



**Examen génétique de l'impact des empoisonnements en ombres communs  
(*Thymallus thymallus*) sur les populations natives d'ombres d'Auvergne  
(*Thymallus ligericus*) dans le département de la Haute-Loire**

Henri PERSAT \*, David Fröhlich \*\* & Steven WEISS \*\*

\* Société Française d'Ichtyologie, 1 rue des Epis 69500 Bron, France

\*\* Université Karl-Franzens, Institut de Zoologie, Universitätsplatz 2, A-8010 Graz, Autriche



Spécimen de *Thymallus ligericus* souche pure en 2016  
(pêche Fédération de Pêche de Haute-Loire)

**2023**



Figure 1 : Répartitions géographiques des populations naturelles\* d'ombre commun *Thymallus thymallus* en jaune et d'ombre d'Auvergne, *Thymallus ligericus*, en rouge.  
\* Il existe ailleurs en France de nombreuses populations implantées d'ombres d'espèces à préciser.

## Introduction

L'ombre d'Auvergne (fig. 1), jusqu'à récemment confondu taxonomiquement avec l'ombre commun européen *Thymallus thymallus* (Linnaeus 1758) a été régularisé au rang d'espèce à part entière *Thymallus ligericus* en raison de ses caractéristiques, notamment génétiques, particulières (Persat & coll 2019).

C'est une espèce autochtone patrimoniale rare, endémique du bassin de la Loire, et à fort intérêt halieutique. Comme son proche cousin l'ombre commun, il subit une nette régression de ses populations, historiquement du fait de l'aménagement et de la pollution des cours d'eau, et plus récemment du fait du réchauffement climatique heureusement partiellement compensé par la réduction des pollutions et la suppression d'ouvrages hydrauliques superflus, mais également par l'instauration d'une réglementation halieutique beaucoup plus protectionniste. L'espèce reste néanmoins classée VU (vulnérable) selon les critères UICN dans la Liste Rouge Régionale Auvergne-Rhône-Alpes.

Les études sur l'écologie des ombres, qu'ils soient de l'espèce commune ou d'Auvergne, ont mis en évidence une distribution initiale très fragmentée, morcelée (Persat 1996), et qui a encore beaucoup évolué depuis (Persat 2011). Ainsi l'analyse génétique 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 d'ombre commun du Haut Rhône savoyard (Persat and Eppe 1997). Avec l'évolution des méthodes d'analyse moléculaire, nous disposons aujourd'hui d'outils plus performants nous permettant d'appréhender des disfonctionnements au sein des populations à des échelles de temps et d'espace relativement réduites (Grès et al. 2006).

Les populations du bassin de la Loire ont déjà fait l'objet de plusieurs études génétiques, les toutes premières remontant aux analyses du polymorphisme enzymatique par K. Soewardi (1988). Elles ont par la suite porté sur le séquençage d'une partie du génome de l'ADN mitochondrial (Région de Contrôle), puis l'analyse des microsatellites de l'ADN nucléaire (Grès & coll., 2006; Persat & coll., 2013, 2016, 2018, 2019, 2020, 2021) avec notamment une première étude centrée sur le département de la Haute Loire (Persat & coll., 2013) dont je rappellerai ci-dessous les conclusions :

*" En résumé, cette étude permet d'ores et déjà d'affirmer que les populations d'ombres communs (depuis reclassés en ombres d'Auvergne) de la Haute-Loire appartiennent à des souches locales natives à forte valeur patrimoniale, non renouvelables en cas de disparition. Celles-ci méritent donc une politique de protection en conséquence, en mettant notamment un terme à toute opération de soutien artificiel avec des souches extérieures, et même avec des souches d'une autre branche du bassin de la Loire. D'ailleurs, même pour ce qui est du soutien local avec des souches locales, on est en droit de se demander si cela en vaut vraiment la peine, d'autant que cela peut comporter un certain risque sanitaire pour les populations natives.*

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

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

Malgré ces recommandations, il s'avère qu'il a été procédé depuis à un certain nombre d'opérations d'alevinages à l'initiative de différentes entités gestionnaires de la pêche sans que nous en soit communiqué un inventaire précis (dates, lieux, origines des ombres, classes d'âge, effectifs...).

A la suite de ces introductions, il est apparu néanmoins souhaitable à la Fédération de Pêche de la Haute-Loire de s'adosser à l'étude lancée par la Fédération de Pêche du Puy de Dôme sur ses propres populations pour faire procéder à l'analyse d'un petit nombre d'individus collectés sur les parcours alevinés en Haute-Loire afin d'avoir une petite idée de l'efficacité et de l'impact de ces alevinages sur les populations locales.

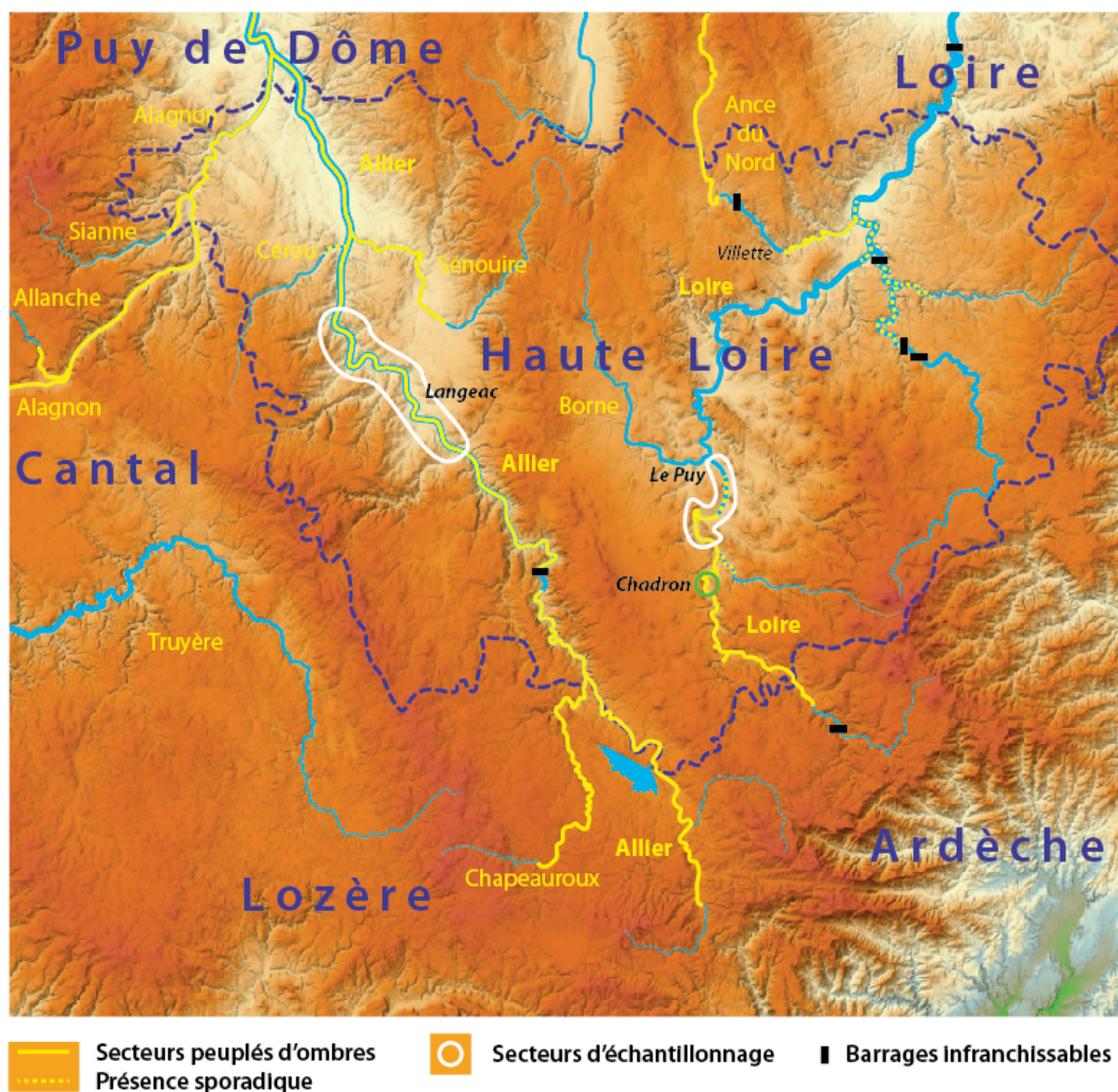


Figure 2 : Localisation des deux secteurs d'échantillonnage des ombres par pêche à la ligne en 2020 sur l'Allier et la Loire.

La Fédération a donc fait procéder à la capture par pêche à la ligne de deux lots d'individus sur les secteurs alevinés de l'Allier et de la Loire en septembre 2020 (Tableau I). Un petit bout de nageoire a été prélevé sur chaque poisson et conservé à l'alcool à 96°, le poisson étant immédiatement remis à l'eau en parfaite condition. Les

échantillons ont ensuite été expédiés pour analyse à l'équipe de Steven Weiss, spécialiste de la génétique des salmonidés et tout particulièrement des ombres, à l'Université de Graz, Autriche. Les résultats ont ensuite été transmis à Henri Persat pour validation, interprétation et rédaction du rapport final.

Dans ce contexte, le présent travail a visé à :

- ***Evaluer l'efficacité des alevinages ;***
- ***Evaluer la "valeur patrimoniale" des populations locales susceptibles d'avoir intégré des gènes "exotiques" apportés par ces alevinages ;***
- ***Proposer, si nécessaire, des mesures de gestion adaptées aux caractéristiques génétiques des populations résultantes.***

### **Contexte local :**

Dans le département de la Haute-Loire, les populations d'ombre d'Auvergne occupent presque tout le cours de l'Allier (jusqu'en Lozère) et l'aval de ses affluents, la Sénouire et l'Alagnon (l'essentiel de cette dernière population se situant plus en amont dans le département du Cantal), le cours aval de l'Ance du Nord, et le cours supérieur de la Loire en amont de Brives-Charensac (fig. 2).

### **Echantillonnage :**

Pour établir les profils génétiques des populations d'ombres de l'Allier et de la Loire, la Fédération de Pêche de la Haute-Loire a fait procéder en fin de saison 2020 à la capture par pêche à la ligne de 25 individus de l'Allier et 12 de la Loire (détails des dates et lieux de capture dans le tableau I. Les spécimens capturés étaient essentiellement des juvéniles ou des sub-adultes (tailles de 10 à 30 cm, âges de 0+ à  $\geq 3+$ ) appartenant donc à trois ou quatre cohortes différentes : 2017-2018, 2019 et 2020. Les plus petits individus (10 cm) proviennent probablement d'alevinages dans les semaines précédentes car, vu la date de capture, ceux nés dans la nature devraient atteindre au moins 12 cm (*à charge à la Fédération de vérifier s'il y a bien eu des alevinages peu de temps auparavant dans ces secteurs*)

Pour resituer les résultats dans le contexte général du bassin de la Loire, les données ont été intégrées à l'ensemble de celles déjà disponibles sur ce bassin, et comparées à ce que l'on a pu obtenir sur les souches de piscicultures d'ombres des deux espèces (*T. ligericus* et *T. thymallus*) susceptibles d'avoir été utilisées anciennement ou récemment dans des opérations de repeuplements.

Les échantillons sont constitués de tous petits bouts de nageoires prélevés sur place et préservés dans l'alcool à 96 %, les poissons étant immédiatement restitués à la rivière.

Le tableau A en annexe fournit la liste des échantillons. Les 37 échantillons de 2020 ont été traités par analyses microsatellites (ADN nucléaire) et séquençage de la Région de Contrôle de l'ADN mitochondrial, et les résultats ont été confrontés aux 230 échantillons "Puy-de-Dôme" analysés pour le compte de la Fédération de Pêche du même nom, et 384 échantillons plus anciens en provenance de diverses populations ligériennes (Combade-Vienne,, Loire supérieure et haut Alagnon), de la basse rivière

d'Ain, de trois piscicultures (Chazey-Bons, Chauvey et Obenheim) et du Danube autrichien.

