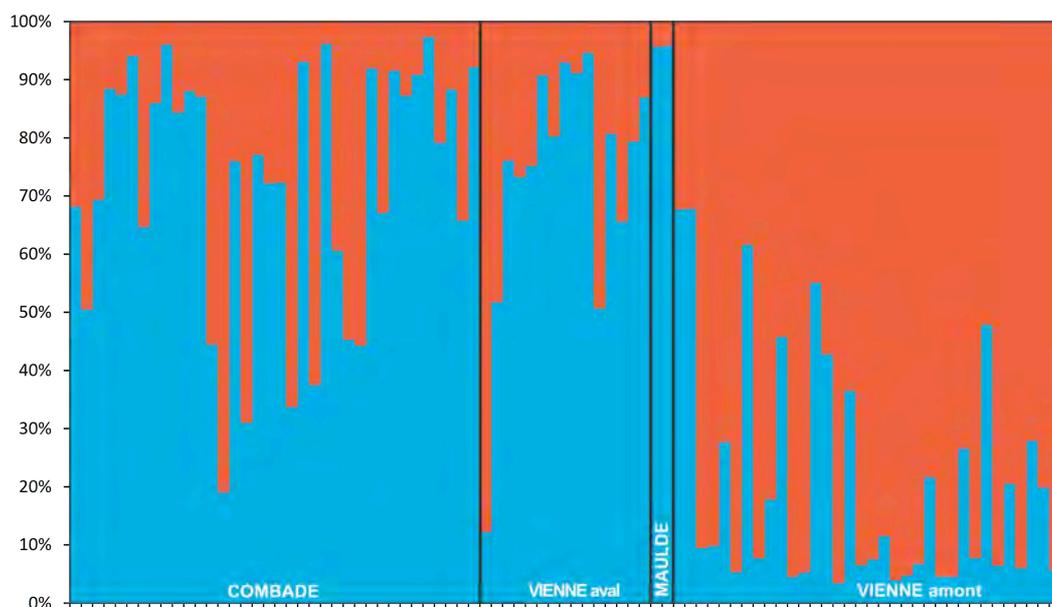


Figure 7 : Classification des 87 profils génétiques individuels des ombres de la Haute-Vienne avec le logiciel Structure selon la seule partition en deux groupes retenue par l'analyse.

L'analyse Structure (figure 7) ne propose qu'une partition en deux groupes dont la représentation graphique retrace bien une certaine originalité des individus de la Vienne amont (génotypes à dominance rouge) par rapport aux autres stations (génotypes à dominance bleue), mais tous les individus comportent les deux composantes ce qui traduit bien le fait qu'ils appartiennent tous à un même ensemble.

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

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.

