

SCIMABIO *Interface*
science-management interface for biodiversity conservation

SCIMABIO Interface
Les Cyclades B
5, rue des Quatre Vents
74200 Thonon-les-Bains

Mobiles : 06 63 71 34 93
06 41 68 68 64

info@scimabio-interface.fr
www.scimabio-interface.fr

Etude génétique de la population de truite commune (*Salmo trutta*) du cours principal du Méchet (71)



Fédération de Saône et Loire pour la Pêche et la Protection du milieu Aquatique



Rédaction : Arnaud CAUDRON (SCIMABIO Interface)
Rémy CHASSGNOL (FDPPMA 71)

Mai 2017

SOMMAIRE

Liste des figures.....	1
Liste des tableaux.....	1
Liste photographie.....	2
INTRODUCTION.....	3
1 PRESENTATION DU MECHET.....	4
2 MATERIEL ET METHODES.....	6
2.1 Echantillonnage de la population.....	6
2.2 Analyse génétique.....	9
2.3 Caractéristiques et qualité des échantillons.....	10
2.4 Diversité génétique des échantillons.....	11
2.5 Différentiation et structure génétique entre les échantillons.....	11
3 RESULTATS.....	12
3.1 Caractéristiques et qualité des échantillons.....	12
3.2 Diversité génétique des échantillons.....	13
3.3 Différentiation et structure génétique entre les échantillons.....	14
4 INTERPRETATION.....	19
Références.....	20

Liste des figures

Figure 1 : Situation géographique du Méchet au sein du département de Saône-et-Loire	5
Figure 2 : Carte du réseau hydrographique du bassin du Méchet.....	6
Figure 3 : carte de localisation des secteurs échantillonnés (en jaune) et des ouvrages transversaux pouvant faire obstacle à la circulation piscicole sur le linéaire étudié du Méchet.....	7
Figure 4 : Nombre de géniteurs estimés sur chaque secteur à l'aide du logiciel NeEstimator V2 (Do et al. 2014).....	14
Figure 5 : Analyse en composante principale 2D obtenue à partir des fréquences alléliques des 8 secteurs étudiés.	15
Figure 6 : Analyse en composante principale 3D illustrant les axes F1, F2 et F3 obtenue à partir des fréquences alléliques des 8 secteurs étudiés.....	15
Figure 7 : Analyses en composantes principales 2D (F1XF2 en haut, F1XF3 en bas) obtenue à partir des fréquences alléliques des 6 secteurs après retrait des secteurs Méchet 6 et 7.....	16
Figure 8 : Répartition sur chaque secteur des génotypes obtenus par le logiciel STRUCTURE pour K =8 clusters. Au sein de chaque échantillon, chaque individu est représenté par une barre verticale colorée. Chaque couleur représente un cluster différent. les barres verticales colorées représentent les probabilités de chaque individu d'être membre des clusters.	17
Figure 9 : Répartition sur chaque secteurs des 2 groupes génétiques obtenus par « clustering » avec le logiciel STRUCTURE. Au sein de chaque échantillon, chaque individu est représenté par une barre verticale colorée. Chaque couleur représente un cluster différent. les barres verticales colorées représentent les probabilités de chaque individu d'être membre des clusters.	18
Figure 10 : Arbre (neighbor-joining) obtenu à partir des distances génétiques (Dc). La longueur des branches est proportionnelle à la distance génétique. Les valeurs à côté des branches indiquent la robustesse (en pourcentage) des regroupements observés.	18

Liste des tableaux

Tableau 1 : informations générales sur les échantillonnages réalisés sur les 8 secteurs étudiés.	9
Tableau 2 : Liste et amorces des 15 marqueurs microsatellites utilisés pour le génotypage. Pour chaque marqueur, deux amorces sont nécessaires : F (= Forward) désigne l'amorce dite « sens » (sens de lecture de la séquence ADN) et R (= Reverse) désigne l'amorce dite « anti-sens »	10
Tableau 3 : synthèse des principales statistiques génétiques obtenues sur chaque échantillon sur la base des 14 microsatellites. HWE = nombre de tests significatifs en déséquilibre Hardy-Weinberg, Ho = hétérozygotie observée, He = hétérozygotie attendue, A = nombre moyen d'allèle par locus, Ar = richesse allélique, Fis = indice de fixation, Ne = taille efficace estimée de la population et son intervalle de confiance à 95%.	13
Tableau 4 : Présentation des indices de différenciation, Fst, par paire d'échantillons. Les valeurs significatives sont présentées en gras.....	14

Liste photographie

Photographie 1 :	Le Méchet à la Grande Verrière	4
Photographie 2 :	Tacon issu des déversement ayant lieu sur le Méchet.....	5
Photographie 3 :	Seuil de la Microcentrale du Piéjus	8
Photographie 4 :	Cascade naturelle en amont de la station Méchet 6.....	8
Photographie 5 :	Truite capturée sur les portions apicales du Méchet (Station Méchet 7).....	19
Photographie 6 :	Truite capturée sur les portions intermédiaires du Méchet (Station Méchet 3) ..	20

INTRODUCTION

La Fédération de Saône-et-Loire pour la Pêche et la Protection du Milieu Aquatique participe activement avec le Parc Naturel Régional du Morvan à l'étude et la restauration des ruisseaux et rivières de 1^{ère} catégorie.

Parmi toutes les altérations qui affectent la qualité écologique des rivières du Morvan, l'altération de la continuité écologique des cours d'eau peut-être une problématique importante au bon déroulement du cycle écologique de certaines espèces de poissons telles que la truite commune, la lamproie de planer, le chabot, la lote et même des espèces amphihalines telles que l'anguille, le saumon atlantique et la lamproie marine.

C'est dans ce contexte que des études et travaux de restauration de la continuité écologique ont été entrepris sur le Méchet, une rivière classée en liste 1 et liste 2 par l'article L214-17 du code de l'environnement. Deux ouvrages prioritaires « Grenelles » sont présents : le seuil de la prise d'eau de l'étang de Bouton et le seuil de la Microcentrale du Piéjus.

Des travaux récents réalisés par le Parc Naturel Régional du Morvan ont d'ores et déjà parmi de restaurer la libre circulation piscicole au niveau du seuil de la prise d'eau de l'étang Bouton (été 2016). Des travaux similaires devraient être engagés sous peu pour le seuil de la microcentrale du Piejus.

Préalablement à ces travaux, des inventaires piscicoles ont été entrepris sur le Méchet par la Fédération de Pêche de Saône-et-Loire. Ces inventaires avaient pour principal objectif la réalisation d'un diagnostic génétique des populations de truite fario du Méchet afin :

- d'une part d'évaluer les effets réels de la fragmentation du milieu par les obstacles sur le fonctionnement écologique des populations (niveau de préjudice des isolations, des réductions de flux génique,...)
- et d'autre part d'obtenir un état initial avant les actions de rétablissement de la continuité écologique.

Les données récoltées ont été traitées et analysées par le bureau d'étude SCIMABIO Interface. Elles font l'objet de ce présent rapport.

1 PRESENTATION DU MECHET

Le Méchet prend sa source sur la commune de SAINT PRIX à 665 m d'altitude sous le refuge forestier de la Croisette. C'est un affluent de l'Arroux qu'il rejoint à la limite des communes de Monthelon et de Laizy.

Il s'écoule sur 24 km en traversant successivement les villages de Saint Prix, Saint-Léger-sous-Beuvray et La Grande Verrière. Le bassin versant de 94 km² est partagé entre forêts sur les hauteurs et prairies dans les fonds de vallée.