Tabelau I : Références des échantillons Haute-Loire 2020 analysés.

| Code OBR | Date   | Nom Pêcheur | Rivière | Commune                  | Lieu-dit         | Coordonnées géographiques |                | Taille (cm) | Adipeuse |
|----------|--------|-------------|---------|--------------------------|------------------|---------------------------|----------------|-------------|----------|
|          |        |             |         |                          |                  | Latitude                  | Longitude      |             |          |
| ALL 1    | 01-oct | NICOLAS     | Allier  | Chanteuges               | La Gravière      | 45° 4' 18.4" N            | 3° 32' 38.2" E | 15          | Présente |
| ALL 2    | 01-oct | COLIN       | Allier  | Langeac                  | Camping          | 45° 6' 20.6" N            | 3° 30' 15.3" E | 29          | Présente |
| ALL 3    | 01-oct | COLIN       | Allier  | Langeac                  | Camping          | 45° 6' 20.6" N            | 3° 30' 15.3" E | 25          | Présente |
| ALL 4    | 01-oct | COLIN       | Allier  | Langeac                  | Camping          | 45° 6' 20.6" N            | 3° 30' 15.3" E | 40          | Présente |
| ALL 5    | 01-oct | COLIN       | Allier  | Langeac                  | Camping          | 45° 6' 20.6" N            | 3° 30' 15.3" E | 30          | Présente |
| ALL 6    | 01-oct | COLIN       | Allier  | Langeac                  | Camping          | 45° 6' 20.6" N            | 3° 30' 15.3" E | 25          | Présente |
| ALL 7    | 01-oct | COLIN       | Allier  | Mazeyrat-d'Allier        | NK Reilhac       | 45° 7' 17.2" N            | 3° 29' 22.2" E | 30          | Présente |
| ALL 8    | 01-oct | COLIN       | Allier  | Mazeyrat-d'Allier        | NK Reilhac       | 45° 7' 17.2" N            | 3° 29' 22.2" E | 10          | Présente |
| ALL 9    | 01-oct | COLIN       | Allier  | Chanteuges               | Le Monget        | 45° 5' 31.9" N            | 3° 31' 48.7" E | 25          | Présente |
| ALL 10   | 07-oct | NICOLAS     | Allier  | Chanteuges               | Le Monget        | 45° 5' 31.9" N            | 3° 31' 48.7" E | 34          | Présente |
| ALL 11   | 07-oct | VACHER      | Allier  | Chanteuges               | Le Monget        | 45° 5' 31.9" N            | 3° 31' 48.7" E | 27          | Présente |
| ALL 12   | 10-oct | COLIN       | Allier  | Chanteuges               | Le Monget        | 45° 5' 31.9" N            | 3° 31' 48.7" E | 30          | Présente |
| ALL 13   | 17-oct | MILLOT      | Allier  | Saint-Arcons-d'Allier    | Saint-Arcons     | 45° 4' 10.6" N            | 3° 32' 47.2" E | 27          | ?        |
| ALL 14   | 17-oct | MILLOT      | Allier  | Saint-Arcons-d'Allier    | Saint-Arcons     | 45° 4' 10.6" N            | 3° 32' 47.2" E | 15          | ?        |
| ALL 15   | 19-oct | MILLOT      | Allier  | Cerzat, Aubazat          | Le Chambon       | 45° 8' 21.7" N            | 3° 27' 58.3" E | 26          | ?        |
| ALL 16   | 23-oct | COLIN       | Allier  | Langeac                  | Langeac          | 45° 6' 0.7" N             | 3° 29' 53.7" E | 10          | Présente |
| ALL 17   | 23-oct | COLIN       | Allier  | Chanteuges               | CNSS             | 45° 4' 44.3" N            | 3° 32' 2.7" E  | 32          | Présente |
| ALL 18   | 26-oct | MILLOT      | Allier  | Langeac                  | Langeac          | 45° 6' 0.7" N             | 3° 29' 53.7" E | 30          | ?        |
| ALL 19   | 27-oct | MILLOT      | Allier  | Chanteuges               | Le Monget        | 45° 5' 31.9" N            | 3° 31' 48.7" E | 19          | ?        |
| ALL 20   | 29-oct | NICOLAS     | Allier  | Chanteuges               | Le Monget        | 45° 5' 37.0" N            | 3° 31' 35.6" E | 15          | Présente |
| ALL 21   | 13-nov | MILLOT      | Allier  | Langeac                  | Langeac          | 45° 6' 0.7" N             | 3° 29' 53.7" E | 18          | ?        |
| ALL 22   | 14-nov | NICOLAS     | Allier  | Chanteuges               | Le Monget        | 45° 5' 37.0" N            | 3° 31' 35.6" E | 30          | Présente |
| ALL 23   | 15-nov | MILLOT      | Allier  | Cerzat, Aubazat          | Le Chambon       | 45° 8' 21.7" N            | 3° 27' 58.3" E | 27          | ?        |
| ALL 24   | 15-nov | MILLOT      | Allier  | Cerzat, Aubazat          | Peyre Bas        | 45° 8' 38.7" N            | 3° 27' 16.3" E | 18          | ?        |
| ALL 25   | 16-nov | MILLOT      | Allier  | Blassac                  | Laboue           | 45° 10' 15.3" N           | 3° 24' 31.1" E | 30          | ?        |
| LOI 1    | 05-oct | CHAPLAT     | Loire   | Brives-Charensac, Coubon | Amont cfce Gagne | 45° 1' 57.8" E            | 3° 56' 8.7" E  | 33          | Présente |
| LOI 2    | 07-oct | VIGNAIS     | Loire   | Coubon                   | Charentus        | 44° 59' 41.2" N           | 3° 54' 6.5" E  | 27          | Présente |
| LOI 3    | 07-oct | VIGNAIS     | Loire   | Coubon                   | Charentus        | 44° 59' 41.2" N           | 3° 54' 6.5" E  | 30          | Présente |
| LOI 4    | 09-oct | VIGNAIS     | Loire   | Coubon                   | Charentus (PT)   | 44° 59' 41.2" N           | 3° 54' 6.5" E  | 30          | Présente |
| LOI 5    | 09-oct | CHAPLAT     | Loire   | Brives-Charensac, Coubon | Amont cfce Gagne | 45° 1' 57.8" N            | 3° 56' 8.7" E  | 18          | Présente |
| LOI 6    | 18-oct | VIGNAIS     | Loire   | Cussac-sur-Loire         | ?                | 44° 59' 41.2" N           | 3° 54' 6.5" E  | 35          | Présente |
| LOI 7    | 28-oct | COLIN       | Loire   | Solignac-sur-Loire       | ?                | 44° 58' 32.6" N           | 3° 53' 43.2" E | 10          | Présente |
| LOI 8    | 22-nov | NICOLAS     | Loire   | Cussac-sur-Loire         | Aval bourg       | 44° 59' 28.1" N           | 3° 53' 26.4" E | 13          | Présente |
| LOI 9    | 22-nov | NICOLAS     | Loire   | Cussac-sur-Loire         | Aval bourg       | 44° 59' 28.1" N           | 3° 53' 26.4" E | 18          | Présente |
| LOI 10   | 22-nov | NICOLAS     | Loire   | Cussac-sur-Loire         | Aval bourg       | 44° 59' 28.1" N           | 3° 53' 26.4" E | 20          | Présente |
| LOI 11   | 22-nov | NICOLAS     | Loire   | Cussac-sur-Loire         | Aval bourg       | 44° 59' 28.1" N           | 3° 53' 26.4" E | 30          | Présente |
| LOI 12   | 22-nov | NICOLAS     | Loire   | Cussac-sur-Loire         | Aval bourg       | 44° 59' 28.1" N           | 3° 53' 26.4" E | 32          | Présente |

## Analyses génétiques

Les analyses génétiques ont été confiées à l'équipe du Professeur Steven WEISS de l'Institut de Zoologie de l'Université de Graz, en Autriche, et plus spécialement à David Fröhlich pour la pratique. 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 ont porté sur deux types de matériels différents :

- d'une part, l'ADN mitochondrial pour identifier la ou les lignées évolutives présentes dans les populations : cet ADN trace l'héritage génétique matri-linéaire (transmission uniquement par les seules femelles) et donc des différences majeures. Par contre il ne permet pas la détection d'individus hybrides. Le séquençage d'une section de cet ADN, en l'occurrence la région de contrôle de

l'ADN mitochondrial, a été pratiqué sur tous les échantillons de Haute-Loire sauf un chez qui cela n'a pas marché.

- d'autre part, les microsatellites\* de l'ADN nucléaire : ce dernier permet de 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, et surtout de mesurer les phénomènes d'hybridation potentielle engendrés par exemple par les alevinages. L'analyse a porté sur 10 microsatellites recensés sur l'ensemble des individus.

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

L'origine et les effectifs des poissons analysés spécifiquement pour cette étude, ainsi que ceux traités dans des études antérieures et utilisés ici à fin de comparaison, sont résumés dans le tableau II.

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

Echantillons nouvellement traités pour la Fédération de Haute-Loire

| Dép.43 | Population      | Bassin | Pop Code | N msats | N mtDNA |
|--------|-----------------|--------|----------|---------|---------|
| Dép.43 | Allier 43, 2020 | Loire  | ALE      | 25      | 24      |
|        | Loire 2020      | Loire  | LOI      | 12      | 12      |
| Total  |                 |        |          | 37      | 36      |

Echantillons précédemment traités pour la Fédération du Puy de Dôme

| Puy-de-Dôme | Population      | Bassin     | Pop Code | N msats | N mtDNA |
|-------------|-----------------|------------|----------|---------|---------|
| Puy-de-Dôme | Allier 63, 2019 | Loire      | ALI      | 18      | 14      |
|             | Alagnon 63      | Loire      | ALN      | 29      | 24      |
|             | Ance du Nord 63 | Loire      | ANN      | 30      | 19      |
|             | Dore            | Loire      | DOR      | 30      | 26      |
|             | Sioule          | Loire      | SIO      | 43      | 27      |
|             | Besse, 2019     | Piscicult. | BES      | 80      | 18      |
|             | Total           |            |          |         | 230     |

Echantillons de référence plus anciens

| Article Cybium | Population            | Bassin     | Pop Code | N msats | N mtDNA |
|----------------|-----------------------|------------|----------|---------|---------|
| Article Cybium | Vienne                | Loire      | 1        | 88      | 37      |
|                | Allier 43             | Loire      | 2        | 41      | 10      |
|                | Loire 43              | Loire      | 3        | 43      | 19      |
|                | Ance du Nord 43       | Loire      | 4        | -       | 7       |
|                | Ain 01                | Rhone      | 5        | 42      | 17      |
|                | Kohlenbach (Autriche) | Danube     | 6        | 25      | 15      |
|                | Besse, 2011           | Piscicult. | 7        | 29      | 11      |
|                | Obenheim 67           | Piscicult. | 8        | 40      | 11      |
|                | Appenans 25 (Chauvey) | Piscicult. | 9        | 33      | 7       |
|                | Chazey-Bons 01        | Piscicult. | 10       | 43      | 10      |
| Total          |                       |            |          | 384     | 144     |

\* Un microsatellite est une courte séquence non codante du génome répétée des centaines de fois

## ADN mitochondrial

La figure 3 rappelle les différences génétiques entre les populations de *Thymallus ligericus* exclusives du bassin de la Loire, et les populations de *Thymallus thymallus* en diverses régions d'Europe.

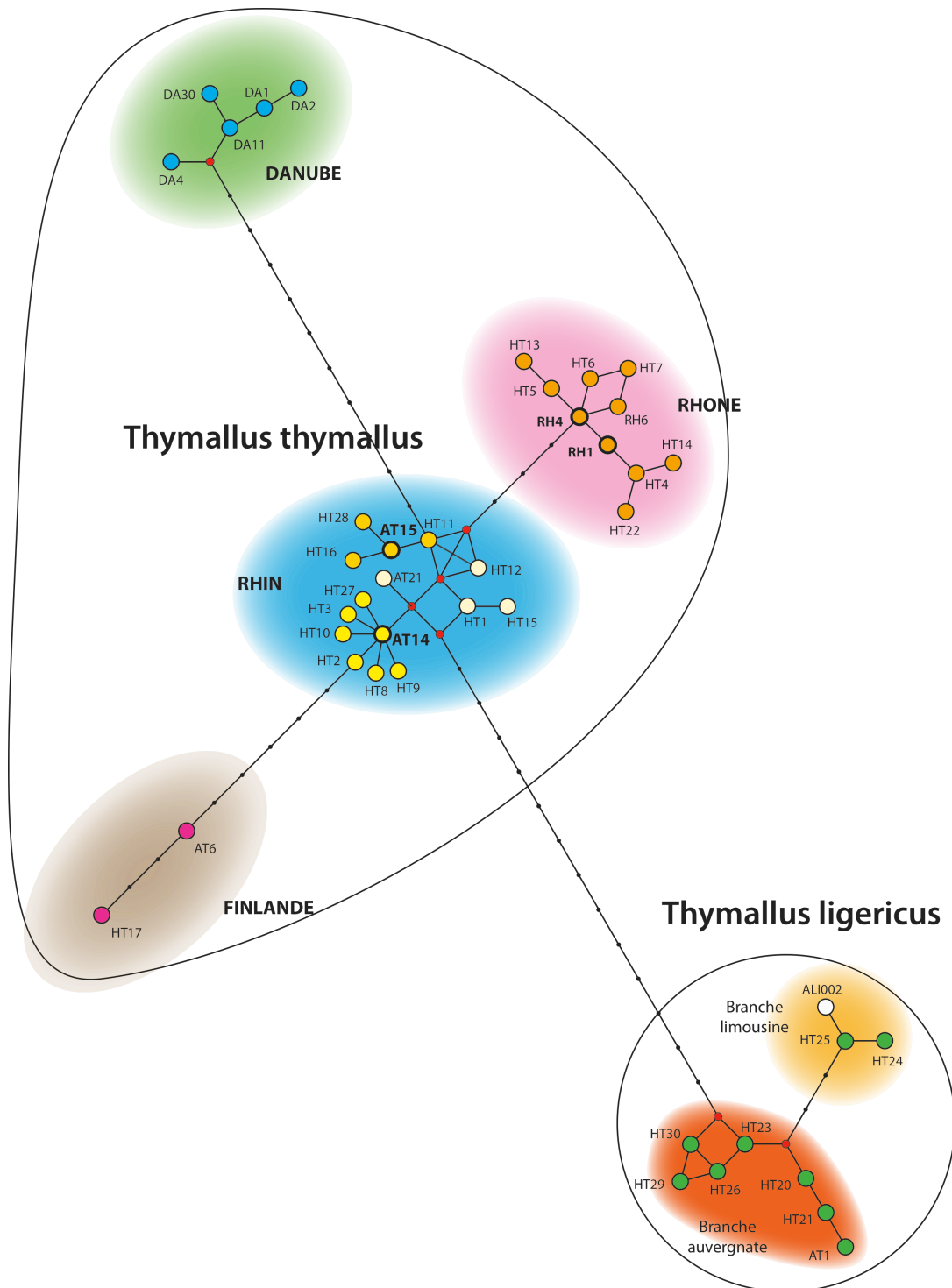


Figure 3 : ADN mitochondrial — Distances relatives entre haplotypes ligériens et vis-à-vis des grands types européens les plus proches. Chaque segment correspond à une mutation (un changement de paire de bases dans la séquence d'ADN)(le codage des haplotypes est hérité des études antérieures et est largement arbitraire). (adapté de Persat & et al. 2016)

Les sites informatifs (changements de bases dans la séquence d'ADN caractérisant les différents haplotypes) sont répertoriés dans le tableau en annexe. On dénombre 7 transversions (mutations majeures) pour 35 transitions (mutations mineures).