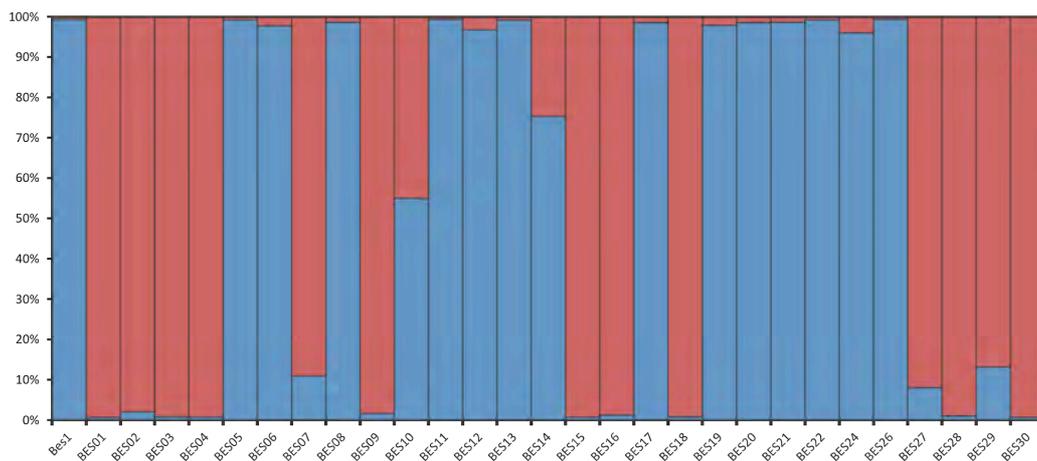
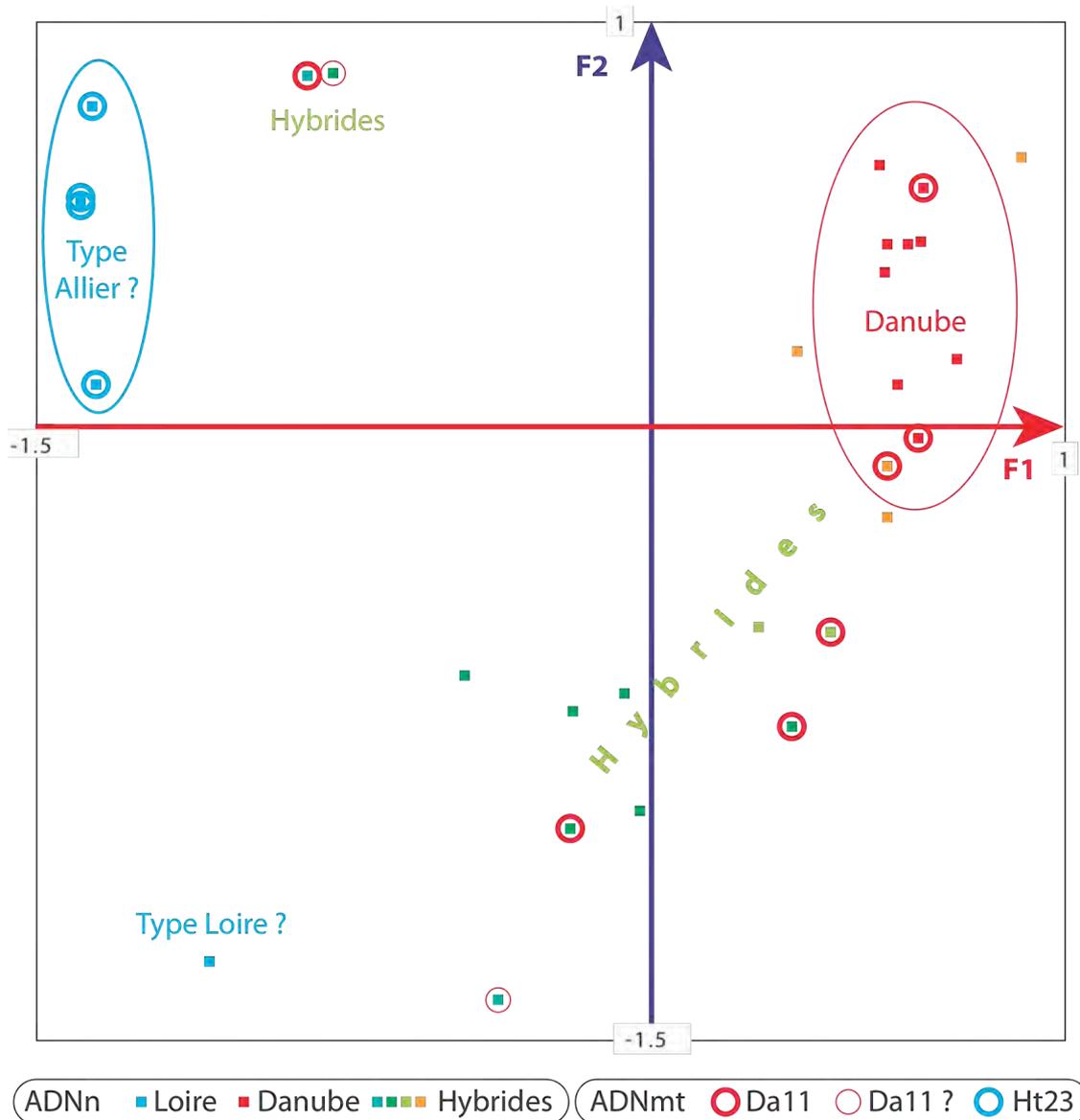


Figure 8 : Analyse factorielle des correspondances sur les profils génétiques micro-satellites de 29 individus de Besse en Chandesse et haplotypes associés) et profils microsatellites des mêmes individus selon l'unique partition en deux groupes retenue par l'analyse Structure.