Photographie 1 : Le Méchet à la Grande Verrière

Rivière du domaine privé, classée en première catégorie piscicole, le Méchet est un cours d'eau de fort intérêt patrimonial dont la gestion piscicole est confiée en aval de Saint-Léger-sous-Beuvray (71190) à l'Association Agréée pour la Pêche et la Protection du Milieu Aquatique (AAPPMA) d'Autun et en amont à la société de pêche communale de Saint Prix (71190).

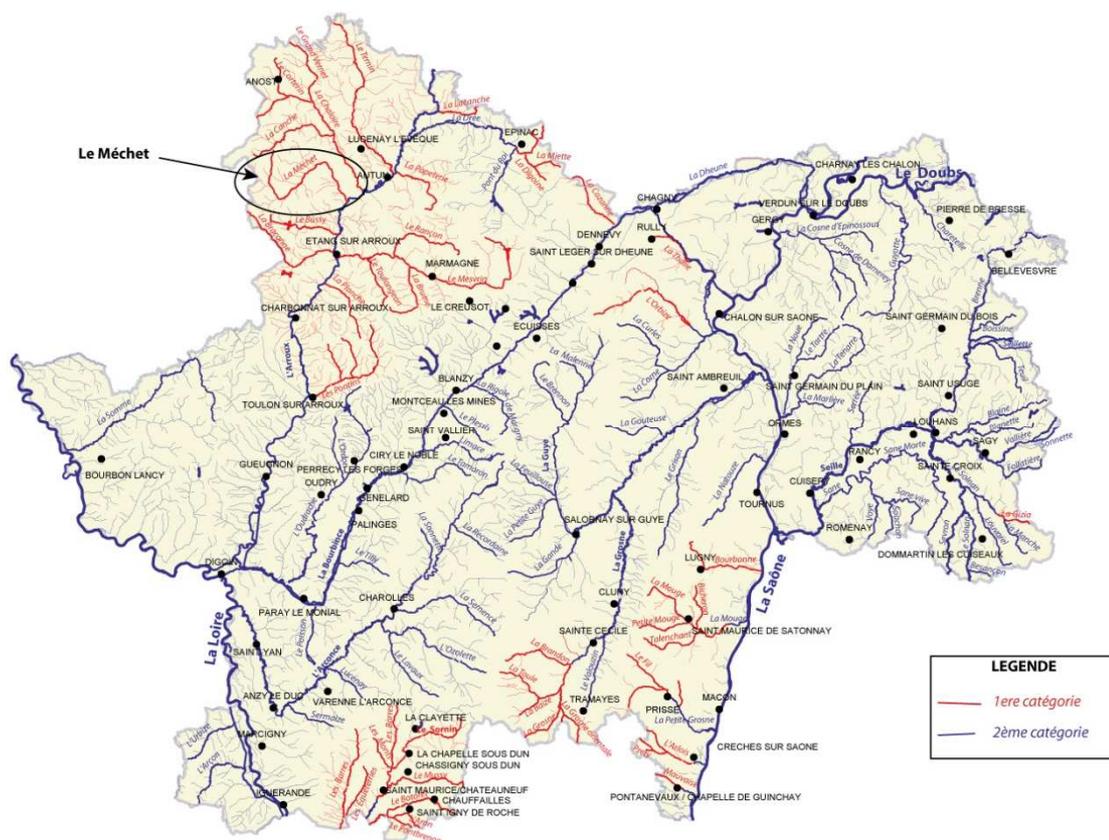


Figure 1 : Situation géographique du Méchet au sein du département de Saône-et-Loire

Le Méchet est caractérisé par un peuplement piscicole de type salmonicole avec la présence sur ces portions les plus aval de quelques cyprinidés d'eau vives. Parmi les espèces de poissons qui colonisent le Méchet, on peut citer le barbeau fluviatile, le chabot, le chevesne, le goujon, le hotu, la loche franche, la lote, la lamproie de planer, le spirilin, la truite commune, le vairon et la vandoise.

Mais le Méchet présente aussi d'excellentes potentialités pour les poissons migrateurs amphihalins (saumon atlantique, lamproie marine et anguille). Ce pourquoi, il fait d'ailleurs l'objet de campagnes d'alevinage en tacon (jeune saumon atlantique) par le Conservatoire National du Saumon Sauvage.



Photographie 2 : Tacon issu des déversement ayant lieu sur le Méchet

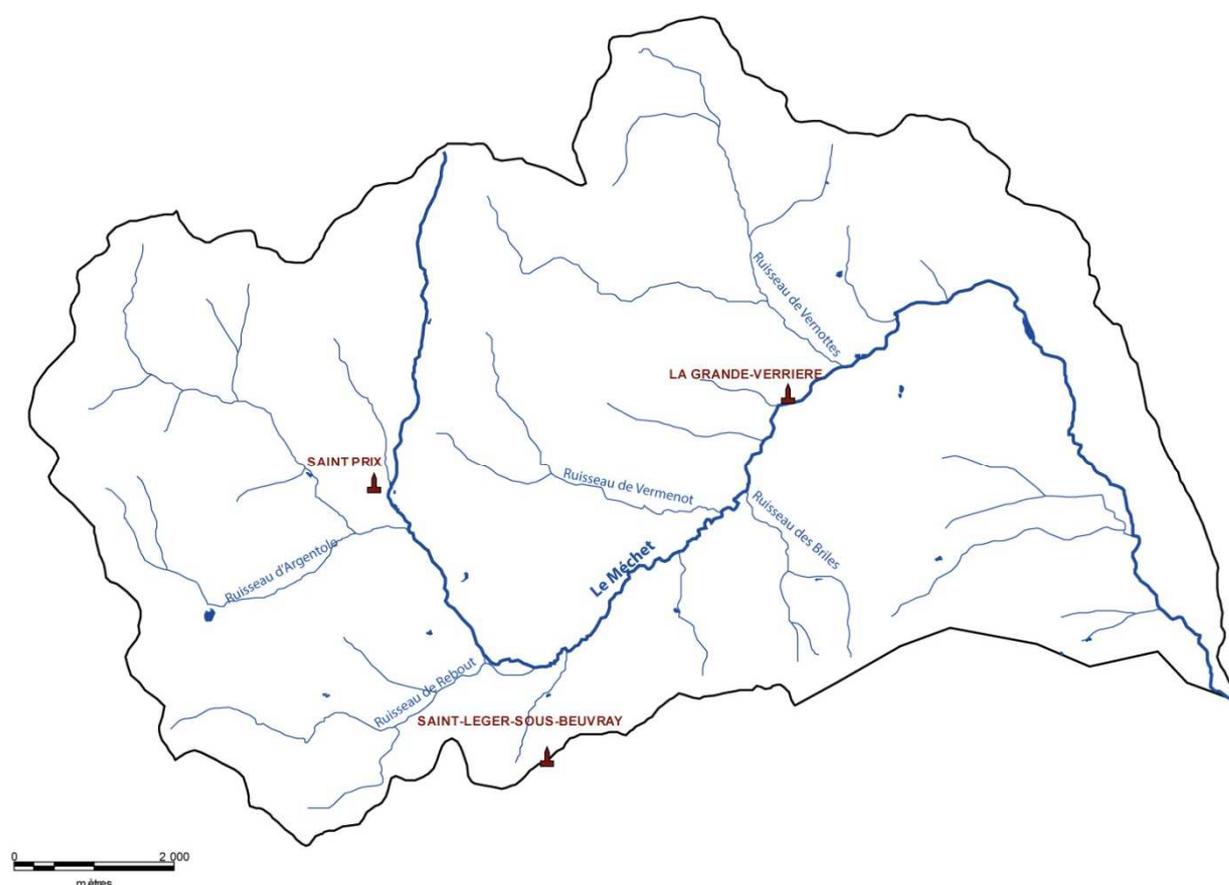


Figure 2 : Carte du réseau hydrographique du bassin du Méchet

Le Méchet fait aussi l'objet de campagnes d'alevinages annuelles en truites fario adultes, issues de pisciculture. Ces alevinages ont une vocation halieutique. Ils sont réalisés peu avant et peu après l'ouverture de la pêche en 1^{ère} catégorie piscicole. Ils permettent aux pêcheurs de capturer plus facilement des poissons atteignant la taille légale de capture. Peu adaptés et vite capturés ces poissons ne subsistent quasiment pas dans le milieu naturel.