Le séquençage des 36 d'individus de Haute-Loire n'a permis de repérer que deux haplotypes (variantes d'ADN mitochondrial) déjà connus (Ht29 et Ht23/26) de *Thymallus ligericus*, et ce sur seulement sur 10 individus, tous de l'Allier, sans préférence de stations ou de classe d'âge (Tableau. III).

Tableau III : Fréquences des différents haplotypes rencontrés dans les populations de Haute-Loire, dans celles du Puy-de-Dôme, dans la pisciculture fédérale de Besse-en-Chandesse, et à titre comparatif dans l'Ain (Rhône), le Kohlenbach (Danube) et trois autres piscicultures extérieures (le codage des haplotypes, hérité d'études antérieures, n'a pas de relations directes avec les bassins d'origine)

| Population échantillon | Haplotypes         |        |      |        |      |      |      |            |     |     |     |                  |      |                 |     |     |                | Total |                         |       |                        |      |   |    |    |
|------------------------|--------------------|--------|------|--------|------|------|------|------------|-----|-----|-----|------------------|------|-----------------|-----|-----|----------------|-------|-------------------------|-------|------------------------|------|---|----|----|
|                        | Bassin de la Loire |        |      |        |      |      |      |            |     |     |     | Bassin du Danube |      | Bassin du Rhône |     |     | Bassin du Rhin |       |                         |       |                        |      |   |    |    |
|                        | Vienne             |        | ?    | Allier |      |      |      | Ance Loire |     | Da1 | Da4 | Da11             | Da30 | Rh1             | Rh4 | Ht4 | Ht14           |       | Bassin du Rhin<br>amont |       | Bassin du Rhin<br>aval |      |   |    |    |
| Ht24                   | Ht25               | ALI002 | Ht26 | Ht29   | Ht30 | Ht23 | Ht21 | Ht20       | At1 | Da1 | Da4 | Da11             | Da30 | Rh1             | Rh4 | Ht4 | Ht14           | Ht3   | Ht27                    | OEN33 | NewA                   | NewB |   |    |    |
| Cybium 2016            | Vienne (Combade)   | 9      | 2    |        |      |      |      |            |     |     |     |                  |      |                 |     |     |                |       |                         |       |                        |      |   | 11 |    |
|                        | Allier Vabres      |        |      |        | 3    | 4    | 3    |            |     |     |     |                  |      |                 |     |     |                |       |                         |       |                        |      |   |    | 10 |
|                        | Loire sup. 2013    |        |      |        |      |      |      |            | 19  |     |     |                  |      |                 |     |     |                |       |                         |       |                        |      |   |    | 19 |
|                        | Ance du Nord       |        |      |        |      |      |      | 1          | 6   |     |     |                  |      |                 |     |     |                |       |                         |       |                        |      |   |    | 7  |
|                        | Ain aval           |        |      |        |      |      |      |            |     |     |     |                  |      |                 | 12  | 1   | 3              | 1     |                         |       |                        |      |   |    | 17 |
|                        | Besse 2013         |        |      |        |      |      | 4    |            |     |     |     |                  | 7    |                 |     |     |                |       |                         |       |                        |      |   |    | 11 |
|                        | Obenheim           |        |      |        |      |      |      |            |     |     |     |                  |      |                 |     |     |                |       | 3                       | 8     |                        |      |   |    | 11 |
|                        | Chauvey            |        |      |        |      |      |      |            |     |     | 5   | 1                |      | 1               |     |     |                |       |                         |       |                        |      |   |    |    |
| Chazey-Bons            |                    |        |      |        |      |      |      |            |     |     |     |                  |      | 1               |     | 9   |                |       |                         |       |                        |      |   |    | 10 |
| Kohlenbach             |                    |        |      |        |      |      |      |            |     | 12  | 1   | 2                |      |                 |     |     |                |       |                         |       |                        |      |   |    | 15 |
| Puy-de-Dôme            | Allier 63          |        |      | 1      | 8    | 1    |      | 4          |     |     |     |                  |      |                 |     |     |                |       |                         |       |                        |      |   |    | 14 |
|                        | Alagnon 63         |        |      |        | 11   | 1    |      | 10         |     |     |     |                  |      |                 |     |     |                |       | 2                       |       |                        |      |   |    | 24 |
|                        | Ance du Nord 63    |        |      |        | 1    |      |      |            | 18  |     |     |                  |      |                 |     |     |                |       |                         |       |                        |      |   |    | 19 |
|                        | Dore               |        |      |        | 23   |      |      | 2          |     |     |     | 1                |      |                 |     |     |                |       |                         |       |                        |      |   |    | 26 |
|                        | Sioule             |        |      |        | 24   |      |      |            |     |     |     | 3                |      |                 |     |     |                |       |                         |       |                        |      |   |    | 27 |
|                        | Besse 2019         |        |      |        | 2    |      |      | 3          |     |     |     |                  | 13   |                 |     |     |                |       |                         |       |                        |      |   |    | 18 |
| Haute Loire            | Allier 43, 2020    |        |      | 6      | 4    |      |      |            |     |     |     | 1                |      |                 |     |     |                | 4     | 6                       | 1     | 1                      | 1    | 1 |    | 24 |
|                        | Loire sup. 2020    |        |      |        |      |      |      |            |     |     |     | 3                |      |                 |     |     |                | 3     | 4                       | 2     |                        |      |   |    | 12 |

Tous les autres individus se sont avérés porteurs d'haplotypes de l'autre espèce *Thymallus thymallus*. Ceux-ci sont d'origine rhénane (5 haplotypes différents), à l'exception d'un haplotype danubien (Da11), connu de longue date pour être présent dans la souche de pisciculture de Besse-en-Chandesse (sans doute hérité de la lignée élevée à l'ancienne pisciculture domaniale d'Augerolles) et retrouvé chez un individu de l'Allier et trois de la Loire supérieure. Par contre aucun haplotype rhodanien qui aurait pu avoir été introduit par des alevinages à partir de la souche de pisciculture de Chazey-Bons n'a été détecté. Des 4 individus à composante danubienne repérés, trois ont été pris sur la Loire à la même taille (30-32 cm) ce qui laisse penser qu'ils pourraient provenir d'un même lot de repeuplement, tandis que le quatrième, pris sur l'Allier à Chanteuges, était un juvénile de 15 cm appartenant donc à une autre génération. Cela témoigne d'au moins deux introductions (référéncées ou pas par la Fédération de Haute-Loire ?) depuis Besse-en Chandesse.

Pour ce qui est des haplotypes rhénans, si la plupart semblent provenir du haut Rhin germano-helvétique, probablement via la pisciculture fédérale d'Obenheim (67), principal producteur français connu de nous, deux haplotypes rhénans, nouveaux pour la région, proviendraient plutôt de Rhénanie-Westphalie ou des Ardennes belges, ce qui témoignerait d'importations multiples impliquant d'autres piscicultures vraisemblablement étrangères.

Un constat est en tous cas indéniable : l'haplotype privé At1 c'est à dire propre à la population native du cours supérieur de la Loire, seul observé dans nos études antérieures, y compris encore dans les 3 échantillons collectés en 2016 à Chadron, n'apparaît dans aucun des 12 individus capturés dans la Loire en 2020.

### Microsatellites

Les résultats des analyses microsatellites sont compilés par sites ou piscicultures dans le tableau IV.

Le nombre d'allèles observés dans les populations natives de *Thymallus ligericus* lors de l'étude pour le compte de la Fédération du Puy de Dôme allait de 40 pour la Sioule à 69 pour l'Alagnon, mais rapporté au nombre d'individus examinés c'était bien dans l'Allier que l'on trouvait la plus grande diversité allélique (3,5). A noter qu'elle était nettement plus faible dans le secteur de l'Allier de Haute-Loire située en amont de Poutès (Vabres) dans l'étude de 2011 (1,33). Parmi les populations naturelles d'ombres précédemment étudiées on n'approche de telles valeurs que dans la grosse population de *T. thymallus* de la basse rivière d'Ain (2,72). La population la moins diversifiée apparaît être la Sioule (0,93) qui est probablement largement si ce n'est totalement réintroduite.

Dans ce paysage, la population d'élevage de Besse présentait une diversité assez standard (1,43), ce qui n'était pas le cas en 2011 où elle s'élevait à 3,00. La population semble donc s'être "simplifiée" en s'homogénéisant au fil des générations.

Dans le présent échantillonnage, la diversité allélique s'avère élevée voire très élevée compte tenu du faible nombre d'individus analysés (3,68 pour l'Allier et 5,75 pour la Loire). Pourtant, curieusement, le lot de la Loire fait apparaître une diversité allélique nulle pour le microsatellite Tar101 : un seul allèle, le 210, soit 210 répétitions de la même courte séquence ! A noter que ce microsatellite présentait déjà une très faible diversité dans l'échantillon de la pisciculture d'Obenheim (seulement 3 allèles pour 40 individus). On peut supposer que cette diversité allélique est largement induite par le déversement d'un mixte de souches allochtones.

Au niveau des équilibres Hardy-Weinberg (rapport entre le nombre d'individus homozygotes et hétérozygotes pour chaque microsatellite dans chaque population) qui mesurent l'homogénéité des populations, on constate qu'ils sont à peu près respectés sur l'échantillon Allier à une exception près, bizarrement encore Tar101, où on décompte 6 allèles (contre paradoxalement un seul sur la Loire) : hétérozygotie observée  $H_0$  à 0,208 contre hétérozygotie théorique  $H_t$  à 0,362. Du côté de la Loire par contre, ce sont trois microsatellites qui s'écartent de la normale. L'échantillon analysé s'avère donc nettement plus hétérogène évoquant une population composite. Ces différences entre Allier et Loire laissent à penser que les deux secteurs n'ont pas le même historique d'empoissonnements (à charge à la Fédération de Haute-Loire de vérifier cela).

La population de l'Allier en amont de la retenue de Poutès était en équilibre en 2011 (Persat *et al.* 2013), mais déjà quelque peu en déséquilibre dans sa section aval dans le Puy-de-Dôme (Persat *et al.* 2019). Par contre celle de la Loire supérieure était en parfait équilibre en 2013 et ne comportait notamment pas l'allèle 210 de Tar101, ni entre autres les allèles 127 de Thy1, 186 de Thy62, 414 de Tth305, 164 et 196 de Tth447, 180 et 292 de Tar104, 181 et 228 de Thy54, 215 et 283 de Tth446. Le changement est donc indubitablement profond.