Conclusion :

L'analyse génétique des populations d'ombre commun du bassin supérieur de la Vienne selon deux types de marqueurs congruents (ADN nucléaire et ADN mitochondrial) montre qu'elles présentent un profil typiquement ligérien, mais avec une composante originale qui permet d'affirmer que l'on a affaire à des populations natives spécifiques à ce sous bassin. Au sein de ce dernier, les différences génétiques entre stations apparaissent faibles quoique la population la plus amont sur la Vienne semble génétiquement un peu déconnectée de l'aval. Nous n'avons toutefois pas pu obtenir un échantillon suffisamment représentatif de la Maude pour pouvoir statuer sur cette population relictuelle, la plus isolée de toutes en raison de la présence d'une série de grands barrages en aval et en amont.

La recherche d'une influence des alevinages sur la génétique des populations locales s'est avérée négative. Le seul indice d'une éventuelle contribution extérieure ne repose que sur la présence d'un haplotype à profil plutôt Allier dans la station la plus aval sur la Vienne. Cet haplotype n'a toutefois pas été retrouvé dans le lot d'alevins en provenance de la pisciculture de Besse-en-Chandesse, a priori la seule susceptible de diffuser des génotypes ligériens. En fait, le lot en question s'est avéré fortement chargé en gènes danubiens. Toutefois, 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 pour cela procéder à un échantillonnage plus exhaustif sur l'ensemble des produits de la pisciculture.

Quoi qu'il en soit, cette étude permet d'ores et déjà d'affirmer que les populations d'ombres communs de la Haute-Vienne appartiennent à une souche locale native à forte valeur patrimoniale, non renouvelable en cas de disparition. Celle-ci mérite donc une politique de protection en conséquence, en mettant notamment un terme à toute opération de soutien artificiel avec des souches extérieures (même du reste du bassin de la Loire) dont on a pu constater au demeurant l'inefficacité totale alors que cela comporte toujours un certain risque sanitaire pour les populations natives.

Cette politique de protection doit être 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 doivent être envisagés, notamment pour réensemencer la Vienne en amont d'Eymoutiers*, la Maulde ou la Taurion, ce ne devra se faire qu'avec des poissons sauvages du sous bassin de la Vienne (géniteurs avant la fraie ou alevins à l'émergence).

* Nous n'avons pas encore de certitudes quant à une éventuelle présence de l'ombre commun autrefois en amont d'Eymoutiers, les rapides situés juste en aval au droit de l'aménagement de Bussy ayant pu constituer une barrière naturelle à sa remontée.

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.
- 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.
- 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 réplicats).

Extraction de l'ADN et analyses des microsatellites

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

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

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

Analyses statistiques

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

Une analyse factorielle des correspondances (AFC ; selon les recommandations de She *et al.* (1987) dans GENETIX 4.05) a été réalisée afin de représenter graphiquement les relations génétiques entre individus. Les 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.

Synthèse des alevinages en ombres communs pratiqués sur le bassin de la Vienne depuis le tout début en 1966

