

**L'ÉTUDE PAR SÉQUENÇAGE RADSEQ DE LA POPULATION DE
BROCHET DE L'ARROUX AMONT INFORME SUR LE NIVEAU DE
VIABILITÉ DE LA POPULATION, LES MOUVEMENTS DES POISSONS ET
LA CONNECTIVITÉ DES HABITATS**



Pour citer ce document :

Caudron A., Maupoux J. 2025. L'étude par séquençage RADseq de la population de brochet de l'Arroux amont informe sur le niveau de viabilité de la population, les mouvements des poissons et la connectivité des habitats. Rapport SCIMABIO Interface-FDPPMA 71, 32 pages.

Photos de couverture : copyright FDAAPPMA 71.

SOMMAIRE

Résumé.....	1
Contexte de l'étude.....	2
1 Matériel et méthodes.....	3
1.1 Echantillonnage des populations.....	3
1.2 Analyses génétiques.....	7
1.2.1 Séquençage nouvelle génération et méthode ddRADseq.....	7
1.2.2 Extraction d'ADN et préparation des librairies	7
1.2.3 Séquençage et procédure de filtrage des SNPs.....	8
1.3 Traitements statistiques.....	9
1.3.1 Diversité génétique des échantillons	9
1.3.2 Géniteurs efficaces (Nb) et taille efficace de la population (Ne)	10
1.3.3 Différentiation et structure génétique entre les échantillons	11
2 Résultats.....	13
2.1 Diversité génétique au sein des échantillons.....	13
2.2 Nombre de géniteurs efficaces et liens de fraternité entre les juvéniles	14
2.3 Taille efficace (Ne) et liens de fraternité dans la population en place	19
2.4 Différenciation et structuration génétique au sein du secteur étudié	21
3 Synthèse.....	27
3.1 Un risque important de dérive génétique à court et long terme.....	27
3.2 Une mobilité évidente des individus au sein de la zone d'étude et au-delà.....	28
3.3 Applications pour la gestion et propositions	29
3.3.1 Caractériser l'échelle de fonctionnement de la population sur l'ensemble de l'Arroux	29
3.3.2 Connaître la fonctionnalité relative des frayères à l'échelle de l'Arroux	29
3.3.3 Restaurer des zones de reproduction efficaces	30
4 Références.....	31

Liste des Figures

Figure 1 : Localisation générale du bassin de l'Arroux et du linéaire étudié.	5
Figure 2 : Localisation des trois tronçons de rivière et des zones humides étudiés sur l'Arroux.	6
Figure 3 : Nombre de géniteurs efficaces (Nb) obtenu à partir des échantillons de 0+ selon les deux méthodes (fratrie et Déséquilibre de liaison = LD) (+ Intervalle de confiance à 95%).	15
Figure 4 : Reconstruction des relations familiales (pedigree) entre 0+ échantillonnés et les parents possibles déduits par COLONY pour la frayère PréAbre en 2022 et 2023.	17
Figure 5 : Reconstruction des relations familiales (pedigree) entre 0+ échantillonnés et les parents possibles déduits par COLONY pour la frayère Chambon en 2022 et 2023.	18
Figure 6 : Taille efficaces (Ne) obtenue à partir des échantillons de la population en place selon les deux méthodes (fratrie et déséquilibre de liaison = LD) (+ Intervalle de confiance à 95%).....	20
Figure 7 : Matrice montrant les relations de fratrie (au-dessus de la diagonale) et de demi-fratrie (en dessous de la diagonale) entre les individus échantillonnés dans la population en place au niveau des 3 tronçons étudiés.	21
Figure 8 : Analyse des composantes principales (ACP) (graphique A) et Analyse Discriminante des Composantes Principales (DAPC) (graphique B) obtenues avec les individus échantillonnés dans la population en place.	24
Figure 9 : Résultat de la structuration en 3 clusters génétiques obtenues par DAPC et Structure au sein des échantillons de la population en place. Chaque cluster est représenté par une couleur (vert, rouge, bleu). A= DAPC distinguant les individus en fonction de leur appartenance aux clusters, B= répartition des clusters au sein des échantillons obtenue par Structure présentant la probabilité qu'à chaque individu d'appartenir aux clusters identifiés, C= répartition des individus de chaque origine géographique au sein des 3 clusters identifiés obtenue par DAPC.	26

Liste des tableaux

Tableau 1 : Caractéristique des échantillonnages de la population en place de sub-adultes et d'adultes réalisés en 2022 et 2023 sur l'Arroux.	4
Tableau 2 : Caractéristique des échantillonnages de juvéniles 0+ dans les frayères réalisés en 2022 et 2023 sur l'Arroux.	4
Tableau 3 : Statistiques descriptives des échantillons (Ho=Hétérozygotie observée, Hs=Hétérozygotie attendue, Ar=Richesse allélique, Fis=indice de fixation)	13
Tableau 4 : Statistiques des analyses de pedigree calculées sur les juvéniles 0+ échantillonnés dans les frayères.	16
Tableau 5 : Valeurs de Fst par paires (Weir et Cockerham, 1984) sur 7 échantillons (l'échantillon Orme ne contenant que 2 individus a été retiré). En gras les valeurs qui diffèrent significativement de 0 au seuil de 0,05.	22