Tableau IV : Résumé des résultats statistiques sur 12 microsatellites dans chaque population. Nombres d'individus (N), nombres d'allèles (AN), richesses alléliques (AR), amplitudes alléliques (R), hétérozygosités observées (H<sub>O</sub>) et théoriques (H<sub>E</sub>), et valeurs de F<sub>IS</sub> values pour chaque population. Un astérisque \* signale une déviation significative par rapport à l'équilibre d'Hardy-Weinberg calculé sur 10 000 permutations. NA (non applicable) : données manquantes ou insuffisantes.

|             |           | N  |                 | Tar101        | Tar106  | Thy1    | Thy62   | Tth305        | Tth447  | Tar104  | Thy54         | Tth414        | Tth446  | Total  |
|-------------|-----------|----|-----------------|---------------|---------|---------|---------|---------------|---------|---------|---------------|---------------|---------|--------|
| Haute-Loire | Allier 43 | 25 | A <sub>N</sub>  | 6             | 12      | 5       | 8       | 13            | 9       | 12      | 9             | 10            | 8       | 92     |
|             |           |    | A <sub>R</sub>  | 210-298       | 189-297 | 107-127 | 186-246 | 282-426       | 164-187 | 168-292 | 179-230       | 353-501       | 215-263 |        |
|             |           |    | H <sub>O</sub>  | 0,208         | 0,958   | 0,920   | 0,750   | 0,800         | 0,880   | 0,917   | 0,840         | 0,818         | 0,720   | 0,781  |
|             |           |    | H <sub>E</sub>  | 0,362         | 0,890   | 0,766   | 0,711   | 0,868         | 0,771   | 0,826   | 0,704         | 0,821         | 0,648   | 0,737  |
|             |           |    | F <sub>IS</sub> | <b>0,442*</b> | -0,056  | -0,182  | -0,034  | 0,103         | -0,121  | -0,089  | -0,173        | 0,027         | -0,091  | -0,039 |
|             | Loire     | 12 | A <sub>N</sub>  | 1             | 8       | 6       | 7       | 9             | 7       | 8       | 8             | 7             | 8       | 69     |
|             |           |    | A <sub>R</sub>  | 210-210       | 217-289 | 107-127 | 186-222 | 274-414       | 164-187 | 180-292 | 181-228       | 353-457       | 215-283 |        |
|             |           |    | H <sub>O</sub>  | 0,000         | 0,917   | 0,917   | 1,000   | 0,455         | 1,000   | 0,833   | 0,583         | 0,400         | 0,917   | 0,702  |
|             |           |    | H <sub>E</sub>  | 0,000         | 0,833   | 0,726   | 0,774   | 0,777         | 0,747   | 0,823   | 0,781         | 0,780         | 0,844   | 0,709  |
|             |           |    | F <sub>IS</sub> | NA            | -0,057  | -0,222  | -0,251  | <b>0,454*</b> | -0,300  | 0,031   | <b>0,294*</b> | <b>0,526*</b> | -0,043  | 0,055  |

|                 |                 |                 |                 |         |         |         |                |               |               |               |                |                |               |               |
|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|---------|---------|---------|----------------|---------------|---------------|---------------|----------------|----------------|---------------|---------------|
| Puy-de-Dôme     | Allier 63       | 18              | A <sub>N</sub>  | 9       | 10      | 5       | 6              | 4             | 4             | 10            | 3              | 8              | 4             | 63            |
|                 |                 |                 | A <sub>R</sub>  | 254-338 | 181-293 | 107-129 | 218-246        | 282-310       | 170-182       | 164-240       | 193-199        | 353-553        | 227-251       |               |
|                 |                 |                 | H <sub>O</sub>  | 0,667   | 0,889   | 0,778   | 0,611          | 0,500         | 0,778         | 0,889         | 0,500          | 0,471          | 0,222         | 0,630         |
|                 |                 |                 | H <sub>E</sub>  | 0,761   | 0,857   | 0,636   | 0,614          | 0,477         | 0,668         | 0,843         | 0,568          | 0,727          | 0,411         | 0,656         |
|                 |                 |                 | F <sub>IS</sub> | 0,152   | -0,009  | -0,196  | 0,034          | -0,020        | -0,136        | -0,026        | 0,148          | <b>0,379*</b>  | <b>0,481*</b> | <b>0,068*</b> |
|                 | Alagnon         | 29              | A <sub>N</sub>  | 9       | 10      | 5       | 6              | 6             | 7             | 9             | 6              | 5              | 6             | 69            |
|                 |                 |                 | A <sub>R</sub>  | 210-338 | 181-293 | 107-127 | 186-246        | 282-394       | 170-187       | 168-240       | 185-228        | 353-489        | 215-243       |               |
|                 |                 |                 | H <sub>O</sub>  | 0,750   | 0,966   | 0,414   | 0,571          | 0,250         | 0,586         | 0,552         | 0,483          | 0,400          | 0,517         | 0,549         |
|                 |                 |                 | H <sub>E</sub>  | 0,790   | 0,851   | 0,376   | 0,583          | 0,346         | 0,638         | 0,691         | 0,662          | 0,734          | 0,442         | 0,611         |
|                 |                 |                 | F <sub>IS</sub> | 0,068   | -0,117  | -0,082  | 0,038          | <b>0,293*</b> | 0,098         | <b>0,218*</b> | <b>0,287*</b>  | <b>0,471**</b> | -0,152        | <b>0,120*</b> |
|                 | Ance du Nord 63 | 30              | A <sub>N</sub>  | 7       | 7       | 4       | 3              | 4             | 3             | 3             | 3              | 4              | 3             | 41            |
|                 |                 |                 | A <sub>R</sub>  | 250-342 | 181-285 | 107-127 | 202-228        | 282-314       | 174-186       | 196-216       | 193-201        | 353-553        | 227-251       |               |
|                 |                 |                 | H <sub>O</sub>  | 0,690   | 0,900   | 0,567   | 0,167          | 0,621         | 0,414         | 0,233         | 0,433          | 0,133          | 0,333         | 0,449         |
|                 |                 |                 | H <sub>E</sub>  | 0,733   | 0,768   | 0,565   | 0,156          | 0,590         | 0,538         | 0,240         | 0,485          | 0,157          | 0,352         | 0,458         |
|                 |                 |                 | F <sub>IS</sub> | 0,077   | -0,156  | 0,014   | -0,051         | -0,034        | <b>0,247*</b> | 0,045         | 0,123          | 0,165          | 0,069         | 0,037         |
|                 | Besse 2019      | 80              | A <sub>N</sub>  | 13      | 16      | 7       | 9              | 6             | 9             | 12            | 18             | 10             | 14            | 114           |
|                 |                 |                 | A <sub>R</sub>  | 206-334 | 173-281 | 107-133 | 200-240        | 282-382       | 158-183       | 148-232       | 177-232        | 345-557        | 219-315       |               |
|                 |                 |                 | H <sub>O</sub>  | 0,551   | 0,863   | 0,688   | 0,769          | 0,351         | 0,700         | 0,641         | 0,886          | 0,633          | 0,560         | 0,664         |
| H <sub>E</sub>  |                 |                 | 0,716           | 0,894   | 0,701   | 0,813   | 0,694          | 0,713         | 0,718         | 0,853         | 0,652          | 0,826          | 0,758         |               |
| F <sub>IS</sub> |                 |                 | <b>0,237*</b>   | 0,041   | 0,026   | 0,060   | <b>0,501**</b> | 0,025         | <b>0,114*</b> | -0,033        | 0,036          | <b>0,328**</b> | <b>0,13**</b> |               |
| Dore            | 30              | A <sub>N</sub>  | 7               | 9       | 4       | 5       | 3              | 4             | 5             | 6             | 6              | 6              | 55            |               |
|                 |                 | A <sub>R</sub>  | 206-334         | 181-293 | 107-127 | 204-232 | 282-386        | 158-182       | 148-224       | 183-230       | 345-557        | 227-307        |               |               |
|                 |                 | H <sub>O</sub>  | 0,560           | 0,700   | 0,433   | 0,643   | 0,250          | 0,467         | 0,517         | 0,533         | 0,250          | 0,600          | 0,495         |               |
|                 |                 | H <sub>E</sub>  | 0,695           | 0,762   | 0,401   | 0,617   | 0,284          | 0,497         | 0,555         | 0,644         | 0,625          | 0,504          | 0,559         |               |
|                 |                 | F <sub>IS</sub> | <b>0,214*</b>   | 0,098   | -0,063  | -0,023  | 0,140          | 0,078         | 0,086         | <b>0,189*</b> | <b>0,616**</b> | -0,173         | <b>0,132*</b> |               |
| Sioule          | 43              | A <sub>N</sub>  | 5               | 5       | 3       | 2       | 2              | 3             | 7             | 4             | 5              | 4              | 40            |               |
|                 |                 | A <sub>R</sub>  | 210-338         | 181-281 | 107-127 | 222-228 | 282-298        | 174-182       | 168-228       | 193-201       | 353-557        | 227-251        |               |               |
|                 |                 | H <sub>O</sub>  | 0,306           | 0,698   | 0,163   | 0,342   | 0,100          | 0,535         | 0,667         | 0,698         | 0,529          | 0,535          | 0,457         |               |
|                 |                 | H <sub>E</sub>  | 0,381           | 0,732   | 0,152   | 0,393   | 0,139          | 0,508         | 0,697         | 0,658         | 0,662          | 0,498          | 0,482         |               |
|                 |                 | F <sub>IS</sub> | <b>0,212*</b>   | 0,058   | -0,058  | 0,142   | 0,291          | -0,041        | 0,056         | -0,049        | <b>0,215*</b>  | -0,063         | <b>0,064*</b> |               |