Année	Nombre	Type	date	Opérateur	Fournisseur	Population d'origine	Rivière	Secteur
1966	10 000	Alevins résorbés	13 mai	AAPPMA SNCF Limoges	Magnet, Ferrière sur Sichon	?	Vienne	de Nedde à confluence Maulde
	10 000	Alevins résorbés	17 mai	AAPPMA SNCF Limoges	Magnet, Ferrière sur Sichon	?	Vienne	de Nedde à confluence Maulde
	20 000	Alevins résorbés	MAI	Fédération	Piscic, Des Gorges du Verger Coudert, Bourgneuf (23)	?	Maulde	en amont de Peyrat le Château de Nedde à confluence Maulde
1968	20 000	Alevins résorbés	15 mai	AAPPMA SNCF Limoges	Magnet, Ferrière sur Sichon	?	Vienne	de Nedde à confluence Maulde
	20 000	Alevins résorbés		Fédération	Piscic, Des Gorges du Verger Coudert, Bourgneuf (23)	?	Maulde	en amont de Peyrat le Château de Nedde à confluence Maulde
1969	5 000	Alevins résorbés	19 mai	Fédération	Coudert, Bourgneuf (23)	?	Vienne	de Briganc à St Léonard
	5 000	Alevins résorbés	19 mai	Fédération	Coudert, Bourgneuf (23)	?	Gartempe	Folles
	5 000	Alevins résorbés	19 mai	Fédération	Coudert, Bourgneuf (23)	?	Maulde	en amont de Peyrat le Ch.
	5 000	Alevins résorbés	19 mai	Fédération	Coudert, Bourgneuf (23)	?	Combade	Amont Pont de Sussac
1970	20 000	Alevins résorbés	1er Juin	AAPPMA SNCF Limoges	Magnet, Ferrière sur Sichon	?	Vienne	de Nedde à confluence Maulde
	30 000	Alevins résorbés	19 mai	AAPPMA SNCF Limoges	Magnet, Ferrière sur Sichon	?	Vienne	de Nedde à confluence Maulde
1971	10 000	Alevins résorbés	19 mai	AAPPMA SNCF Limoges	Magnet, Ferrière sur Sichon	?	Vienne	de Nedde à confluence Maulde
	20 000	Alevins résorbés	15 mai	AAPPMA SNCF Limoges	Magnet, Ferrière sur Sichon	?	Vienne	de Nedde à confluence Maulde
	30 000	Alevins résorbés	12 mai	AAPPMA SNCF Limoges	Coudert, Bourgneuf (23)	?	Vienne	de Nedde à confluence Maulde
	15 000	Alevins résorbés	17 mai	AAPPMA SNCF Limoges	Augerolles (CSP)	?	Vienne	de Nedde à confluence Maulde
	10 000	Alevins résorbés	19 mai	AAPPMA SNCF Limoges	Augerolles (CSP)	?	Vienne	De gare de Châteauneuf aux 3 ponts
1972	80 000	Alevins résorbés	3 et 9 mai	Fédération	Coudert, Bourgneuf (23)	?	Vienne	Brignac
	10 000	Alevins résorbés	5 mai	Fédération	Coudert, Bourgneuf (23)	?	Combade	en amont du pont de Sussac
	10 000	Alevins résorbés	5 mai	Fédération	Coudert, Bourgneuf (23)	?	Gartempe	
	10 000	Alevins résorbés	9 mai	Fédération	Coudert, Bourgneuf (23)	?	Maulde	en amont de Peyrat le Château
1973	12 500	Alevins résorbés	29 mai	Fédération	Coudert, Bourgneuf (23)	?	Vienne	Pont du Fournet, la Villeneuve, Nedde
	12 500	Alevins résorbés	29 mai	Fédération	Coudert, Bourgneuf (23)	?	Vienne	Bussy, Usine
	12 500	Alevins résorbés	29 mai	Fédération	Coudert, Bourgneuf (23)	?	Maulde	en amont de Peyrat le Château
	12 500	Alevins résorbés	29 mai	Fédération	Coudert, Bourgneuf (23)	?	Vienne	de St Denis les Murs au Pénitent
	7 000	Alevins résorbés	10 juin	Fédération	Augerolles (CSP)	?	Combade	Sussac à Châteauneuf la Forêt
1974	?	Alevins résorbés	?	?	?	?	Gartempe	Moulin Neuf à Rocherolles
	7 000	Alevins résorbés	10 juin	Fédération	Augerolles (CSP)	?	Vienne	des 3 ponts à St Denis les Murs
	100 000	Alevins résorbés	7 mai	Fédération	Coudert, Bourgneuf (23)	?	Maulde	Pt de la Jeanne, amont Peyrat le Ch.
	répartis sur quatre rivières	Alevins résorbés		Fédération		?	Gartempe	La Filature, Folles, Rocherolles
		Alevins résorbés		Fédération		?	Combade	Sussac
1975	20 000	Alevins résorbés		Fédération	Coudert, Bourgneuf (23)	?	Vienne	du Fournet à Brignac
	10 000	Alevins résorbés		Fédération	Coudert, Bourgneuf (23)	?	Vienne	du Chalard aux 3 Ponts
1976	1 200	Ombrets	22 octobre	CSP D.R. Clermont	Augerolles (CSP)	?	Vienne	Bussy et amont St Denis des M. de Villeneuve au Chalard
	35 000	Alevins résorbés	11 juin	Fédération	Chauvey, Appenans (25)	?	Maulde	en amont de Peyrat le Château
	5 000	Alevins résorbés	11 juin	Fédération	Chauvey, Appenans (25)	?	Vienne	du Fournet aux 3 Ponts