2 MATERIEL ET METHODES

2.1 Echantillonnage de la population

L'échantillonnage de la population de truites du Méchet a été réalisé en 2016 par pêches électriques par le service technique de la Fédération de Saône et Loire pour la Pêche et la Protection du Milieu Aquatique. Cette première étude génétique s'est focalisée sur le cours principal du Méchet. Le linéaire étudié a été divisé en 8 secteurs dont 7 sur le Méchet et 1 sur la partie aval de son affluent l'Argentolle qui est en communication avec le cours principal (figure 3). Les secteurs échantillonnés ont été répartis sur la totalité du linéaire du Méchet et sont représentatifs de tronçons de cours d'eau situés entre des ouvrages plus ou moins franchissable pour la circulation piscicole.



Figure 3 : carte de localisation des secteurs échantillonnés (en jaune) et des ouvrages transversaux pouvant faire obstacle à la circulation piscicole sur le linéaire étudié du Méchet.

D'après les différents diagnostics réalisés lors de l'élaboration des Schémas Départementaux de Vocation Piscicole du département de Saône-et-Loire (1993 et 2007), différents ouvrages avaient été recensés sur le Méchet. L'ensemble de ces ouvrages a été intégré aux Référentiel des Obstacles à l'Écoulement. Le critère de franchissabilité avait été estimé par jugement d'expert.

A l'époque, parmi l'ensemble des obstacles décrits, deux ouvrages à usage majeur avaient été identifié :

- le seuil de la prise d'eau de l'étang Bouton considéré comme temporairement franchissable (franchissement partiel) pour la truite commune (Carte 3)
- et le seuil de la microcentrale du Piéjus considéré comme infranchissable pour la truite commune (Carte 3).

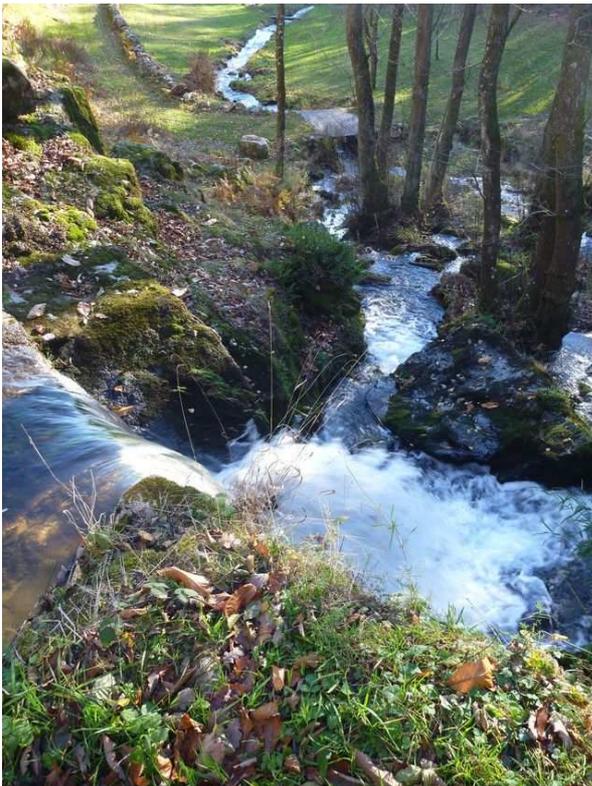
Ces deux seuils, classés en ouvrage prioritaire Grenelles ont fait l'objet d'étude pour la restauration de la continuité écologique. Le seuil de l'étang Bouton a été effacé peu de temps après le commencement des échantillonnages. Le seuil de la microcentrale du Piéjus devrait être aménagé sous peu pour permettre la libre circulation piscicole.

D'autres obstacles ont été identifiés plus tardivement lors de l'élaboration du Contrat Territorial Sud Morvan (Travaux du Parc Naturel Régional du Morvan) et lors des travaux d'échantillonnage piscicole de la présente étude.

C'est ainsi qu'une cascade naturelle a été identifiée en amont de la station d'échantillonnage Méchet 6 (Carte 3). Cette cascade a été considérée comme infranchissable.



Photographie 3 :Seuil de la Microcentrale du Piéjus



Photographie 4 :Cascade naturelle en amont de la station Méchet 6

L'échantillonnage s'est déroulé sur 4 jours, le 08 et 11 juillet, le 02 août et le 22 septembre 2016. Sur chaque secteur, un minimum de 20 individus a été recherché. Le nombre final d'individus échantillonnés par secteur varie de 22 à 51 (tableau1) selon la quantité de poissons présents.

Pour une étude de génétique des populations, il est recommandé d'éviter d'échantillonner des individus faisant partie de la même fratrie (Hansen et al. 1997). Dans la présente étude, ce risque a été limité par le protocole mis en œuvre : 1/ en évitant d'échantillonner les juvéniles de l'année (0+) ; 2/ en échantillonnant plusieurs classes d'âge et 3/ en répartissant les prélèvements sur un linéaire relativement important.

Seuls les individus d'âge supérieur ou égal à 1+ ont été recherchés. Chaque individu échantillonné a été anesthésié dans un bain d'eugénol, mesuré (longueur totale) puis un morceau de nageoire pelvienne a été prélevé et stocké dans l'éthanol 96°.

Date échantillonnage	Rivière	Code tronçon	Localisation du tronçon échantillonné	Longueur du secteur (m)	Largeur moy. (m)	Effectif échantillonné	Taille moy. des individus en mm (écartype)
08/07/2016	Méchet	Méchet 1	Le Méchet à la Corvée à Monthelon	323	7,3	22	214 (75)
08/07/2016	Méchet	Méchet 2	Le Méchet à Sennavelle à la Grande Verrière	238	7,6	50	199 (46)
11/07/2016	Méchet	Méchet 3	Le Méchet dans la Grande Verrière	284	6,4	50	208 (55)
11/07/2016	Méchet	Méchet 4	Le Méchet au Vivier à Saint-Léger-sous-Beuvray	194	6,82	51	214 (55)
22/09/2016	Méchet	Méchet 5	Le Méchet à la Croix de Prézin à Saint Prix	184	5,2	40	179 (41)
02/08/2016	Crot Morin	Méchet 6	Le Méchet à Montcharmont à Saint Prix	225	1,5	51	161 (43)
02/08/2016	Crot Morin	Méchet 7	Le Méchet aux Seintes à Saint Prix	100	0,95	50	121 (28)
22/09/2016	Argentolle	Argentolle 1	l'Argentolle en amont du pont de la D 179 à Saint Prix	175	3,1	36	194 (33)

Tableau 1 : informations générales sur les échantillonnages réalisés sur les 8 secteurs étudiés.

2.2 Analyse génétique

Après extraction et amplification de l'ADN, chaque individu a été génotypé au niveau de 15 marqueurs microsatellites (tableau 2).

Un marqueur microsatellite correspond à la répétition continue d'un motif composé de plusieurs nucléotides sur une séquence ADN donnée. Le nombre de répétition d'un même motif varie d'un individu à l'autre, et d'un allèle à l'autre chez un même individu. Ces marqueurs microsatellites sont utilisés pour mesurer la diversité génétique au sein d'un groupe d'individus.