RESUME

L'étude menée en 2022 et 2023 par la FDPPMA 71 analyse la population de brochets sur 23 km de l'Arroux en amont entre Etang-sur-Arroux et Dracy-saint-Loup. L'étude a combiné inventaires démographiques, caractérisation des frayères et des analyses génétiques dont les résultats font l'objet du présent rapport.

Au total, 426 individus (adultes et juvéniles 0+) ont été échantillonnés et analysés à l'aide de 9234 marqueurs génétiques SNP obtenus par ddRADseq.

Les résultats montrent une **diversité génétique globalement faible à modérée**, avec un **risque élevé de dérive génétique** à court et long terme. Le nombre de géniteurs efficaces (N_b) est très faible sur certaines frayères, notamment Pré l'Abre ($N_b \approx 5$ à 8), tandis que la frayère de Chambon semble plus fonctionnelle ($N_b \approx 21-22$). La taille efficace de la population (N_e) reste faible sur l'ensemble du linéaire étudié, indiquant un potentiel évolutif limité. L'étude met en évidence une **forte mobilité des brochets**, avec des flux de gènes importants qui traduisent des mouvements d'individus sur au moins 23 km et au-delà.

La frayère Chambon connectées en permanence à la rivière semble plus efficace et bénéfique en termes de transmission de la diversité génétique que la frayère PréAbre qui est zone humide temporaires. Les résultats soulignent l'importance de la continuité écologique et de l'efficacité de la reproduction dans les frayères pour assurer la viabilité à long terme de la population. Il est proposé un changement d'échelle spatiale dans les futures études génétiques sur l'Arroux pour intégrer la totalité du bassin versant afin de mieux prendre en compte l'échelle de fonctionnalité de cette population.

CONTEXTE DE L'ETUDE

Une étude de la population de brochet sur un secteur d'environ 23 km de la rivière Arroux a été conduite en 2022 et 2023 par la FDPPMA 71. L'étude comprenait :

- un inventaire démographique de la population couplée à une analyse scalimétrique pour évaluer l'âge des individus capturés ;
- un inventaire exhaustif des zones humides et la caractérisation de leur potentiel vis-à-vis de la reproduction basée sur la qualité du substrat végétal, l'accessibilité et les contraintes hydrauliques ;
- et enfin l'évaluation d'une reproduction effective sur ces mêmes zones humides par recherche de juvéniles de l'année.

En complément de ces informations, la FDPPMA 71 a souhaité ajouter au diagnostic un volet génétique afin d'intégrer des nouvelles connaissances sur la viabilité de la population, le nombre de reproducteur efficace, la mobilité des individus et les flux de gènes qui renseignent sur les mouvements et l'échelle de fonctionnement de la population.

La mise en place d'une gestion dite patrimoniale des populations naturelles incite de plus en plus les gestionnaires de la pêche à intégrer des nouveaux indicateurs liés à la diversité génétique car celle-ci a un effet direct sur la viabilité, la résilience et le potentiel adaptatif des populations. Les résultats ont des applications directes avec des propositions de gestion et de restauration des habitats qui vont chercher à maximiser la diversité génétique des populations pour assurer leur potentiel de survie à long terme.

Ce rapport détaille le volet génétique de l'étude. Il est complémentaire au rapport déjà édité par la FDPPMA 71 en 2023 (Maupoux 2023).

1 MATERIEL ET METHODES

1.1 ECHANTILLONNAGE DES POPULATIONS

L'étude de la population de brochet s'est localisée sur l'amont de la rivière Arroux entre Dracy-Saint-Loup en amont et Etang-sur-Arroux en aval représentant un linéaire d'environ 23km (Figure 1).

Sur ce secteur, plusieurs modalités d'échantillonnage ont été mises en place en 2022 et 2023 afin de collecter des échantillons à la fois dans la population en place (individus > 1 an = sub-adultes et adultes) présente dans la rivière et dans les populations de juvéniles de l'année (0+) présentes dans les frayères. L'ensemble des opérations de captures et de prélèvements des échantillons a été organisé par le service technique de la FDPPMA71.