==>

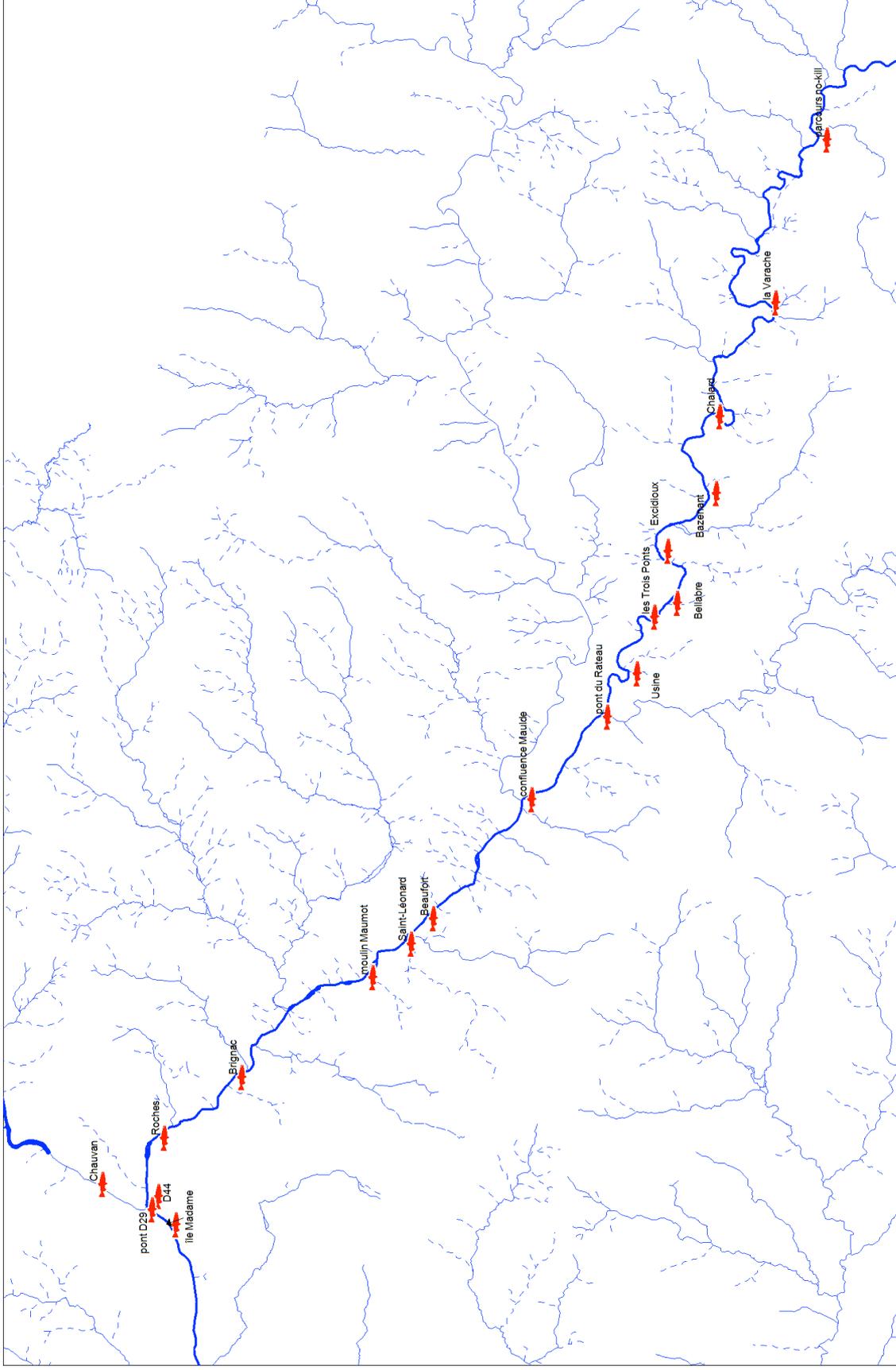
1977	10 000 60 000 15 000 500 500 1 000	Alevins résorbés Alevins résorbés Alevins résorbés Ombrets Ombrets Ombrets	13 mai 13 mai 13 mai 14 novembre 14 novembre 14 novembre	Fédération Fédération CSP D.R. Clermont CSP D.R. Clermont CSP D.R. Clermont CSP D.R. Clermont	Coudert, Bourgneuf (23) Coudert, Bourgneuf (23) Augerolles (CSP) Augerolles (CSP) Augerolles (CSP) Augerolles (CSP)	? ? ? ? ? ?	Maulde Vienne Vienne Maulde Vienne Vienne	en amont de Peyrat le Château du Fournet à Saint Denis des Murs Le Chalard, 3 Ponts, St Denis les Murs Amont et aval Pont de la Jeanne de Boucheferol à Nedde Le Chalard
1978	5 000 10 000 40 000	Alevins résorbés Alevins résorbés Alevins résorbés	10 juin 10 juin 10 juin	CSP D.R. Clermont CSP D.R. Clermont CSP D.R. Clermont	Magnet, Ferrière sur Sichon Magnet, Ferrière sur Sichon Magnet, Ferrière sur Sichon	? ? ?	Maulde Combade Vienne	en amont de Peyrat le Château Les Ribières et amont du Pont de Bord du Fournet à St Denis des Murs
1979	10 000 10 000 10 000 30 000 5 000 2 000	Alevins résorbés Alevins résorbés Ombrellons Ombrellons Ombrellons Ombrets	15 mai 15 mai 20 juin 20 juin 20 juin 30 novembre	Fédération Fédération Fédération Fédération CSP D.R. Clermont CSP D.R. Clermont	Coudert, Bourgneuf (23) Coudert, Bourgneuf (23) Magnet, Ferrière sur Sichon Magnet, Ferrière sur Sichon Augerolles (CSP) Augerolles (CSP)	? ? ? ? ? ?	Maulde Vienne Combade Vienne Vienne Vienne	en amont de Peyrat le Château de Nedde à Eymoutiers Les Ribières, Pont de Bord de Bussy à St Denis les Murs Pont de Bazenant de Bussy à St Denis les Murs
1980	30 000 10 000 30 000 40 000 920	Alevins résorbés Alevins résorbés Alevins résorbés Alevins résorbés Ombrets	14 mai 14 mai 21 mai 11 juin 27 novembre	Fédération Fédération CSP D.R. Clermont Fédération Fédération	Coudert, Bourgneuf (23) Coudert, Bourgneuf (23) Augerolles (CSP) Magnet, Ferrière sur Sichon Augerolles (CSP)	? ? ? ? ?	Combade Maulde Vienne Vienne Vienne	du Moulin Chamont à Bussy Ste Anne Artin du Pont du Fournet à Charmaillat de gare de Bussy à Saint Denis des M. de Bussy au confluent de la Maulde