Marqueurs	Séquence des amorces (5' - 3')	
BS131	F : CACATCATGTTACTGCTCC	R : CAGCCTAATTCTGAATGAG
CA060177	F : CGCTTCCTGGACAAAAATTA	R : GAGCACACCCATTCTCA
Oneµ9	F : CTCTCTTTGGCTCGGGGAATGTT	R : GCATGTTCTGACAGCCTACAGCT
Ssa159NVH	F : TGTTTGACGCCTCGTCTG	R : CGCTGATCTTTGTGTAAGG
Ssa171DU	F : TTATTATCCAAAGGGTCAAAA	R : GAGGTCGCTGGGGTTTACTAT
Ssa197DU	F : GGGTTGAGTAGGGAGGCTTG	R : TGGCAGGGATTGACATAAC
Ssa408UOS	F : AATGGATTACGGGTACGTTAGACA	R : CTCTGTGCAGGTTCTTCATCTGT
Ssa85DU	F : AGGTGGGTCCTCCAAGCTAC	R : ACCCGCTCCTCACTTAATC
SsaD71	F : AACGTGAAACATAAATCGATGG	R : TTAAGAATGGGTTGCCTATGAG
SsoSL438	F : TGACAACACACAACCAAGG	R : GTAAAATGGAAGCATCTGTG
Str543INRA	F : CTTTCTCTTGCATAGTACGG	R : GTTCTACAGTCAGCACAAAGTC
Str58CNRS	F : GCTCACCTCGTAATAAGGAGG	R : AAGGACTTGAAGGACGAC
Str60INRA	F : CGGTGTGCTTGTGAGTTTC	R : GTCAAGTCAGCAAGCCTCAC
Str73INRA	F : CCTGGAGATCCTCCAGCAGGA	R : CTATTCTGCTTGTAACTAGACCTA
T3-13	F : CCAGTTAGGGTTCATTGTCC	R : CGTTACACCTCTCAACAGATG

Tableau 2 : Liste et amorces des 15 marqueurs microsatellites utilisés pour le génotypage. Pour chaque marqueur, deux amorces sont nécessaires : F (= Forward) désigne l'amorce dite « sens » (sens de lecture de la séquence ADN) et R (= Reverse) désigne l'amorce dite « anti-sens »

2.3 Caractéristiques et qualité des échantillons

La qualité des génotypes et l'absence d'amplification d'un des deux allèles (phénomène de « dropout ») ont été vérifiées en utilisant Micro-Checker (Van Oosterhout et al. 2004)

Bien que des précautions aient été prises pour éviter d'échantillonner majoritairement des individus de la même famille, une première analyse a été réalisée avec le logiciel COLONY 2.0 (Wang 2004, Jones & Wang 2009) pour évaluer sur chaque secteur les **individus appartenant à la même fratrie**.

Les déviations par rapport à l'**équilibre d'Hardy-Weinberg (HW)** et l'existence de **déséquilibre de liaison (DL)** ont été testées à l'aide de GENEPOP v4.2 (Rousset, 2008). Le seuil initial de significativité ($P=0,05$) a été ajusté par la correction de Bonferroni.

L'**indice de fixation Fis** (Wright, 1969) de chaque échantillon a été calculé en utilisant le logiciel FSTAT (Goudet, 1995). Cet indice varie de -1 à +1 et renseigne sur le déficit en hétérozygote dans un échantillon. Un Fis de 0 indique une population à l'équilibre de Hardy-Weinberg, une valeur positive traduit un déficit en hétérozygotes alors qu'une valeur négative indique un excès d'hétérozygote.

2.4 Diversité génétique des échantillons

La diversité génétique au sein de chaque échantillon a été étudiée à l'aide des paramètres suivants :

- **Le nombre total d'allèles ;**
- **La moyenne du nombre d'allèles (A) par locus ;**
- **La richesse allélique (AR)** qui correspond au nombre total d'allèles divisé par le nombre de loci ;
- **L'hétérozygotie attendue (He) et observée (Ho)** qui indique la proportion d'individus hétérozygotes à laquelle on s'attend dans une population panmictique (He) et observée dans l'échantillon (Ho).

A et AR ont été calculés à l'aide du logiciel FSTAT. Le nombre total d'allèles et les proportions d'hétérozygotes He et Ho avec le logiciel Arlequin v3.5 (Excoffier et Lischer, 2010).

La taille efficace de la population, Ne, a également été estimée. Dans une population naturelle tous les individus ne participent pas à la reproduction et tous n'ont pas le même succès reproducteur. Il existe donc une différence entre le nombre total d'individus dans une population et le nombre d'individus qui engendre une descendance viable, appelés géniteurs efficaces. La taille efficace (Ne) est une estimation de l'abondance des géniteurs efficaces dans une population. Dans notre cas, il s'agira d'une estimation du nombre de géniteurs qui est à l'origine de l'échantillon étudié. Ne a été estimée pour chaque échantillon à l'aide du logiciel NeEstimator V2 (Do et al. 2014) en utilisant la méthode du déséquilibre de liaison. Son intervalle de confiance à 95% a également été calculé.

2.5 Différentiation et structure génétique entre les échantillons

La différence et la structuration génétique entre les échantillons a été étudiée par 4 approches :

- Les **indices de différenciations F_{ST}** ont été calculés pour chaque pair d'échantillons. Cet indice renseigne sur la différence génétique entre les échantillons sur la base des fréquences alléliques. Il varie de 0 à 1, plus il est élevé plus la différenciation génétique entre les deux échantillons est importante. Ces calculs ainsi que les tests de significativité par permutation ont été réalisés avec le logiciel FSTAT.
- Une **analyse en composante principale** basée sur les fréquences alléliques dans la population a été réalisée en utilisant le logiciel XLSTAT.
- La **structure génétique** a été étudiée par une méthode dite de « clustering » avec le logiciel STRUCTURE v2.3.4 (Pritchard et al. 2000). Cette méthode regroupe les individus en différentes groupes génétiques homogènes (appelés clusters) sur la base de leur génotype sans connaître leur appartenance à l'échantillon d'origine. Deux analyses différentes ont été réalisées. La première en forçant le modèle à utiliser autant de clusters que de secteurs, soit 8 clusters, pour illustrer la répartition des génotypes individuels sur chaque secteur. Une deuxième analyse hiérarchique a permis ensuite d'évaluer le nombre le plus probable de clusters, entre 1 et 8, selon la procédure

décrite par Evanno et al. (2005) avec l'utilitaire STRUCTURE HARVESTER (Earl et vonHoldt, 2012).

- Les **distances génétiques (Dc)** de Cavalli-Sforza et Edwards (1967) calculées pour chaque pair d'échantillons ont été utilisées pour construire un dendrogramme (arbre phylogénique). Pour ce faire, les fréquences alléliques ont été calculées avec FSTAT et le package Phylip (Felsenstein, 2009) a été utilisé pour générer les Dc et les dendrogrammes. La robustesse des branches a été testée par bootstrap en réalisant 1000 répliqués. Le dendrogramme final a été visualisé avec TreeView (Page 1996).

3 RESULTATS

3.1 Caractéristiques et qualité des échantillons

Aucun allèle nul ou de phénomène de « dropout » n'a été détecté sur les échantillons.

Sur les 15 marqueurs analysés, un marqueur, le Str60, ne montre que 2 allèles et est monomorphe dans plusieurs populations. Il a été retiré du jeu de données car il n'apporte pas d'information pertinente pour l'étude du polymorphisme de la population. L'analyse des données a donc été réalisée à l'aide de 14 marqueurs polymorphes.