Deux techniques de capture ont été utilisées **pour échantillonner les individus sub-adultes et adultes** représentatifs de la population en place dans la rivière (Tableau 1) :

- La capture par pêche électrique sur 3 tronçons de rivière répartis sur le linéaire d'étude : un situé en amont (Arroux 1), le deuxième en position médiane (Arroux 2) et enfin le dernier en aval (Arroux 3) (Figure 2). La longueur des tronçons est relativement importante avec 2000 m pour Arroux 1 et 2800 m pour Arroux 2 et Arroux 3. La prospection a consisté en une pêche en continu à pied ou en bateau avec une ou deux anodes selon la configuration rencontrée. Le matériel utilisé est un appareil de pêche à l'électricité HERON® de marque DREAM électronique.
- La capture par engins (nasse, verveux) placés au niveau du chenal d'entrée de 3 zones humides favorables à la reproduction à savoir de l'amont vers l'aval : Pré l'Abre (ZH n°2), l'Orme (ZH n°7), les Chaintrés (ZH n°12) (Figure 2). Les engins ont été placés du 15 février au 30 avril 2022 et du 11 janvier au 30 avril 2023 et ont été relevés tous les jours ou tous les deux jours. A noter que la zone de Pré l'Abre se situe sur le tronçon Arroux 1 et que la zone des Chaintrés est associée au tronçon Arroux 3. La zone de l'Orme est localisée sur la rivière à environ 1km en aval du tronçon Arroux 1 (Figure 2).

Localisation	Méthode	2022		2023		Effectif total
		Date	Effectif	Date	Effectif	
Arroux 1	Pêche électrique	05/07/2022	2	10/10/2023	53	56
Pré Abre	Engins	15/02 au 30/04	0	11/01 au 30/04	1	
Orme	Engins	15/02 au 30/04	0	11/01 au 30/04	2	
Arroux 2	Pêche électrique	12/10/2022	4	12/10/2023	30	45
Champ Bon	Pêche électrique		11	11/01 au 30/04	0	
Arroux 3	Pêche électrique	14/10/2022	1	11/10/2023	8	11
Les Chaintrés	Engins	15/02 au 30/04	1	11/01 au 30/04	1	

Tableau 1 : Caractéristique des échantillonnages de la population en place de sub-adultes et d'adultes réalisés en 2022 et 2023 sur l'Arroux.

L'échantillonnage des juvéniles 0+ dans les zones humides a été réalisé par pêche électrique soit par prospection complète de la totalité de la zone humide soit par prospection par point, un point représentant environ 7 m² (Tableau 1). Selon la difficulté d'accès et l'étendue de la zone, il a été utilisé un matériel de pêche fixe (Héron de la marque Dream Electronique) ou portatif (FEG 1500 de la marque EFCO). Au total, les 12 zones humides potentiellement favorables à la reproduction du brochet ont été étudiées. En 2022, 5 zones humides ont été visitées (ZH n° 1, 2, 7, 8, 12), dont deux étaient à sec en avril/mai (ZH n°1, 7) et une (ZH n°12) sur laquelle aucun 0+ n'a été capturé. En 2023, les 12 zones humides du secteur d'études ont été visitées mais deux étaient à sec en avril/mai (ZH n°1, 7) et aucun 0+ n'a été capturé sur 8 zones humides. Au final, des juvéniles 0+ ont été capturés uniquement sur deux frayères en 2022 et 2023, à savoir Pré l'Abre (ZH n°2) et Champ Bon (ZH n° 8) (Figure 2, Tableau 2).

N° ZH	Nom	Prospection	2022			2023		
			Date	Surface (m ²)	Effectif	Date	Surface (m ²)	Effectif
1	Surmoulin	X	asséchée			asséchée		
2	Pré l'Abre	Complète	16-18 mai	825	50	24-25 mai	1640	119
3	Chambord Est	Complète	-	-	-	17-mai	450	0
4	Chambord Ouest	Points	-	-	-	23-mai	280	0
5	Etang de Noël	Points	-	-	-	23-mai	280	0
6	Bras mort Cressy	Points	-	-	-	25-mai	280	0
7	L'Orme	X	asséchée			asséchée		
8	Bras mort Chambon	Complète	18-mai	1120	102	23-mai	1250	52
9	Bras mort des Prés	Points	-	-	-	25-mai	280	0
10	Bras mort du Guillaury	Points	-	-	-	25-mai	280	0
11	Bras mort du Clouzeau	Points	-	-	-	24-mai	280	0
12	Les Chaintrés	Complète/Points	17-mai	2250	0	24-mai	280	0

Tableau 2 : Caractéristique des échantillonnages de juvéniles 0+ dans les frayères réalisés en 2022 et 2023 sur l'Arroux.

Chaque individu échantillonné a été mesuré (longueur totale), puis un morceau de nageoire anale a été prélevé et stocké individuellement dans un tube Eppendorf contenant de l'éthanol 96°. Ainsi au total, 426 individus différents ont été échantillonnés dont 114 dans la population en place et 312 juvéniles 0+ dans les frayères.