\* sig-level 0,1

\*\* sig-level Bonferroni-correction 0,00021

Suite

|                   | N      |                 | Tar101          | Tar106        | Thy1           | Thy62   | Tth305         | Tth447        | Tar104         | Thy54         | Tth414         | Tth446         | Total          |        |  |
|-------------------|--------|-----------------|-----------------|---------------|----------------|---------|----------------|---------------|----------------|---------------|----------------|----------------|----------------|--------|--|
| Cybium 2016       | Vienne | 37              | A <sub>N</sub>  | 7             | 8              | 1       | 5              | 6             | 4              | 9             | 3              | 7              | 5              | 55     |  |
|                   |        | A <sub>R</sub>  | 262-338         | 189-305       | 107-107        | 200-254 | 272-314        | 170-180       | 172-240        | 193-201       | 425-501        | 227-251        |                |        |  |
|                   |        | H <sub>O</sub>  | 0,737           | 0,583         | NA             | 0,568   | 0,546          | 0,541         | 0,733          | 0,629         | 0,565          | 0,639          | 0,554          |        |  |
|                   |        | H <sub>E</sub>  | 0,748           | 0,682         | NA             | 0,562   | 0,632          | 0,613         | 0,668          | 0,613         | 0,686          | 0,745          | 0,595          |        |  |
|                   |        | F <sub>IS</sub> | 0,042           | <b>0,159*</b> | NA             | 0,003   | 0,160          | 0,132         | -0,080         | -0,011        | <b>0,198*</b>  | <b>0,156*</b>  | <b>0,087*</b>  |        |  |
|                   | Loire  | 43              | A <sub>N</sub>  | 5             | 8              | 3       | 4              | 5             | 4              | 4             | 3              | 5              | 4              | 45     |  |
|                   |        |                 | A <sub>R</sub>  | 258-350       | 189-309        | 107-123 | 202-262        | 272-314       | 170-186        | 184-224       | 193-199        | 350-477        | 235-251        |        |  |
|                   |        |                 | H <sub>O</sub>  | 0,615         | 0,698          | 0,372   | 0,762          | 0,769         | 0,767          | 0,707         | 0,721          | 0,442          | 0,721          | 0,658  |  |
|                   |        |                 | H <sub>E</sub>  | 0,649         | 0,643          | 0,391   | 0,717          | 0,726         | 0,617          | 0,583         | 0,546          | 0,371          | 0,623          | 0,587  |  |
|                   |        |                 | F <sub>IS</sub> | 0,065         | -0,074         | 0,059   | -0,051         | -0,046        | -0,232         | -0,202        | -0,310         | -0,180         | -0,146         | -0,109 |  |
|                   | Allier | 42              | A <sub>N</sub>  | 7             | 7              | 3       | 5              | 5             | 4              | 6             | 4              | 11             | 4              | 56     |  |
|                   |        |                 | A <sub>R</sub>  | 254-298       | 189-297        | 107-127 | 228-258        | 282-314       | 170-182        | 168-240       | 191-201        | 429-513        | 227-243        |        |  |
|                   |        |                 | H <sub>O</sub>  | 0,600         | 0,825          | 0,683   | 0,725          | 0,775         | 0,590          | 0,564         | 0,100          | 0,821          | 0,575          | 0,626  |  |
|                   |        |                 | H <sub>E</sub>  | 0,618         | 0,793          | 0,558   | 0,710          | 0,738         | 0,530          | 0,599         | 0,120          | 0,818          | 0,575          | 0,606  |  |
| F <sub>IS</sub>   |        |                 | 0,042           | -0,027        | -0,213         | -0,009  | -0,037         | -0,101        | 0,071          | 0,177         | 0,010          | 0,013          | -0,020         |        |  |
| Ain               | 43     | A <sub>N</sub>  | 16              | 10            | 10             | 4       | 14             | 7             | 19             | 11            | 18             | 8              | 117            |        |  |
|                   |        | A <sub>R</sub>  | 210-326         | 237-281       | 111-155        | 186-206 | 280-348        | 161-191       | 156-284        | 191-213       | 365-557        | 215-259        |                |        |  |
|                   |        | H <sub>O</sub>  | 0,850           | 0,714         | 0,781          | 0,325   | 0,825          | 0,275         | 0,805          | 0,905         | 0,691          | 0,738          | 0,691          |        |  |
|                   |        | H <sub>E</sub>  | 0,882           | 0,765         | 0,795          | 0,326   | 0,777          | 0,251         | 0,891          | 0,845         | 0,757          | 0,801          | 0,709          |        |  |
|                   |        | F <sub>IS</sub> | 0,049           | 0,079         | 0,031          | 0,016   | -0,049         | -0,083        | <b>0,109*</b>  | -0,058        | <b>0,100*</b>  | 0,091          | <b>0,038*</b>  |        |  |
| Besse             | 29     | A <sub>N</sub>  | 7               | 12            | 7              | 9       | 7              | 8             | 10             | 13            | 8              | 6              | 87             |        |  |
|                   |        | A <sub>R</sub>  | 206-326         | 173-289       | 107-134        | 186-232 | 282-380        | 157-177       | 148-264        | 179-233       | 369-493        | 219-279        |                |        |  |
|                   |        | H <sub>O</sub>  | 0,593           | 0,966         | 0,828          | 0,857   | 0,546          | 0,655         | 0,552          | 1,000         | 0,375          | 0,370          | 0,674          |        |  |
|                   |        | H <sub>E</sub>  | 0,723           | 0,858         | 0,823          | 0,760   | 0,778          | 0,725         | 0,878          | 0,885         | 0,730          | 0,630          | 0,779          |        |  |
|                   |        | F <sub>IS</sub> | <b>0,198*</b>   | -0,108        | 0,012          | -0,110  | <b>0,320*</b>  | 0,113         | <b>0,386**</b> | -0,112        | <b>0,502**</b> | <b>0,428**</b> | <b>0,153**</b> |        |  |
| Chauvey           | 33     | A <sub>N</sub>  | 12              | 6             | 5              | 7       | NA             | 3             | 7              | 11            | 3              | NA             | 54             |        |  |
|                   |        | A <sub>R</sub>  | 266-354         | 185-213       | 108-132        | 212-246 | NA             | 153-179       | 148-238        | 177-237       | 346-354        | NA             |                |        |  |
|                   |        | H <sub>O</sub>  | 0,833           | 0,781         | 0,697          | 0,656   | NA             | 0,424         | 0,394          | 0,844         | 0,548          | NA             | 0,647          |        |  |
|                   |        | H <sub>E</sub>  | 0,840           | 0,709         | 0,702          | 0,585   | NA             | 0,574         | 0,346          | 0,828         | 0,505          | NA             | 0,636          |        |  |
|                   |        | F <sub>IS</sub> | 0,025           | -0,086        | 0,022          | -0,105  | NA             | <b>0,276*</b> | -0,124         | -0,004        | -0,069         | NA             | -0,002         |        |  |
| Obenheim          | 40     | A <sub>N</sub>  | 3               | 10            | 4              | 5       | 8              | 7             | 12             | 10            | 12             | 9              | 80             |        |  |
|                   |        | A <sub>R</sub>  | 210-322         | 213-289       | 111-143        | 200-212 | 364-412        | 153-197       | 148-284        | 183-237       | 437-525        | 207-275        |                |        |  |
|                   |        | H <sub>O</sub>  | 0,28            | 0,95          | 0,28           | 0,58    | 0,89           | 0,83          | 0,92           | 0,79          | 0,53           | 0,87           | 0,690          |        |  |
|                   |        | H <sub>E</sub>  | 0,25            | 0,85          | 0,25           | 0,66    | 0,80           | 0,76          | 0,80           | 0,71          | 0,81           | 0,84           | 0,673          |        |  |
|                   |        | F <sub>IS</sub> | -0,10           | -0,11         | -0,10          | 0,14    | -0,09          | -0,07         | -0,14          | -0,10         | <b>0,364**</b> | -0,02          | -0,012         |        |  |
| Chazzey-Bons      | 43     | A <sub>N</sub>  | 10              | 13            | 10             | 8       | NA             | 8             | 14             | 10            | 13             | 6              | 92             |        |  |
|                   |        | A <sub>R</sub>  | 198-318         | 193-289       | 108-155        | 186-228 | NA             | 157-189       | 148-272        | 179-233       | 369-537        | 227-279        |                |        |  |
|                   |        | H <sub>O</sub>  | 0,564           | 0,875         | 0,585          | 0,595   | NA             | 0,605         | 0,884          | 0,814         | 0,707          | 0,368          | 0,666          |        |  |
|                   |        | H <sub>E</sub>  | 0,823           | 0,864         | 0,806          | 0,620   | NA             | 0,644         | 0,868          | 0,770         | 0,829          | 0,741          | 0,774          |        |  |
|                   |        | F <sub>IS</sub> | <b>0,326*</b>   | 0,000         | <b>0,285**</b> | 0,051   | NA             | 0,073         | -0,007         |               | <b>0,159*</b>  | <b>0,512**</b> | <b>0,151**</b> |        |  |
| Kohlenbach Danube | 25     | A <sub>N</sub>  | 14              | 8             | 5              | 6       | NA             | 4             | 8              | 8             | 4              | NA             | 57             |        |  |
|                   |        | A <sub>R</sub>  | 210-354         | 173-213       | 108-138        | 200-222 | NA             | 153-171       | 148-254        | 177-231       | 346-385        | NA             |                |        |  |
|                   |        | H <sub>O</sub>  | 0,960           | 0,840         | 0,708          | 0,625   | NA             | 0,667         | 0,739          | 0,826         | 0,636          | NA             | 0,750          |        |  |
|                   |        | H <sub>E</sub>  | 0,894           | 0,825         | 0,626          | 0,705   | NA             | 0,565         | 0,682          | 0,771         | 0,656          | NA             | 0,715          |        |  |
|                   |        | F <sub>IS</sub> | -0,054          | 0,002         | -0,111         | 0,134   | NA             | -0,159        | -0,063         | -0,049        | 0,053          | NA             | -0,027         |        |  |
| Allier            | 18     | A <sub>N</sub>  | 9               | 10            | 5              | 6       | 4              | 4             | 10             | 3             | 8              | 4              | 63             |        |  |
|                   |        | A <sub>R</sub>  | 254-338         | 181-293       | 107-129        | 218-246 | 282-310        | 170-182       | 164-240        | 193-199       | 353-553        | 227-251        |                |        |  |
|                   |        | H <sub>O</sub>  | 0,667           | 0,889         | 0,778          | 0,611   | 0,500          | 0,778         | 0,889          | 0,500         | 0,471          | 0,222          | 0,630          |        |  |
|                   |        | H <sub>E</sub>  | 0,761           | 0,857         | 0,636          | 0,614   | 0,477          | 0,668         | 0,843          | 0,568         | 0,727          | 0,411          | 0,656          |        |  |
|                   |        | F <sub>IS</sub> | 0,152           | -0,009        | -0,196         | 0,034   | -0,020         | -0,136        | -0,026         | 0,148         | <b>0,379*</b>  | <b>0,481*</b>  | <b>0,068*</b>  |        |  |
| Alagnon           | 29     | A <sub>N</sub>  | 9               | 10            | 5              | 6       | 6              | 7             | 9              | 6             | 5              | 6              | 69             |        |  |
|                   |        | A <sub>R</sub>  | 210-338         | 181-293       | 107-127        | 186-246 | 282-394        | 170-187       | 168-240        | 185-228       | 353-489        | 215-243        |                |        |  |
|                   |        | H <sub>O</sub>  | 0,750           | 0,966         | 0,414          | 0,571   | 0,250          | 0,586         | 0,552          | 0,483         | 0,400          | 0,517          | 0,549          |        |  |
|                   |        | H <sub>E</sub>  | 0,790           | 0,851         | 0,376          | 0,583   | 0,346          | 0,638         | 0,691          | 0,662         | 0,734          | 0,442          | 0,611          |        |  |
|                   |        | F <sub>IS</sub> | 0,068           | -0,117        | -0,082         | 0,038   | <b>0,293*</b>  | 0,098         | <b>0,218*</b>  | <b>0,287*</b> | <b>0,471**</b> | -0,152         | <b>0,120*</b>  |        |  |
| Besse 2011        | 80     | A <sub>N</sub>  | 13              | 16            | 7              | 9       | 6              | 9             | 12             | 18            | 10             | 14             | 114            |        |  |
|                   |        | A <sub>R</sub>  | 206-334         | 173-281       | 107-133        | 200-240 | 282-382        | 158-183       | 148-232        | 177-232       | 345-557        | 219-315        |                |        |  |
|                   |        | H <sub>O</sub>  | 0,551           | 0,863         | 0,688          | 0,769   | 0,351          | 0,700         | 0,641          | 0,886         | 0,633          | 0,560          | 0,664          |        |  |
|                   |        | H <sub>E</sub>  | 0,716           | 0,894         | 0,701          | 0,813   | 0,694          | 0,713         | 0,718          | 0,853         | 0,652          | 0,826          | 0,758          |        |  |
|                   |        | F <sub>IS</sub> | <b>0,237*</b>   | 0,041         | 0,026          | 0,060   | <b>0,501**</b> | 0,025         | <b>0,114*</b>  | -0,033        | 0,036          | <b>0,328**</b> | <b>0,13**</b>  |        |  |

L'analyse factorielle des correspondances permet de visualiser la structuration de la variabilité génétique générale : la concentration du nuage de points (individus) dans chaque échantillon donne une indication de leur homogénéité génétique indépendamment de leur richesse allélique (figure 4).

Ici, le premier axe factoriel sur le plan F1xF2, le plus discriminant, sépare l'ensemble des populations très homogènes du bassin de la Loire, paratypes\* compris, en positif, (à droite sur l'axe horizontal rouge) de toutes les autres, Besse compris, en négatif (à gauche). En somme, il distingue parfaitement les *T. ligericus* des *T. thymallus*, ce qui met la souche d'élevage de Besse nettement du côté des *T. thymallus*. Son profil est d'ailleurs plutôt stable entre 2011 et 2019, même s'il tend à s'homogénéiser (nuage de points plus concentré). Par contre les individus capturés par la Fédération de Pêche 43 en 2020, que ce soit sur l'Allier ou sur la Loire, ne suivent pas du tout ce schéma mais se dispersent largement sur cet axe.

Le second axe factoriel, vertical en bleu, ne concerne pas directement les populations ligériennes, reléguées au centre (point neutre), mais les autres, appartenant à l'espèce *Thymallus thymallus*, en classant en haut les populations de l'Ain, du Rhin et de Chazey-Bons (souche de pisciculture mixte Ain-Rhin-Augerolles), et en bas celle du Danube autrichien et de la pisciculture Chauvey qui donc doit se fournir en Bavière ou Autriche.

Le troisième axe factoriel oppose fortement les populations rhénanes (Obenheim) à gauche, des populations danubiennes (Autriche et Chauvey) et rhodaniennes (Ain et Chazey-Bons) à droite, le quatrième axe se chargeant de complètement distinguer du reste les rhénanes (en bas) de celle de Besse en 2019, (en haut), le lot de Besse de 2011 se situant à mi-distance entre les deux. Les populations ligériennes natives de *Thymallus ligericus* ne sont pas concernées par ces dernières tendances mais les deux lots d'échantillons de Haute-Loire de 2020 présentent un penchant certain en direction du Rhin tout en montrant encore une forte hétérogénéité.

\* (individus de référence ayant servis à la description de l'espèce *T. ligericus*)

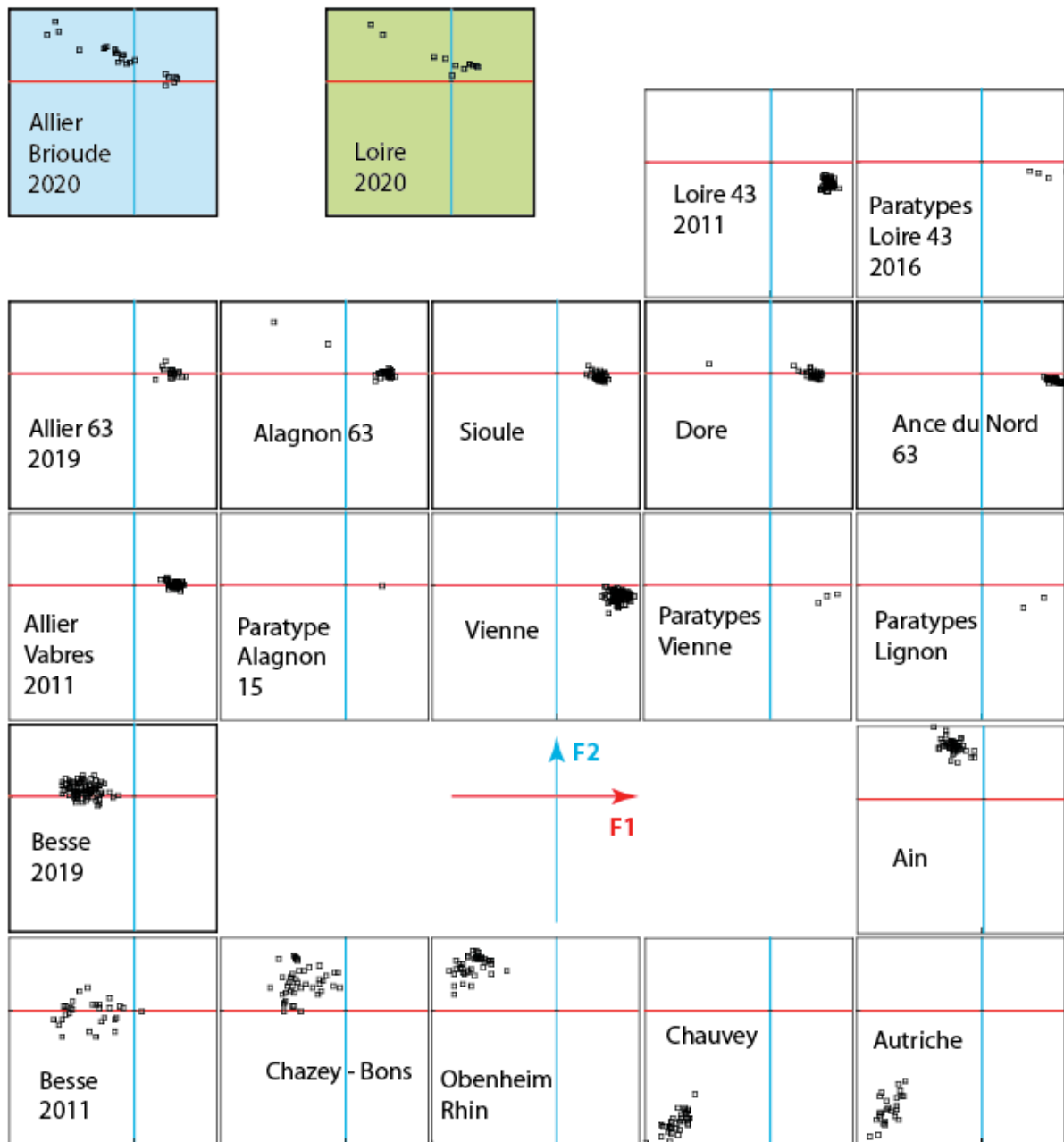


Figure 4 : Analyse factorielle des correspondances des profils génétiques microsatellites de 37 ombres pris sur l'Allier et la Loire en 2020, comparé à 660 ombres de différentes origines. Plan factoriel F1xF2 détaillé par lots. Chaque point correspond à un individu.