Sur les 728 tests de déséquilibre de liaison par paire de loci réalisés, 19 sont significatifs. Ce nombre est inférieur à celui attendu du fait du hasard (erreur de type 1) au risque de 5% (36 erreurs attendues). Ces résultats indiquent que les loci ne sont pas physiquement liés. Il est intéressant de noter que 17 des 19 déséquilibres de liaison observés se situent dans l'échantillon Méchet 6. Sur un jeu de 14 marqueurs, on peut s'attendre à obtenir au maximum 6 paires de loci en déséquilibre du fait du hasard. Ce résultat peut traduire la présence dans l'échantillon d'un mélange récent entre des individus issus de plusieurs populations.

Sur les 112 combinaisons de tests réalisées (8 échantillons, 14 marqueurs), 22 ne sont pas à l'équilibre Hardy-Weinberg (HW) avant correction de Bonferonni. Seuls 6 tests restent significatifs après correction, ce qui correspond au nombre attendu du fait du hasard (erreur de type 1) au risque de 5% (tableau 3). Les déséquilibres HW sont observés sur les échantillons Méchet 5, 6 et 7. L'échantillon Méchet 5 montre un important déficit d'hétérozygote au locus Str543. Sur l'échantillon Méchet 7, qui est isolé en tête du bassin, l'analyse avec COLONY a montré un taux important d'individus faisant partie de la même famille (16 paires d'individus de la même fratrie, tableau 3). Cette particularité explique le déséquilibre HW observé sur cet échantillon. En effet, en ne gardant dans l'échantillon qu'un seul individu par fratrie, le test HW n'est plus significatif. Le déséquilibre HW de l'échantillon Méchet 6 n'est pas uniquement induit par la présence de 9 paires d'individus de la même fratrie puisque le test en ne gardant qu'un seul individu par famille reste significatif au locus Str543 avec un excès d'hétérozygotes. Ce déséquilibre peut indiquer que l'échantillon est constitué d'individus appartenant à plus d'une population (effet Wahlund).

Seuls deux échantillons, Méchet 6 et 7, montrent un nombre relativement important de paires d'individus de la même fratrie (tableau 3). Ces deux secteurs sont situés sur des petits milieux apicaux. Ils abritent des populations isolées probablement constituées par un nombre

restreint d'individus comme le suggère les valeurs de N_e obtenues, 21 et 29 géniteurs efficaces pour Méchet 6 et 7, respectivement.

3.2 Diversité génétique des échantillons

Le nombre moyen d'allèles par locus varie de 4,4 à 7,9 et la richesse allélique varie de 4 à 6,4 (tableau 3). La diversité allélique la plus faible est observée sur le secteur Méchet 7. La diversité allélique la plus importante est observée sur le secteur Méchet 6. Les 5 autres secteurs situés en aval montrent une diversité allélique relativement semblable avec un nombre total d'allèles variant de 82 à 97, un nombre moyen d'allèles par locus entre 5,9 et 6,9 et une richesse allélique comprise entre 5,3 et 6,3 (tableau 3).

Code tronçon	Effectif échantillonné	Effectif génotypé	Paire d'ind. de la même fratrie	HWE	Ho	He	Nb total d'allèles	A	Ar	Fis	Ne (IC95%)
Méchet 1	22	22	0	0	0,672	0,674	88	6,3	6,3	0,003	273 (54-∞)
Méchet 2	50	50	0	0	0,653	0,657	97	6,9	5,7	0,005	158 (83-750)
Méchet 3	50	49	0	0	0,647	0,657	97	6,9	5,8	0,016	274 (114-∞)
Méchet 4	51	51	0	0	0,646	0,657	97	6,9	5,8	0,018	255 (104-∞)
Méchet 5	40	40	1	1	0,625	0,646	82	5,9	5,3	0,032	738 (121-∞)
Méchet 6	51	51	9	2	0,591	0,604	110	7,9	6,4	0,020	21 (17-26)
Méchet 7	50	50	16	3	0,538	0,491	61	4,4	4,0	-0,099	29 (21-41)
Argentolle 1	36	36	0	0	0,673	0,659	88	6,3	5,7	-0,022	99 (53-385)

Tableau 3 : synthèse des principales statistiques génétiques obtenues sur chaque échantillon sur la base des 14 microsatellites. HWE = nombre de tests significatifs en déséquilibre Hardy-Weinberg, Ho = hétérozygotie observée, He = hétérozygotie attendue, A = nombre moyen d'allèle par locus, Ar = richesse allélique, Fis = indice de fixation, Ne = taille efficace estimée de la population et son intervalle de confiance à 95%.

Le nombre de géniteurs estimés peut être considéré comme très important sur les 5 secteurs les plus en aval avec des valeurs comprises entre 99 et plus de 700. Par contre, pour les deux secteurs les plus apicaux, Méchet 6 et 7, les nombres de géniteurs estimés sont très faibles (figure 4).

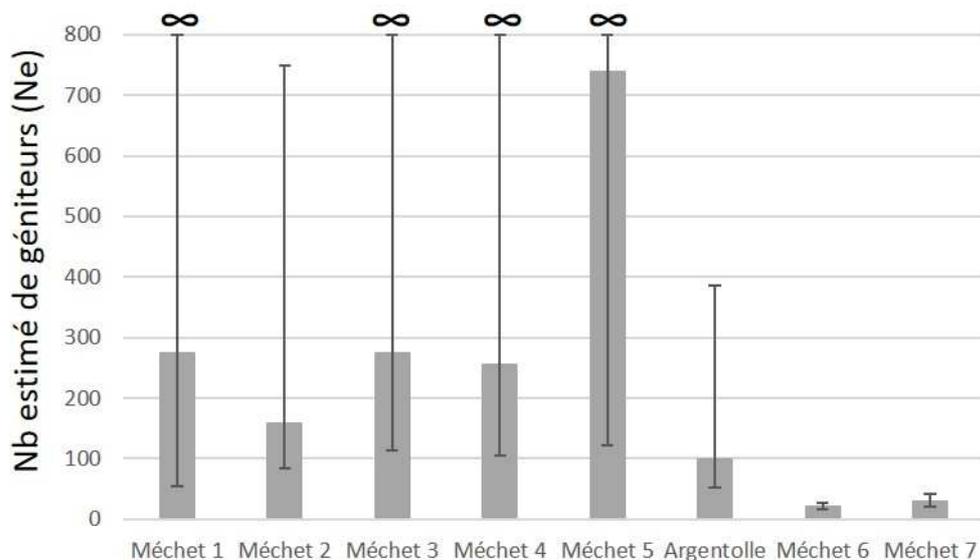


Figure 4 : Nombre de géniteurs estimés sur chaque secteur à l'aide du logiciel NeEstimator V2 (Do et al. 2014).

3.3 Différentiation et structure génétique entre les échantillons

Les valeurs de F_{st} montrent très clairement que les secteurs Méchet 6 et Méchet 7 se différencient entre eux et également de tous les autres secteurs. Une légère différenciation existe également entre les échantillons Méchet 2 et Argentolle (tableau 4).

	Argentolle 1	Méchet 1	Méchet 2	Méchet 3	Méchet 4	Méchet 5	Méchet 6
Méchet 1	0.0009	-					
Méchet 2	0.0087	-0.0034	-				
Méchet 3	0.0061	-0.0022	0.0004	-			
Méchet 4	0.0078	-0.0031	0.0019	0.0028	-		
Méchet 5	0.0005	-0.0054	0.0026	0.0023	0.0025	-	
Méchet 6	0.0475	0.0493	0.0588	0.0459	0.0556	0.0568	-
Méchet 7	0.1007	0.1066	0.1116	0.0992	0.1031	0.1113	0.0462

Tableau 4 : Présentation des indices de différenciation, F_{st} , par paire d'échantillons. Les valeurs significatives sont présentées en gras.