1981	20 000 20 000 10 000 40 000 3 500	Alevins résorbés Alevins résorbés Alevins résorbés Alevins résorbés Ombrets	30 avril 15 mai 15 mai 19 juin 16 octobre	CSP D.R. Clermont Fédération Fédération Fédération CSP D.R. Clermont	Augerolles (CSP) Coudert, Bourgneuf (23) Coudert, Bourgneuf (23) Magnet, Ferrière sur Sichon Augerolles (CSP)	? ? ? ? ?	Vienne Combade Maulde Vienne Vienne	du Pont du Fournet à Charmaillat du Moulin Chamont à Bussy de Peyrat le Château à Artin de Bussy à St Denis les Murs de Bussy à Sampinet
1982	18 000 12 000 15 000 40 000 1 000 2 000	Alevins résorbés Alevins résorbés Alevins résorbés Alevins résorbés Ombrets Ombrets	14 mai 14 mai 19 mai 15 juin 22 septembre 22 septembre	Fédération Fédération CSP D.R. Clermont Fédération CSP D.R. Clermont CSP D.R. Clermont	Coudert, Bourgneuf (23) Coudert, Bourgneuf (23) Augerolles (CSP) Magnet, Ferrière sur Sichon Augerolles (CSP) Augerolles (CSP)	? ? ? ? ? ?	Combade Maulde Vienne Vienne Maulde Vienne	du Moulin Chamont à Pont de Bord de Peyrat le Château à Artin du Pont du Fournet à Eymoutiers de Bussy à St Denis les Murs en amont de Peyrat le Château Nedde, Eymoutiers
1983	13 000 27 000 40 000 5 000	Alevins résorbés Alevins résorbés Alevins résorbés Ombrellons	18 mai 18 mai 10 juin 1er Juillet	Fédération Fédération Fédération CSP D.R. Clermont	Coudert, Bourgneuf (23) Coudert, Bourgneuf (23) Magnet, Ferrière sur Sichon Augerolles (CSP)	? ? ? ?	Maulde Vienne Vienne Vienne	en amont de Peyrat le Château du Pont du Fournet à Nedde de Buzzy-Varache gare à la Maulde de Lartige à Brignac
1984	30 000 40 000 5 000 1 500	Alevins résorbés Alevins résorbés Ombrellons Ombrets	10 mai 23 mai 23 mai 26 octobre	SRAE et CSP D.R. Clermont Fédération CSP D.R. Clermont CSP D.R. Clermont	Augerolles (CSP) Coudert, Bourgneuf (23) Augerolles (CSP) Augerolles (CSP)	? ? ? ?	Briance Vienne Vienne Briance	en aval du moulin de Richebourg du Pont du Fournet à Eymoutiers de Bussy à St Denis les Murs à Pierre-Bufferre
1985	30 000 5 000 35 000 800 3 200	Alevins résorbés Alevins résorbés Alevins résorbés Ombrets Ombrets	15 mai 11 juin 11 juin 1er octobre 1er octobre	CSP D.R. Clermont Fédération Fédération CSP D.R. Clermont CSP D.R. Clermont	Augerolles (CSP) Coudert, Bourgneuf (23) Coudert, Bourgneuf (23) Augerolles (CSP) Augerolles (CSP)	? ? ? ? ?	Briance Maulde Vienne Taurion Vienne	du moulin de la Roche à Richebourg en amont de Peyrat le Château amont et aval Eymoutiers aval du Chauvan à St Priest Taurion Saint Priest Taurion, le Palais