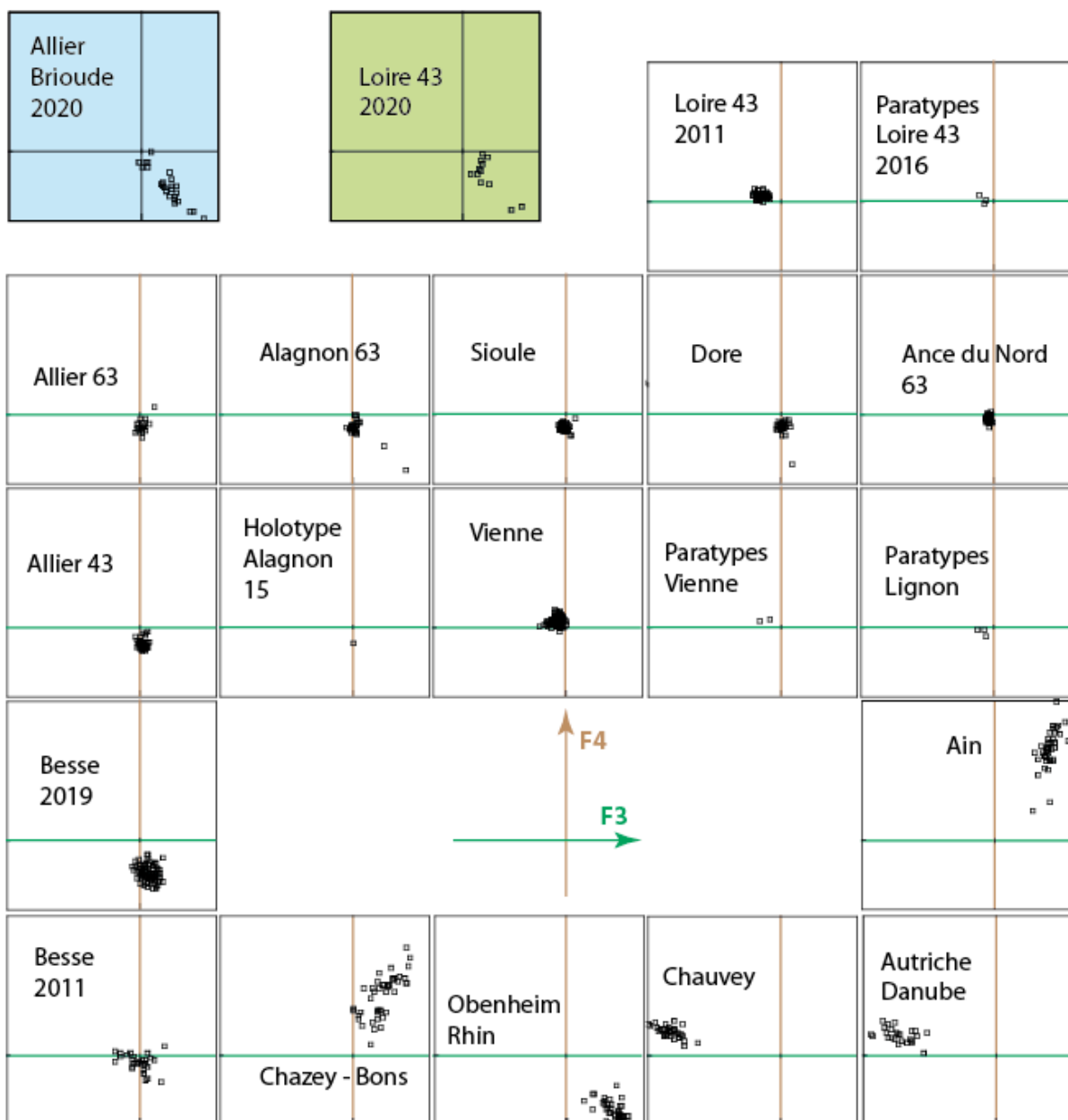


Figure 5 : Analyse factorielle des correspondances des profils génétiques microsatellites des mêmes ombres selon le plan factoriel F3xF4 détaillé par lots.

Pour mieux visualiser la situation de ces derniers nous les avons extraits des figures précédentes pour les mettre en correspondance directe avec les échantillons locaux les plus proches chronologiquement ou géographiquement.

En ce qui concerne l'axe Allier (figure 6), nous disposons d'un lot prélevé par nous-même et la Fédération de Pêche 43 en 2011 à Vabres, en amont de la retenue de Poutesse, et d'un lot prélevé dans le secteur d'Issoire par la Fédération de Pêche du Puy de Dôme en 2019. Malgré l'assez grande distance géographique et temporelle, on peut constater que ces deux lots sont génétiquement identiques jusqu'à l'axe 4 de l'analyse. Par contre, le lot prélevé en 2020 dans le secteur intermédiaire entre les deux précédents, en amont de Brioude, présente un profil bien différent sur les 4 axes avec une minorité d'individus encore typiquement ligériens (**Natifs**). 3 individus apparaissent complètement excentrés (**Exotiques**), tandis qu'une majorité se répartit entre ces deux pôles. Si on se reporte aux figures générales précédentes on constate que le pôle excentrique correspond au type rhénan d'Obenheim, et que les individus intermédiaires

correspondent très vraisemblablement à des hybrides entre ligériens et rhénans (**H**). On ne peut toutefois pas savoir si cette hybridation s'est faite dans le milieu naturel après alevinages ou bien si elle s'est produite (ou a été volontairement pratiquée) en pisciculture. La souche de Besse ne semble pas avoir le meilleur profil pour être à l'origine de cette hybridation, même si on y perçoit un mélange certain entre souches ligériennes, danubiennes et rhénanes (à défaut, si l'on peut dire, de rhodaniennes).

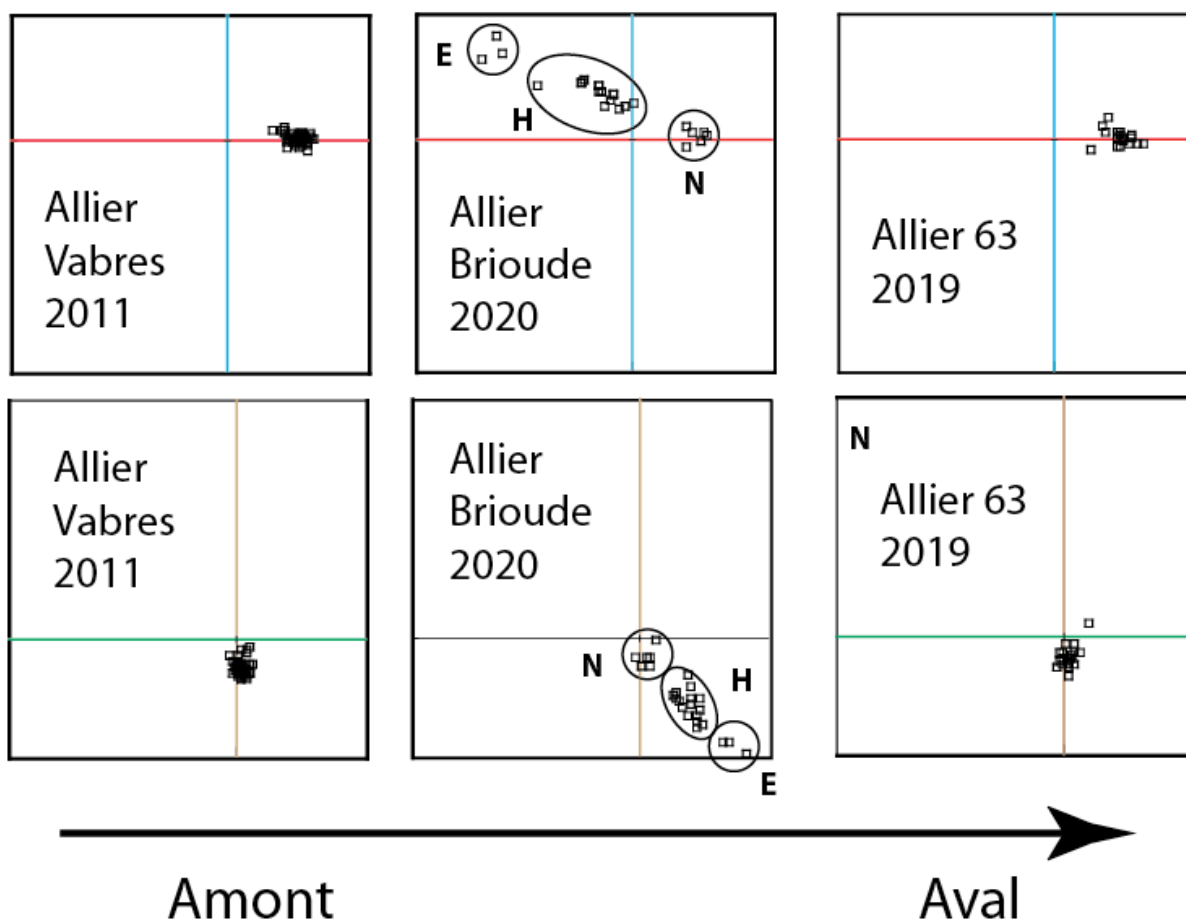


Figure 6 : Extrait de la situation dans l'Allier intermédiaire entre Vabres et l'aval d'Issoire : N - natifs; E - étrangers; H - Hybrides.

En ce qui concerne la Loire supérieure (figure 7), nous avons l'avantage de disposer d'échantillons prélevés presque au même endroit à 9 ans d'intervalle (avec un tout petit échantillon supplémentaire entre temps, les paratypes Loire de 2016) permettant une parfaite comparaison temporelle. Le lot analysé en 2011 était très homogène jusqu'au 4<sup>e</sup> axe. C'était à l'évidence une population native pure jusqu'en 2016. En 2020 la situation a complètement changé : plus aucun individu à profil natif, mais deux individus au même profil excentrique que celui observé sur les trois individus de l'Allier, et là encore des individus à profils intermédiaires, visiblement hybrides. Comme pour l'Allier moyen, on ne peut savoir si l'hybridation s'est faite en milieu naturel ou en pisciculture, mais comme l'analyse porte sur trois classes d'âge différentes, il est à craindre qu'elle se poursuive en milieu naturel (à moins d'introductions répétées de 2017 à 2020).

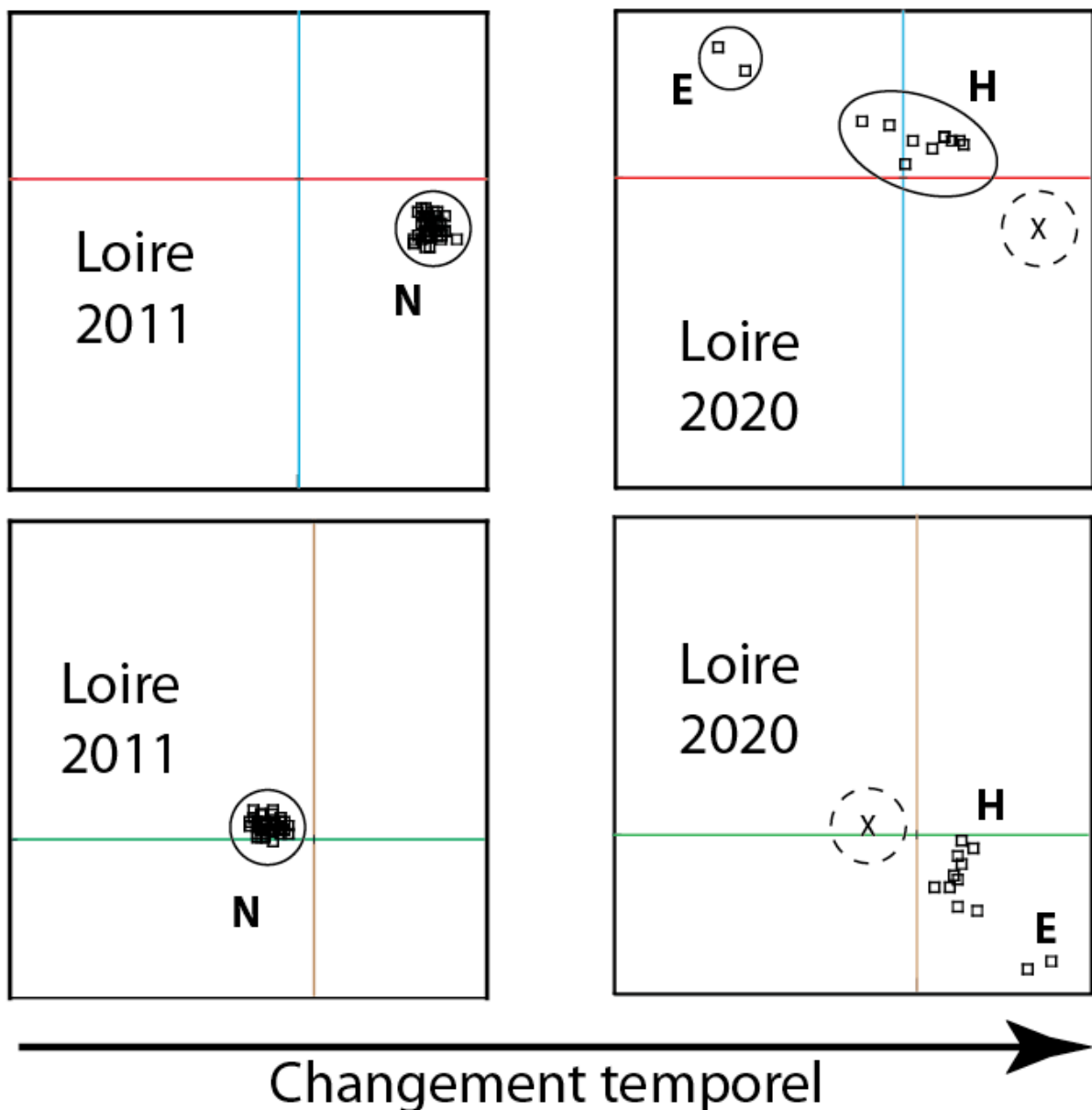


Figure 7 : Extrait de la situation dans la Loire supérieure : N – natifs, E – étrangers; H – hybrides, X – absents (éteints ?).