Cette différenciation est aussi illustrée par l'ACP des échantillons réalisée à partir des fréquences alléliques. Les secteurs Méchet 6 et 7 se distinguent des 6 autres au niveau des deux axes et se distinguent entre eux par l'axe 2 (représentant 20,5% de la variance totale). Les 6 autres secteurs forment un groupe compact (figure 5).

L'ACP en 3 dimensions présentant les 3 premiers axes montrent que le groupe des 6 secteurs s'éclate le long de l'axe 3 (représentant 11,5% de la variance totale) (figure 6). L'Argentolle et Méchet 2 qui montrent une différenciation par la F_{st} se distinguent sur ce 3^{ème} axe.

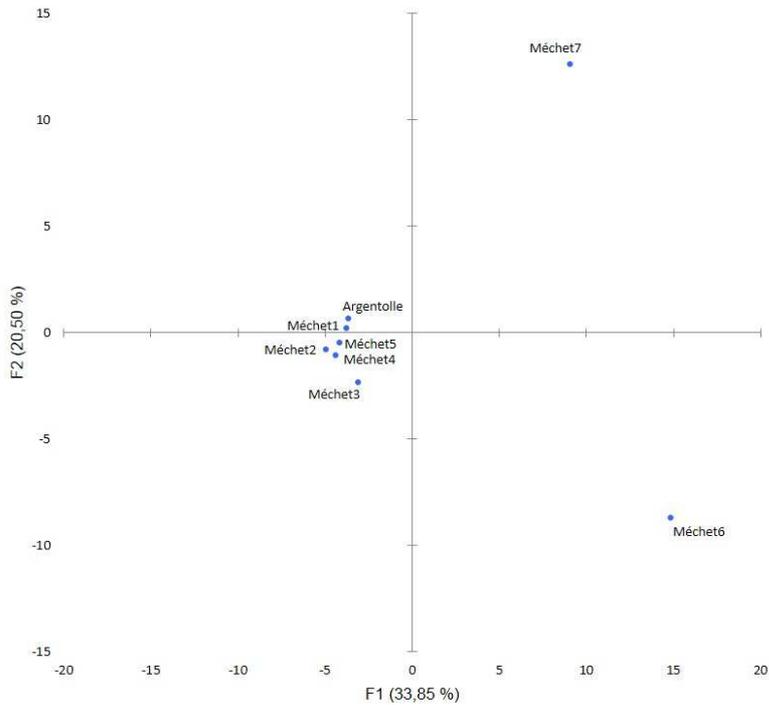


Figure 5 : Analyse en composante principale 2D obtenue à partir des fréquences alléliques des 8 secteurs étudiés.

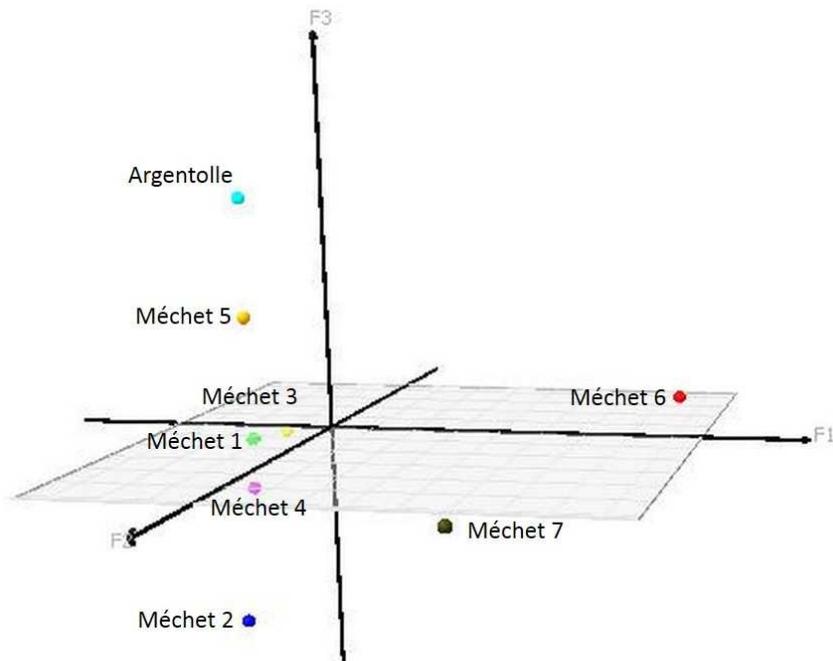


Figure 6 : Analyse en composante principale 3D illustrant les axes F1, F2 et F3 obtenue à partir des fréquences alléliques des 8 secteurs étudiés.

Afin d'étudier une éventuelle sous-différentiation au sein du groupe des 6 secteurs, une ACP a été réalisée après avoir retiré les secteurs Méchet 6 et 7 (figure 7). L'ACP représentant les axes F1 et F2 permet de distinguer de nouveau les secteurs Argentolle et Méchet 2 au niveau de l'axe 1 (expliquant 25,46% de la variance totale). Le secteur Méchet 3 se distingue des autres au niveau de l'axe 2 (22,77% de la variance totale). L'ACP représentant les axes F1 et F3, montre une distinction du secteur Méchet 3 sur l'axe 3 (figure 7).