==>

1986	35 000 5 000 5 000 2 700 2 500 5 000	Alevins résorbés Alevins résorbés Alevins résorbés Ombrets Ombrets Ombrets	20 mai 20 mai 20 mai 27 juillet 27 juillet 27 juillet	Fédération Fédération Fédération CSP D.R. Clermont CSP D.R. Clermont CSP D.R. Clermont	Coudert, Bourgneuf (23) Coudert, Bourgneuf (23) Coudert, Bourgneuf (23) Augerolles (CSP) Augerolles (CSP) Augerolles (CSP)	? ? ? ? ? ?	Vienn Maulde Vienn Gartempe Vienn Briance	du Pont de Rempnat à St Léonard en amont de Peyrat le Château en aval du barrage du Paais du Pt de Mazeras au Viaduc de Rocher. de St Priest T. à l'aval barrage du Palais de la Roche au moulin de Richebourg d'Eymoutiers au Palais sur Vienn de St Denis les Murs à St Léonard de N. de Lartige à Pont de Noblat de Brignac à Limoges de l'Aiguille à Pont de la Gabie de l'Aiguille à Pont de la Gabie du Pt de la Roche au moulin de Rocher. de la Boilerie au Pont de la Gabie	
1987	25 000 4 500 500 4 000 500 1 500 4 100 2 900	Alevins résorbés Ombrellons juvéniles Ombrellons juvéniles Ombrellons Ombrets Ombrets	15 mai 25 juin 25 juin 25 juin 25 juin 25 juin 20 octobre 20 octobre	Fédération CSP D.R. Clermont CSP D.R. Clermont CSP D.R. Clermont CSP D.R. Clermont CSP D.R. Clermont CSP D.R. Clermont CSP D.R. Clermont	Coudert, Bourgneuf (23) Augerolles (CSP) Augerolles (CSP) Augerolles (CSP) Augerolles (CSP) Augerolles (CSP) Augerolles (CSP) Augerolles (CSP)	? ? ? ? ? ? ? ?	Vienn Vienn Vienn Vienn Vienn Briance Maulde Vienn Vienn Briance Gartempe Vienn Taurion Vienn Vienn Vienn Gartempe Vienn Briance	en amont de Peyrat le Château Le Fournet et Villeneuve Bussy et le Chatalard à Pierre-Bufferière Folles, Bessines de St Léonard au Palais sur Vienn St Priest Taurion de Aix sur Vienn à Verneuil sur V. St Denis des Murs, Verneuil sur Vienn Pont de Mazéras à Coulerolles de Nedde à Masléon à Pierre-Bufferière	
1988	5 000 5 000 10 000 10 000 10 000 27 500 2 500 10 000 6 000 1 000 3 000 2 800 1 200	Alevins résorbés Alevins résorbés Alevins résorbés Alevins résorbés Alevins résorbés Alevins résorbés Alevins résorbés Alevins résorbés Ombrets Ombrets Ombrets Ombrets Ombrets	25 avril 25 avril 25 avril 25 avril 25 avril 27 avril 27 avril 27 avril 14 septembre 14 septembre 14 septembre 6 octobre 6 octobre	CSP D.R. Clermont CSP D.R. Clermont	Augerolles (CSP) Augerolles (CSP)	? ? ? ? ? ? ? ? ? ? ? ? ?	Maulde Vienn Vienn Briance Gartempe Vienn Taurion Vienn Vienn Vienn Gartempe Vienn Briance	en amont de Peyrat le Château Le Fournet et Villeneuve Bussy et le Chatalard à Pierre-Bufferière Folles, Bessines de St Léonard au Palais sur Vienn St Priest Taurion de Aix sur Vienn à Verneuil sur V. St Denis des Murs, Verneuil sur Vienn Pont de Mazéras à Coulerolles de Nedde à Masléon à Pierre-Bufferière	
1989									
1990									
1991									
1992									
1993									
1994	400 10 000 2 000	Juveniles Ombrets Ombrets	9 novembre 9 novembre 9 novembre	CSP D.R. Clermont CSP D.R. Clermont CSP D.R. Clermont	Augerolles (CSP) Augerolles (CSP) Augerolles (CSP)	? ? ?	Vienn Vienn Briance	St Léonard amont Maulde de St Léonard à Aix sur Vienn ?	
1995	6 000 1 000	Alevins résorbés Alevins résorbés	25 octobre 25 octobre	CSP D.R. Clermont CSP D.R. Clermont	Augerolles (CSP) Augerolles (CSP)	? ?	Vienn Briance	de St Léonard à Aix sur Vienn ?	
1996									
1997									
1998									
1999									
2000									
2001									