Le tableau VI des distances génétiques  $F_{st}$  montre une plus grande proximité entre les deux lots Allier et Loire collectés en 2020 ( $F_{st} = 0,102$ ) qu'entre ces derniers et la plupart des lots précédents. Sinon, c'est par rapport à ceux de Besse qu'ils restent les plus proches (0,178 et 0,193), quoique l'Allier 2020 montre naturellement sa forte affinité avec l'Allier du Puy de Dôme (0,136) en raison de la présence d'individus typiquement Allier que l'on y a observés, et une forte affinité naturelle entre Allier 2020 et Alagnon (0,198). A noter que c'est de ceux de l'Ance du Nord (ANN), appartenant pourtant à la branche Loire de *Thymallus ligericus*, qu'ils sont les plus distants (0,334 et 0,333), bien plus même que l'espèce *T. thymallus* telle qu'elle apparaît dans le Danube, dans le Rhin ou dans l'Ain. Cette population de l'Ance du Nord est donc tout à fait exceptionnelle dans son originalité et sa pureté.

Tableau V : Estimation des distances génétiques  $F_{st}$  prises deux à deux entre les deux populations Haute-Loire 2020 et toutes les autres populations-échantillons considérées.

|             |                 | Cybium 2016 |        |       |       |         |          |             | Puy-de-Dôme |       |       |       |       | Haute-Loire 2020 |       |       |       |
|-------------|-----------------|-------------|--------|-------|-------|---------|----------|-------------|-------------|-------|-------|-------|-------|------------------|-------|-------|-------|
|             |                 | Loire       | Allier | Ain   | Besse | Chauvey | Obenheim | Chazey-Bons | ALI         | ALN   | ANN   | DOR   | SIO   | BES              | ALE   | LOI   |       |
| Cybium 2016 | Vienne          | 0,261       | 0,260  | 0,285 | 0,246 | 0,356   | 0,339    | 0,265       | 0,324       | 0,228 | 0,242 | 0,331 | 0,268 | 0,316            | 0,255 | 0,267 | 0,235 |
|             | Hte Loire <2020 |             | 0,312  | 0,323 | 0,268 | 0,355   | 0,361    | 0,302       | 0,338       | 0,278 | 0,311 | 0,352 | 0,325 | 0,371            | 0,289 | 0,289 | 0,253 |
|             | Allier          |             |        | 0,308 | 0,228 | 0,373   | 0,341    | 0,283       | 0,334       | 0,136 | 0,232 | 0,384 | 0,291 | 0,331            | 0,251 | 0,163 | 0,292 |
|             | Ain             |             |        |       | 0,207 | 0,324   | 0,264    | 0,085       | 0,284       | 0,260 | 0,290 | 0,385 | 0,319 | 0,373            | 0,236 | 0,227 | 0,224 |
|             | Besse           |             |        |       |       | 0,198   | 0,178    | 0,137       | 0,157       | 0,166 | 0,193 | 0,338 | 0,227 | 0,272            | 0,119 | 0,129 | 0,156 |
|             | Chauvey         |             |        |       |       |         | 0,342    | 0,252       | 0,119       | 0,309 | 0,323 | 0,441 | 0,353 | 0,380            | 0,237 | 0,304 | 0,324 |
|             | Obenheim        |             |        |       |       |         |          | 0,239       | 0,296       | 0,301 | 0,314 | 0,417 | 0,348 | 0,399            | 0,222 | 0,148 | 0,168 |
|             | Chazey-Bons     |             |        |       |       |         |          |             | 0,209       | 0,208 | 0,228 | 0,355 | 0,254 | 0,311            | 0,177 | 0,194 | 0,203 |
|             | Danube          |             |        |       |       |         |          |             |             | 0,263 | 0,285 | 0,409 | 0,318 | 0,362            | 0,217 | 0,254 | 0,268 |
|             |                 |             |        |       |       |         |          |             |             |       | 0,041 | 0,325 | 0,102 | 0,156            | 0,203 | 0,136 | 0,217 |
|             |                 |             |        |       |       |         |          |             |             |       | 0,347 | 0,075 | 0,103 | 0,221            | 0,198 | 0,234 |       |
|             |                 |             |        |       |       |         |          |             |             |       |       | 0,364 | 0,383 | 0,330            | 0,334 | 0,333 |       |
|             |                 |             |        |       |       |         |          |             |             |       |       |       | 0,089 | 0,242            | 0,244 | 0,267 |       |
|             |                 |             |        |       |       |         |          |             |             |       |       |       |       | 0,286            | 0,299 | 0,325 |       |
|             |                 |             |        |       |       |         |          |             |             |       |       |       |       |                  | 0,178 | 0,193 |       |
|             |                 |             |        |       |       |         |          |             |             |       |       |       |       |                  |       | 0,102 |       |

## Conclusions :

L'analyse génétique des échantillons d'ombre récoltés sur la Loire et sur l'Allier en 2020 dans le département de la Haute-Loire selon deux types de marqueurs congruents (ADN nucléaire et ADN mitochondrial) montre qu'ils présentent un profil particulièrement perturbé caractéristique d'un mélange hétérogène de *Thymallus ligericus* et de *Thymallus thymallus*, ce mélange allant même jusqu'à l'exclusion de *Thymallus ligericus* de souche pure dans l'échantillon de la Loire supérieure. Les données génétiques permettent de certifier l'implication au moins partielle de la pisciculture de Besse dans les alevinages opérés sur la Loire de par la présence d'un haplotype mitochondrial typiquement danubien que l'on ne retrouve qu'à Besse. Néanmoins, au niveau nucléaire, une contribution très marquée de souches rhénanes dans les deux cours d'eau ne fait aucun doute, ce qui exclut Besse d'en être la principale source.

Cette souche de pisciculture, si elle s'est homogénéisée au fil des générations, devient de plus en plus atypique avec un profil microsatellite (ADN nucléaire) ne correspondant à aucune population naturelle connue et des femelles véhiculant encore des haplotypes mitochondriaux danubiens de *Thymallus thymallus* au sein d'haplotypes rhénans de la même espèce. Au sein de cette lignée d'élevage, les gènes locaux de *Thymallus ligericus* semblent donc disparaître au profit de génotypes de *Thymallus thymallus* rhénans. L'évolution génétique de cette souche de Besse en a fait une population "originale" qui ne saurait être représentative ni de l'espèce ligérienne *Thymallus ligericus* ni de l'espèce centre-européenne *Thymallus thymallus*. De fait son usage devrait être proscrit partout où subsiste encore des populations natives de l'une ou l'autre de ces espèces, du moins si on souhaite préserver leur caractère originel.

Tableau VI : Estimation de la valeur patrimoniale des individus analysés à partir de leurs profils génétiques

| Code OBR     | Commune                  | Taille (cm) | Génération | Haplotype | Nucléotype | Valeur patrimoniale |
|--------------|--------------------------|-------------|------------|-----------|------------|---------------------|
| ALL 1        | Chanteuges               | 15          | 2020       | Danube    | Hybride    | Très faible         |
| ALL 2        | Langeac                  | 29          | 2018       | Rhin      | Hybride    | Très faible         |
| ALL 3        | Langeac                  | 25          | 2019       | Loire     | Hybride    | Médiocre            |
| ALL 4        | Langeac                  | 40          | 2016-17    | Rhin      | Rhin       | Nulle               |
| ALL 5        | Langeac                  | 30          | 2018       | Rhin      | Hybride    | Très faible         |
| ALL 6        | Langeac                  | 25          | 2019       | –         | Loire      | Bonne ?             |
| ALL 7        | Mazeyrat-d'Allier        | 30          | 2018       | Rhin      | Rhin       | Nulle               |
| ALL 8        | Mazeyrat-d'Allier        | 10          | 2020       | Rhin      | Hybride    | Très faible         |
| ALL 9        | Chanteuges               | 25          | 2019       | Rhin      | Hybride    | Très faible         |
| ALL 10       | Chanteuges               | 34          | 2017       | Rhin      | Rhin       | Nulle               |
| ALL 11       | Chanteuges               | 27          | 2019       | Loire     | Hybride    | Médiocre            |
| ALL 12       | Chanteuges               | 30          | 2018       | Loire     | Loire      | Bonne               |
| ALL 13       | Saint-Arcons-d'Allier    | 27          | 2019       | Loire     | Loire      | Bonne               |
| ALL 14       | Saint-Arcons-d'Allier    | 15          | 2020       | Loire     | Hybride    | Médiocre            |
| ALL 15       | Cerzat, Aubazat          | 26          | 2019       | Rhin      | Loire      | Médiocre            |
| ALL 16       | Langeac                  | 10          | 2020       | Rhin      | Rhin       | Nulle               |
| ALL 17       | Chanteuges               | 32          | 2018       | Loire     | Hybride    | Médiocre            |
| ALL 18       | Langeac                  | 30          | 2018       | Loire     | Loire      | Bonne               |
| ALL 19       | Chanteuges               | 19          | 2020       | Loire     | Hybride    | Médiocre            |
| ALL 20       | Chanteuges               | 15          | 2020       | Rhin      | Loire      | Médiocre            |
| ALL 21       | Langeac                  | 18          | 2020       | Loire     | Hybride    | Médiocre            |
| ALL 22       | Chanteuges               | 30          | 2018       | Rhin      | Hybride    | Très faible         |
| ALL 23       | Cerzat, Aubazat          | 27          | 2019       | Rhin      | Hybride    | Très faible         |
| ALL 24       | Cerzat, Aubazat          | 18          | 2020       | Rhin      | Hybride    | Très faible         |
| ALL 25       | Blassac                  | 30          | 2018       | Rhin      | Hybride    | Très faible         |
| <b>Loire</b> |                          |             |            |           |            |                     |
| LOI 1        | Brives-Charensac, Coubon | 33          | 2017-18    | Rhin      | Rhin       | Nulle               |
| LOI 2        | Coubon                   | 27          | 2018       | Rhin      | Hybride    | Très faible         |
| LOI 3        | Coubon                   | 30          | 2018       | Danube    | Hybride    | Très faible         |
| LOI 4        | Coubon                   | 30          | 2018       | Danube    | Hybride    | Très faible         |
| LOI 5        | Brives-Charensac, Coubon | 18          | 2019       | Rhin      | Hybride    | Très faible         |
| LOI 6        | Cussac-sur-Loire         | 35          | 2017       | Rhin      | Rhin       | Nulle               |
| LOI 7        | Solignac-sur-Loire       | 10          | 2020       | Rhin      | Hybride    | Très faible         |
| LOI 8        | Cussac-sur-Loire         | 13          | 2020       | Rhin      | Hybride    | Très faible         |
| LOI 9        | Cussac-sur-Loire         | 18          | 2019       | Rhin      | Hybride    | Très faible         |
| LOI 10       | Cussac-sur-Loire         | 20          | 2019       | Rhin      | Hybride    | Très faible         |
| LOI 11       | Cussac-sur-Loire         | 30          | 2018       | Rhin      | Hybride    | Très faible         |
| LOI 12       | Cussac-sur-Loire         | 32          | 2017-18    | Danube    | Hybride    | Très faible         |

Ces dernières observations sur la Loire et l'Allier contredisent celles faites antérieurement sur la haute Vienne où la souche locale avait jusque là bien résisté aux introductions (Persat et al., 2013). Il est possible qu'il ne s'agisse pas d'une question de génétique (avantage compétitif putatif des lignées autochtones sur les allochtones) mais juste la conséquence d'une amélioration des techniques d'élevage et d'alevinage aboutissant à un meilleur succès des déversements.

Au vu des présents résultats, il semblerait alors que l'espèce de la Loire ne soit plus en mesure de résister aux introductions intempestives de *Thymallus thymallus*, ou ou autres dérivés de pisciculture.

Une hypothèse moins radicale serait tout simplement qu'il n'y ait plus eu le moindre ombre ligérien dans le secteur aleviné sur la Loire : la "réussite" des introductions ne serait alors que l'occupation d'une place vide. Il serait alors important de savoir si cette installation est pérenne, et comment elle peut s'articuler avec la présence résiduelle éventuelle d'une souche de *T. ligericus* pure plus en amont, ce qui reste à démontrer.