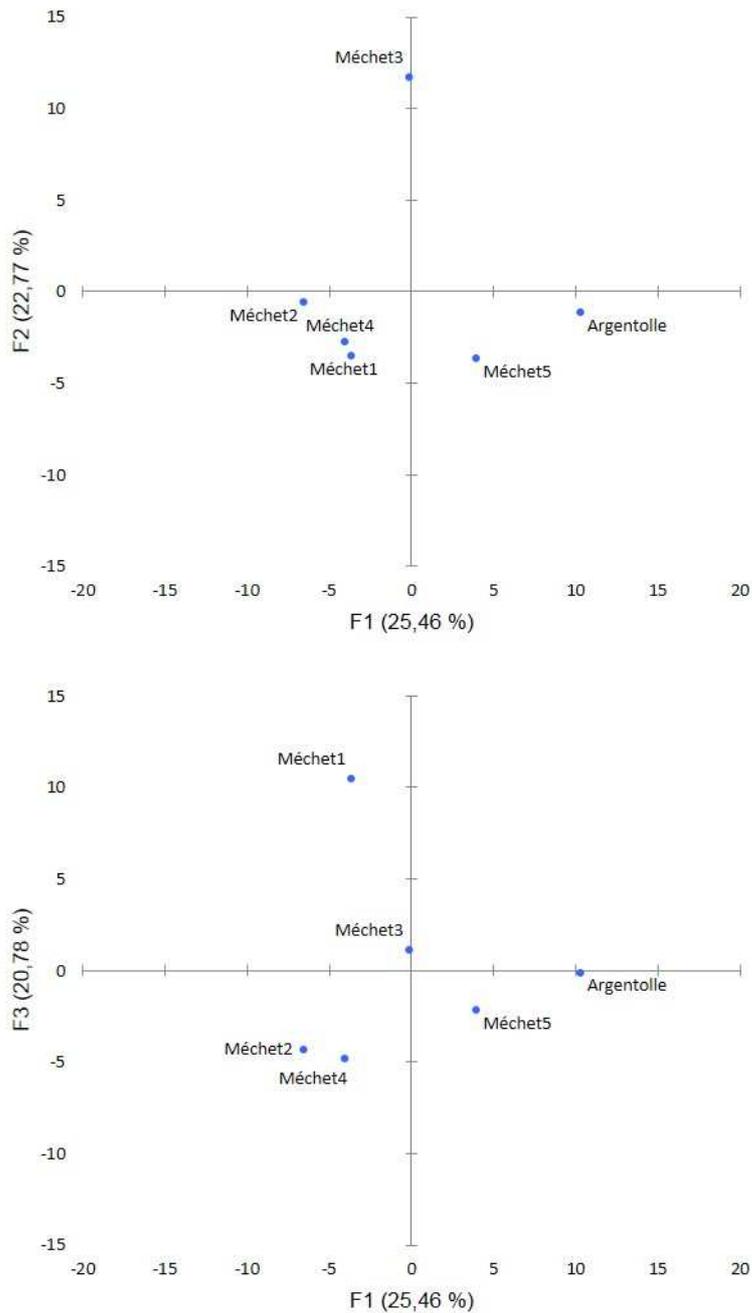


Figure 7 : Analyses en composantes principales 2D (F1XF2 en haut, F1XF3 en bas) obtenue à partir des fréquences alléliques des 6 secteurs après retrait des secteurs Méchet 6 et 7.

L'illustration des génotypes individuels obtenue grâce au logiciel STRUCTURE montre une répartition homogène des génotypes au sein des 6 stations les plus en aval à savoir Méchet 1 à 5 et l'affluent Argentolle. Cette répartition des génotypes change brutalement à partir du secteur Méchet 6. Les individus du secteur Méchet 7 montre un génotype très homogène propre à ce secteur. (Figure 8).

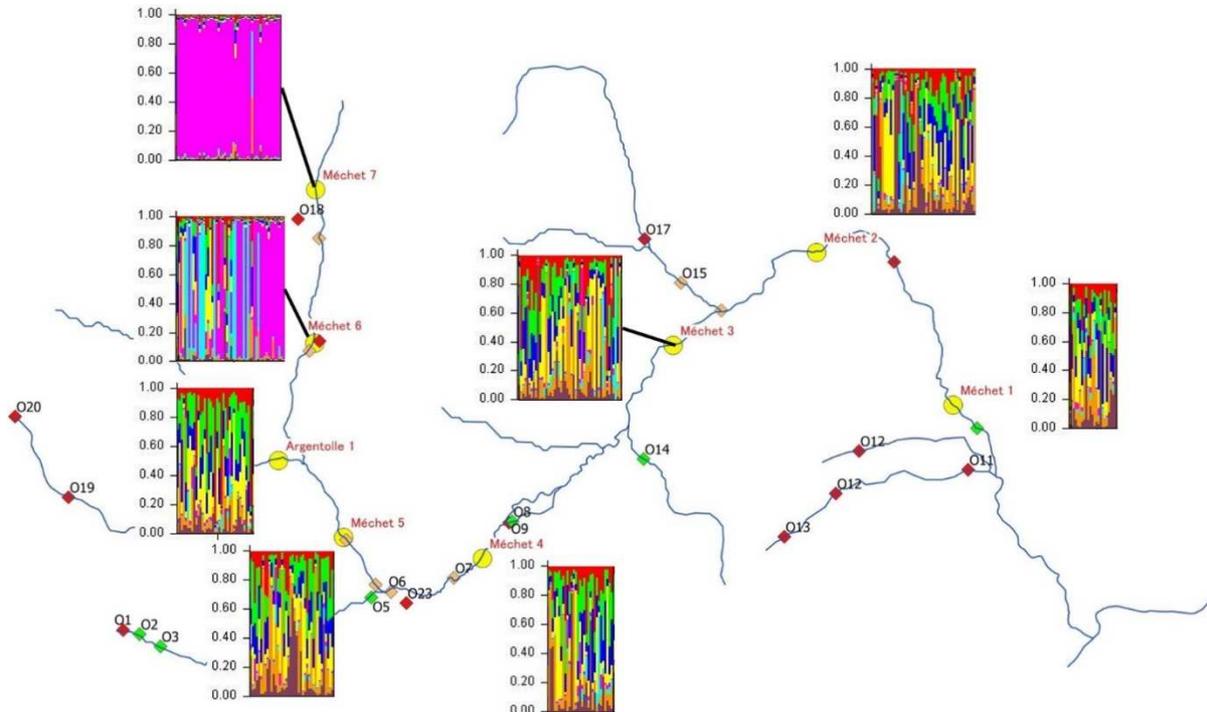


Figure 8 : Répartition sur chaque secteur des génotypes obtenus par le logiciel STRUCTURE pour $K=8$ clusters. Au sein de chaque échantillon, chaque individu est représenté par une barre verticale colorée. Chaque couleur représente un cluster différent. Les barres verticales colorées représentent les probabilités de chaque individu d'être membre des clusters.

La structuration génétique la plus probable proposée par le logiciel STRUCTURE est composée de seulement deux clusters. Cette structuration montre une cohérence géographique (figure 9). La majorité des individus des 6 secteurs aval sont assignés au sein d'un même cluster. La totalité des individus du secteur Méchet 7, qui est isolé en amont, se regroupent dans un autre cluster. En position intermédiaire, le secteur Méchet 6 est composé d'individus assignés aux deux clusters. Ce résultat est tout à fait cohérent avec les forts déséquilibres HW et de liaison obtenus sur ce secteur.

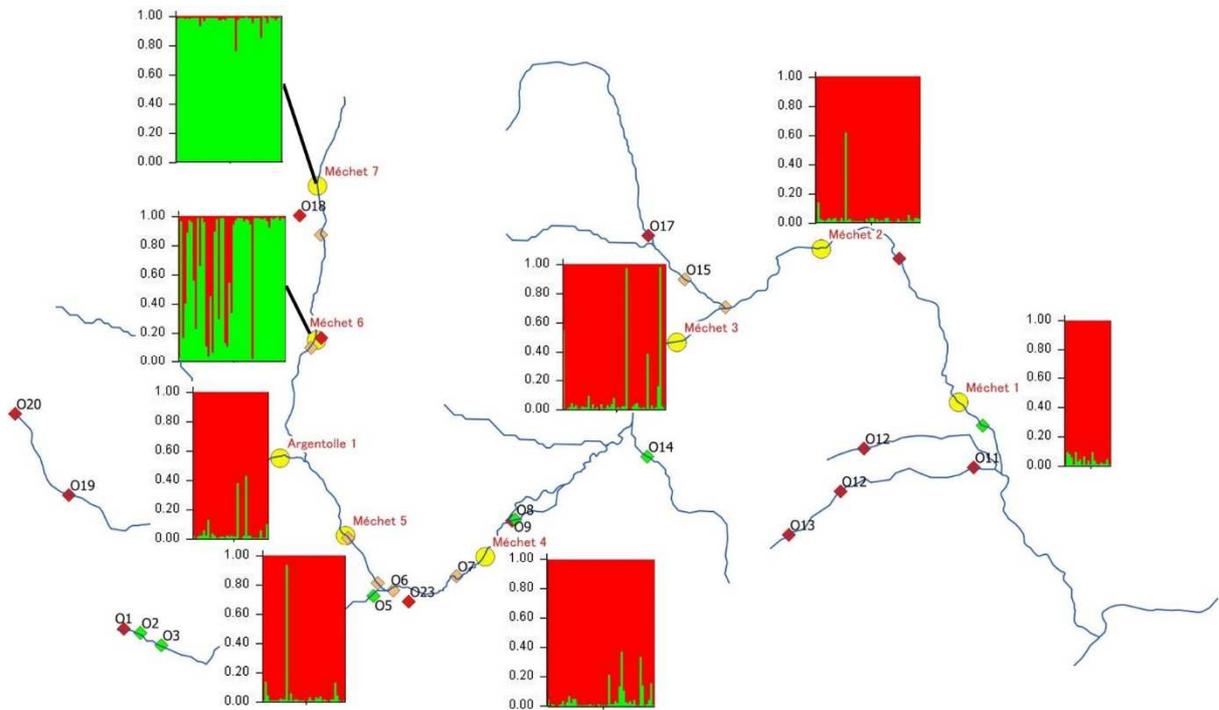


Figure 9 : Répartition sur chaque secteurs des 2 groupes génétiques obtenus par « clustering » avec le logiciel STRUCTURE. Au sein de chaque échantillon, chaque individu est représenté par une barre verticale colorée. Chaque couleur représente un cluster différent. les barres verticales colorées représentent les probabilités de chaque individu d'être membre des clusters.