====>

2002	14 000 2 000	Alevins résorbés Alevins résorbés	17 octobre 17 octobre	Fédération Fédération	Besse Besse	?	Vienna Taurion	des 3 Ponts à l'île Madame aval du Chauvan
2003	7 000 2 000	Alevins résorbés Alevins résorbés	24 octobre 24 octobre	Fédération Fédération	Besse Besse	?	Vienna Taurion	des 3 Ponts à l'île Madame aval du Chauvan
2004	17 000 3 000	Alevins résorbés Alevins résorbés	05 octobre 05 octobre	Fédération Fédération	Besse Besse	?	Vienna Taurion	de Bazenant à l'île Madame aval du Chauvan
2005	20 000 2 000	Alevins résorbés Alevins résorbés	06 octobre 06 octobre	Fédération Fédération	Besse Besse	?	Vienna Taurion	de Bazenant à l'île Madame aval du Chauvan
2006	9 000 2 000 3 000	Alevins résorbés Alevins résorbés Juvéniles	13 octobre 13 octobre 13 octobre	Fédération Fédération Fédération	Besse Besse Besse	?	Vienna Taurion Vienna	de Bazenant à l'île Madame aval du Chauvan Confl. Maulde, St Léonard, île Madame
2007	17 000	Alevins résorbés	18 octobre	Fédération	Besse	?	Vienna	Varache - le Chalard
2008	6 300	Juvéniles	20 mai	Fédération	Besse	?	Vienna	du no-kill à Brignac
2009	10 800 1 200	Juvéniles Juvéniles	19 mai 19 mai	Fédération Fédération	Besse Besse	?	Vienna Taurion	du no-kill au Moulin des Roches aval du Chauvan
2010	20 000	Alevins résorbés	26 octobre	Fédération	Besse	?	Vienna	du no-kill au boulodrome (l'Usine)
2011	10 000	Juvéniles	31 mai	Fédération	Besse	?	Vienna	de la Maulde au Moulin des Roches
2012	10 000	Juvéniles	22 mai	Fédération	Besse	?	Vienna	du no-kill au ax Trois Ponts



Sites des alevinages en ombre pratiqués par la Fédération de Pêche de Haute-Vienne depuis 2002.