Une situation un peu similaire se présente sur l'Allier puisque le tronçon à "hybrides" de la Fédération 43 se trouve pris en sandwich entre l'Allier amont (43-48), l'Alagnon (15) et l'Allier aval (63) où ne seraient encore présents guère que des individus de type ligérien.

D'un point de vue conservatoire, le tableau VI montre un bilan sans appel. La situation a brutalement changé après 2016 avec l'introduction de nouvelles techniques et/ou de nouveaux acteurs, et/ou de nouvelles souches. On passe d'une situation parfaitement stable jusqu'en 2016, à une situation extrêmement préoccupante en 2020.

On ne peut pas dire si elle va s'améliorer ou s'aggraver au fil du temps, mais la seule façon d'en avoir le cœur net serait de suspendre toute opération de "repeuplement" pendant au moins deux générations d'ombres, soit **6 ans minimum**, dans l'espoir de voir si les souches locales de *Thymallus ligericus* peuvent reprendre le dessus.

Il convient en effet de rappeler la position de l'UICN, réaffirmée récemment par le CSRPN (Conseil Scientifique Régional pour la Protection de la Nature) Auvergne-Rhône-Alpes dans le cadre de l'établissement de la Liste Rouge Régionale UICN des espèces de poissons d'eau douce menacées, à propos de la valeur patrimoniale des populations d'espèces protégées :

*"Le CSRPN rappelle que les critères UICN visent à la protection des espèces menacées mais ne s'appliquent pas à des populations introduites, de quelque valeur halieutique soient-elles (à l'exception de programmes de conservation scientifiquement contrôlés, tels que pour l'Apron dans la Drôme), ni même à celles de leurs populations natives dont le caractère indigène aurait été génétiquement altéré par l'introduction de génotypes allochtones. En outre, il considère que si des actions de renforcement de populations venaient à être envisagées (cas de la truite fario en particulier), elles nécessiteraient un contrôle scientifique. Cela permettrait de limiter les risques de pollution génétique notamment" (CSRPN AURA, 2022).*

La valeur halieutique d'une espèce n'a aucun rapport avec sa valeur patrimoniale, et seule cette dernière peut justifier des mesures de protection rigoureuses.

En l'occurrence, ces nouveaux résultats pourraient conduire à ce que l'espèce *Thymallus ligericus* endémique du bassin de la Loire ne soit plus classée VU (vulnérable), mais EN (en danger) selon les critères UICN pour cause de risque d'hybridation ou de remplacement par des populations de *Thymallus thymallus*, probablement elles-mêmes hybridées, donc sans statut UICN autre que NA (Non Applicable).

Il est évident que dans un tel contexte, la protection des cours d'eau concernés serait beaucoup plus difficile à justifier.

Il est donc infiniment regrettable que la population native d'ombres du cours supérieur de la Loire, dont l'existence avait été un argument scientifique contre l'érection du barrage de Serre-de-la-Fare, puisse disparaître sous la pression de "consommateurs" de la nature à courte vue.

Cela pose aussi la question de l'aménagement de Poutès-Monsitrol : doit-on encore faciliter la remontée des ombres de Langeac jusqu'en Lozère s'ils ne sont pas de souche pure ?

Dans l'immédiat, il serait hautement souhaitable que la Fédération de Pêche de Haute-Loire fasse l'historique précis des alevinages en ombres (dates, lieux, origines, stades de développement) pour que l'on sache exactement ce qui a été fait et éviter de le refaire, et bien sûr mette un terme à toutes ces manipulations, qu'elles soient de son fait ou à l'initiative de certaines de ses AAPPMA (en espérant qu'il n'y ait pas de simples particuliers ou pisciculteurs qui s'en mêlent en se débarrassant de leurs produits).

## Références utiles

CSRPN Auvergne-Rhône-Alpes 2022 : Avis relatif à la liste rouge régionale des poissons et des écrevisses de la région. N°AURA-2022-E-064, Séance du 01 décembre 2022.

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.

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., Fröhlich D., Weiss S., 2016 : Identification génétique des populations d'ombre d'Auvergne (*Thymallus ligericus*) du Puy-de-Dôme comparativement aux autres populations ligériennes : Qualité patrimoniale de la lignée élevée à la pisciculture fédérale de Besse-en-Chandesse et impact des repeuplements passés en ombres communs (*T. thymallus*). Rapport Fédération de Pêche du Puy de Dôme, 28p.

Persat, H., Grimm J. Weiss S., 2018. Qualité génétique des populations d'ombre commun (*Thymallus thymallus*) de l'Alagnon (bassin Loire-Allier). Rapport Fédération de Pêche du Cantal, 30p.

Persat H., Weiss S., Froufe E. , Secci-Petretto G. & Denys G. P. J. , 2019. A third European species of grayling (Actinopterygii, Salmonidae), endemic to the Loire River basin (France), *Thymallus ligericus* n. sp. . *Cybium*, 43(3): 233-238.

Persat H., Weiss S., Froufe E. , Secci-Petretto G. & Denys G. P. J. , 2020. Erratum - A third European species of grayling (Actinopterygii, Salmonidae), endemic to the Loire River basin (France), *Thymallus ligericus* n. sp. . *Cybium*, 44(1): 81.

Persat H., Winkler K., Schenekar T., Mattersdorfer K., Weiss S., 2013 : *Diversité génétique des populations d'ombre commun du département de la Haute-Vienne*. Rapport technique, UMR 5023 Université Lyon 1 et Institut de Zoologie de l'Université de Graz : 29p.

Persat H., Winkler K., Schenekar T., Mattersdorfer K., Weiss S., 2013 : *Diversité génétique des populations d'ombre commun du département de la Haute-Loire*. Rapport Fédération de Pêche de la Haute-Loire, 27p.

Persat H., Winkler K., Schenekar T., Mattersdorfer K., Weiss S., 2016 : Genetic integrity of the European grayling (*Thymallus thymallus*) populations within the Vienne River drainage basin after five decades of stockings. *Cybium*, 40(1): 7-20.

Persat H., Winkler K., Schenekar T., Mattersdorfer K., Weiss S., 2013 : *Diversité génétique des populations d'ombre commun du département du Puy de Dôme*. Rapport Fédération de Pêche de la Haute-Loire, 27p.

Soewardi K., 1988 : Caractérisation des populations de *Thymallus thymallus* L. (Poissons, Salmonidés) et de *Rutilus rutilus* L. (Poissons Cyprinidés) dans le réseau fluvial du Rhône. Approche par l'analyse du polymorphisme enzymatique. Thèse Univ. Lyon 1, 125 p.

Weiss S., Persat H., Eppe R., Schlötterer C., 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<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 répliqués).

### Extraction de l'ADN et analyses des microsatellites

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

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

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

### **Analyses statistiques**

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

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

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

\* Informations complémentaires actualisées disponibles dans Persat *et al.* 2016

Profils génétiques des haplotypes : mutations sur la séquence de 1021 paires de bases de la Région de Contrôle de l'ADN mitochondrial examinée en prenant comme référence la séquence de l'haplotype ligérien Ht24.

|        | 12 | 68 | 70 | 74 | 99 | 105 | 136 | 151 | 153 | 193 | 206 | 233 | 261 | 278 | 284 | 298 | 310 | 336 | 355 | 428 | 452 | 553 | 591 | 596 | 613 | 615 | 654 | 656 | 667 | 671 | 688 | 699 | 730 | 743 | 800 | 803 | 815 | 920 | 924 | 1005 | 1010 | 1012 | 1013 | 1020 | 1021 |   |   |
|--------|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|------|------|------|------|---|---|
| Ht24   | G  | C  | G  | —  | C  | A   | A   | C   | G   | A   | T   | G   | T   | T   | T   | A   | C   | C   | A   | A   | T   | C   | G   | G   | T   | A   | —   | T   | A   | G   | T   | A   | A   | A   | T   | A   | C   | C   | C   | G    | —    | C    | G    | T    | —    |   |   |
| Ht25   | .  | .  | .  | —  | .  | .   | .   | .   | .   | .   | .   | A   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | —   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .    | .    | .    | .    | .    | .    | . | — |
| Ht26   | .  | T  | A  | —  | .  | .   | .   | T   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | —   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .    | .    | .    | .    | .    | .    | . | — |
| Ht29   | .  | T  | A  | —  | .  | .   | .   | T   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | —   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .    | .    | .    | .    | .    | .    | . | — |
| Ht30   | .  | T  | A  | —  | .  | .   | .   | T   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | —   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .    | .    | .    | .    | .    | .    | . | — |
| Ht23   | .  | T  | A  | —  | .  | .   | .   | T   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | —   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .    | .    | .    | .    | .    | .    | . | — |
| Ht20   | .  | T  | A  | A  | .  | .   | .   | .   | .   | .   | .   | A   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | —   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .    | .    | .    | .    | .    | .    | . | — |
| Ht21   | .  | T  | A  | A  | .  | G   | .   | .   | .   | .   | .   | A   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | —   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .    | .    | .    | .    | .    | .    | . | — |
| At1    | .  | T  | A  | A  | .  | G   | .   | .   | .   | .   | .   | A   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | —   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .    | .    | .    | .    | .    | .    | . | — |
| ALI002 | .  | .  | .  | —  | .  | .   | .   | .   | .   | .   | .   | ?   | .   | .   | .   | .   | .   | G   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | —   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .    | .    | .    | .    | .    | .    | . | — |
| Da1    | A  | T  | A  | —  | .  | G   | T   | A   | .   | C   | A   | C   | C   | .   | T   | T   | .   | G   | G   | C   | .   | .   | .   | C   | G   | C   | —   | G   | A   | .   | G   | G   | T   | .   | .   | T   | .   | .   | .   | .    | .    | .    | .    | .    | .    | — |   |
| Da4    | A  | T  | A  | —  | .  | G   | T   | A   | .   | C   | A   | C   | C   | .   | T   | T   | T   | G   | G   | C   | .   | .   | .   | C   | G   | C   | —   | G   | A   | .   | G   | G   | T   | .   | .   | T   | .   | .   | .   | .    | .    | .    | .    | .    | .    | — |   |
| Da11   | A  | T  | A  | —  | .  | G   | T   | A   | .   | C   | A   | C   | C   | .   | T   | T   | T   | G   | G   | C   | .   | .   | .   | C   | G   | C   | —   | G   | A   | .   | G   | G   | T   | .   | .   | T   | .   | .   | .   | .    | .    | .    | .    | .    | .    | — |   |
| Da30   | A  | T  | A  | —  | .  | G   | T   | A   | .   | C   | A   | C   | C   | .   | T   | T   | T   | G   | G   | C   | .   | .   | .   | C   | G   | C   | —   | G   | A   | .   | G   | G   | T   | .   | .   | T   | .   | .   | .   | A    | .    | .    | .    | .    | .    | — |   |
| Rh1    | A  | T  | A  | —  | .  | G   | T   | A   | C   | C   | A   | C   | .   | .   | T   | T   | T   | C   | .   | C   | .   | .   | .   | .   | C   | G   | .   | A   | C   | G   | .   | .   | .   | .   | G   | T   | .   | .   | .   | .    | .    | A    | .    | A    | C    | — |   |
| Rh4    | A  | T  | A  | —  | .  | G   | T   | A   | C   | C   | A   | C   | .   | .   | T   | T   | T   | C   | .   | C   | .   | .   | .   | .   | C   | G   | .   | A   | C   | G   | .   | .   | .   | .   | G   | T   | .   | .   | .   | .    | A    | .    | A    | C    | —    |   |   |
| Hl4    | A  | T  | A  | —  | .  | G   | T   | A   | C   | C   | A   | C   | .   | .   | T   | T   | T   | C   | .   | C   | .   | .   | .   | A   | .   | C   | G   | .   | A   | C   | G   | .   | .   | .   | .   | G   | T   | .   | .   | .    | .    | A    | .    | A    | C    | — |   |
| Ht14   | A  | T  | A  | —  | .  | G   | T   | A   | C   | C   | A   | C   | .   | .   | T   | T   | T   | C   | .   | C   | .   | .   | .   | A   | .   | C   | G   | .   | A   | C   | G   | .   | .   | .   | .   | G   | T   | .   | .   | .    | .    | A    | .    | A    | C    | — |   |
| Ht3    | A  | T  | A  | —  | T  | .   | G   | T   | A   | .   | C   | A   | .   | .   | T   | .   | T   | G   | .   | C   | .   | .   | .   | .   | .   | C   | G   | G   | A   | .   | G   | .   | .   | .   | .   | G   | T   | .   | .   | .    | .    | A    | .    | A    | C    | — |   |
| Ht27   | A  | T  | A  | —  | T  | .   | G   | T   | A   | .   | C   | A   | .   | .   | T   | .   | T   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | C   | G   | G   | A   | .   | G   | .   | .   | .   | .   | .   | G   | T   | .   | .    | .    | .    | A    | .    | A    | C | C |
| OEN33  | A  | T  | A  | —  | .  | G   | T   | A   | .   | C   | A   | C   | .   | .   | T   | .   | T   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | C   | G   | G   | A   | .   | G   | .   | .   | .   | .   | .   | G   | T   | .   | .    | .    | A    | .    | A    | C    | — |   |

Mutations majeures de transversions

. Base identique à la base de la séquence de référence

— Base manquante (délétion)