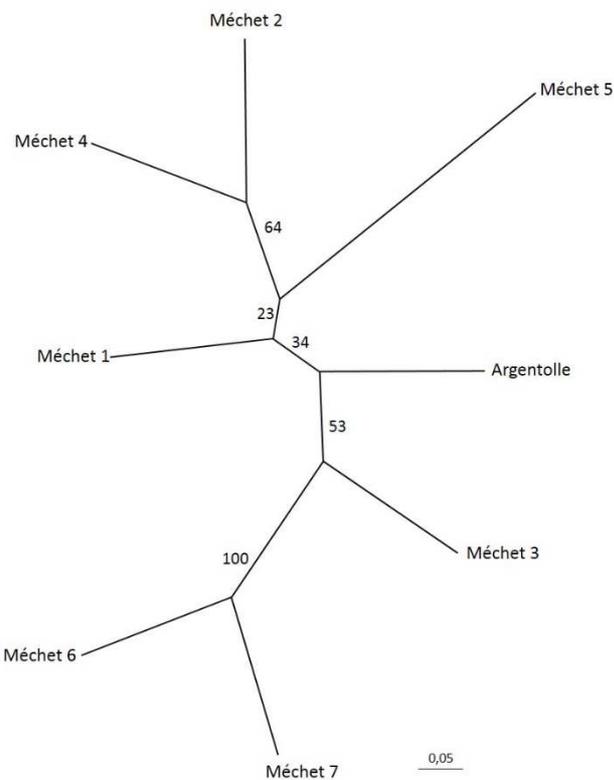


Figure 10 : Arbre (neighbor-joining) obtenu à partir des distances génétiques (D_c). La longueur des branches est proportionnelle à la distance génétique. Les valeurs à côté des branches indiquent la robustesse (en pourcentage) des regroupements observés.

L'arbre phylogénétique est cohérent avec l'ensemble des résultats déjà obtenu. Il sépare clairement les deux secteurs amont Méchet 6 et Méchet 7 des 6 autres secteurs situés en aval avec une très forte robustesse. Les secteurs Méchet 2 et 4 montrent une certaine proximité.

4 INTERPRETATION

L'étude du polymorphisme de la population de truites du cours principal du Méchet montre clairement une structuration génétique entre les secteurs échantillonnés à l'amont et à l'aval de la chute d'eau naturelle. On observe une absence totale de flux génique de l'aval vers l'amont traduisant un obstacle à la circulation piscicole. Ainsi, le secteur Méchet 7, situé en amont, abrite une population de truites isolée qui est génétiquement différenciée de la population située en aval. Ce phénomène d'isolement se traduit au niveau de sa faible diversité allélique et d'un nombre de géniteurs estimés faible.



Photographie 5 :Truite capturée sur les portions apicales du Méchet (Station Méchet 7)

Les résultats obtenus sur les secteurs Méchet 1 à 5 et sur l'Argentolle aval ne montrent pas de structuration génétique due à la présence des ouvrages. La diversité allélique est semblable sur l'ensemble des échantillons et les F_{st} ne sont pas élevées entre les échantillons. Ces résultats suggèrent l'existence d'un flux de gènes conséquent entre les secteurs. Les deux principaux ouvrages présents, le seuil de l'étang Bouton et la prise d'eau du Piéjus, ne semblent donc pas constituer des obstacles majeurs à la migration des truites du Méchet.

Néanmoins des ouvrages comme le Seuil de la Microcentrale du Piéjus peuvent être contraignant pour le développement de la truite commune car ils ne sont pas franchissables en tout temps. Lors d'épisodes critiques (fort étiage, canicule, pollution) ils peuvent s'avérer infranchissables et empêcher les truites d'atteindre des zones qui leur soient plus favorables. De même, toutes les espèces piscicoles présentes sur le Méchet n'ont pas les capacités de franchissement de la truite. Il est donc plus que probable que certains obstacles du Méchet soient très peu franchissables pour de petites espèces (chabot, lamproie de planer...).



Photographie 6 :Truite capturée sur les portions intermédiaires du Méchet (Station Méchet 3)

Enfin, le secteur Méchet 6 se trouve en position intermédiaire entre la population aval et le secteur Méchet 7. L'échantillon analysé montre des individus provenant des deux populations. Ceci explique notamment le déséquilibre HW et de liaison observé et le fait que ce secteur montre la plus grande diversité allélique. Le secteur échantillonné étant localisé en aval immédiat de la chute d'eau naturelle, les résultats indiquent que des individus dévalent et franchissent cette chute.

Références

- Chambert, C. (1993). Schéma Départemental de Vocation Piscicole et Halieutique de Saône-et-Loire.
- Do, C., Waples, R. S., Peel, D., Macbeth, G. M., Tillett, B. J., & Ovenden, J. R. (2014). NeEstimator v2: re-implementation of software for the estimation of contemporary effective population size (N_e) from genetic data. *Molecular Ecology Resources*, 14(1), 209-214.
- Earl, D. A. (2012). BM vonHoldt. *STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method*, *Conserv. Genet. Resour*, 4(2), 359-361.
- Evanno, G., Regnaut, S., & Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular ecology*, 14(8), 2611-2620.
- Excoffier, L., & Lischer, H. E. (2010). Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular ecology resources*, 10(3), 564-567.
- Felsenstein, J. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.69. 2009. Distributed by the author. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle.
- Goudet, J. (1995). FSTAT (version 1.2): a computer program to calculate F-statistics. *Journal of heredity*, 86(6), 485-486.

- Hansen, M. M., Nielsen, E. E., & Mensberg, K. L. (1997). The problem of sampling families rather than populations: relatedness among individuals in samples of juvenile brown trout *Salmo trutta* L. *Molecular Ecology*, 6(5), 469-474.
- Jones, O. R., & Wang, J. (2010). COLONY: a program for parentage and sibship inference from multilocus genotype data. *Molecular ecology resources*, 10(3), 551-555.
- Maupoux, J. (2009) Schéma Départemental de Vocation Piscicole du Département de Saône-et-Loire.
- Page, R. D. M. (1996). TREEVIEW, tree drawing software for Apple Macintosh and Microsoft Windows. *Division of Environmental and Evolutionary Biology, Institute of Biomedical and Life Sciences, University of Glasgow. Glasgow, Scotland, UK.*
- Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945-959.
- Rousset, F. (2008). genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Molecular ecology resources*, 8(1), 103-106.
- Van Oosterhout, C., Hutchinson, W. F., Wills, D. P., & Shipley, P. (2004). MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4(3), 535-538.
- Wang, J. (2004). Sibship reconstruction from genetic data with typing errors. *Genetics*, 166(4), 1963-1979.
- Wright, S. (1969). *Evolution and the Genetics of Populations. VOL 2. The Theory of Gene Frequencies.* University of Chicago Press, Chicago