Figure 1 : Localisation générale du bassin de l'Arroux et du linéaire étudié.

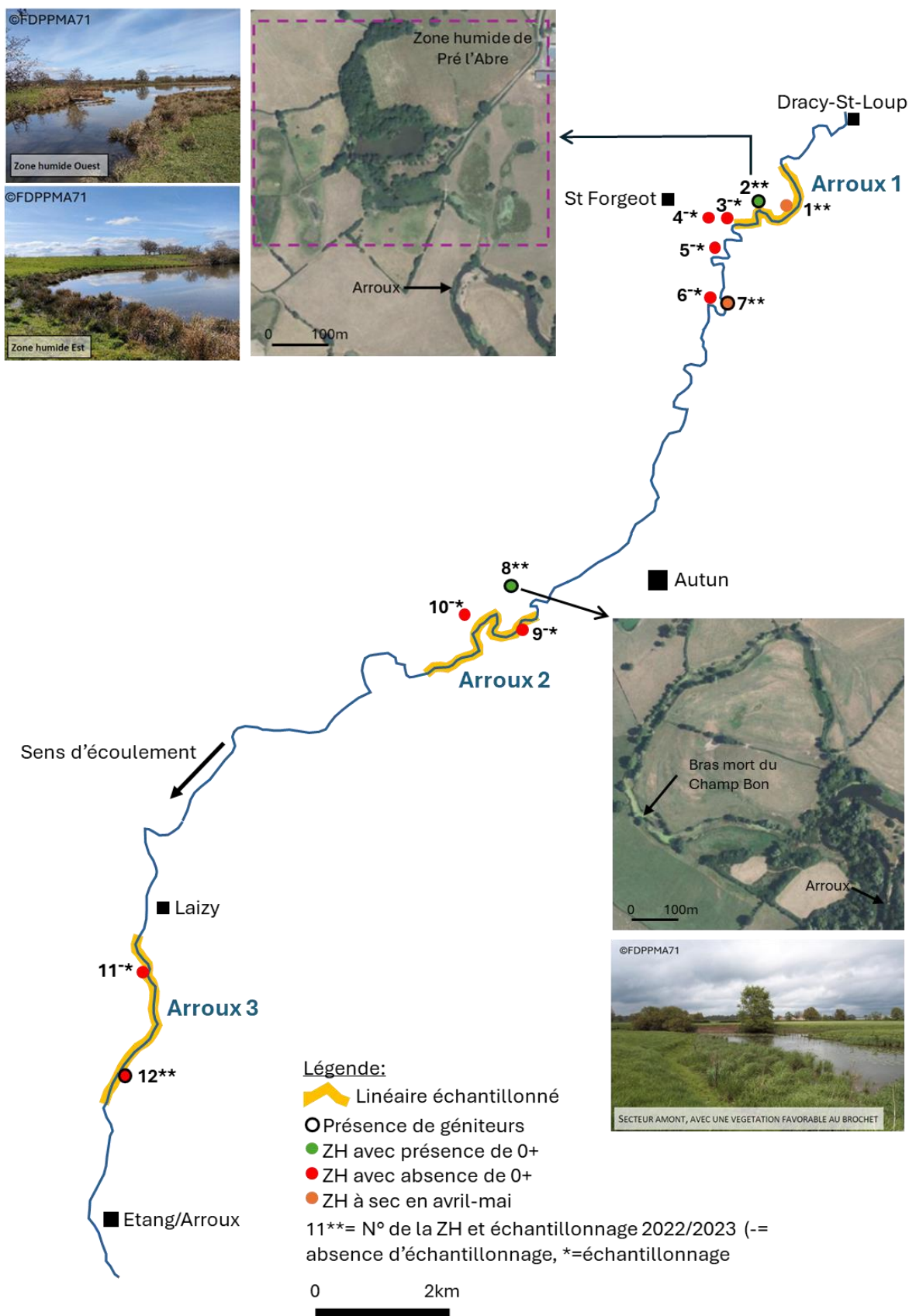


Figure 2 : Localisation des trois tronçons de rivière et des zones humides étudiés sur l'Arroux.

1.2 ANALYSES GENETIQUES

1.2.1 Séquençage nouvelle génération et méthode ddRADseq

Le génome d'un individu qui regroupe toute son information génétique correspond à l'ensemble de l'ADN (Acide DésoxyriboNucléique) contenu dans ses cellules. Schématiquement, l'ADN peut être définie comme une longue molécule en forme de double hélice (échelle en colimaçon) constituée par l'association de deux bases azotées : l'Adénine (A) s'associe avec la Thymine (T) et la Cytosine (C) s'associe avec la Guanine (G). Les séquences d'ADN correspondent à un assemblage de ces quatre « lettres » (ATCG) dont l'ordre peut varier d'un individu à l'autre. Ce sont ces variations au sein du génome qui sont recherchées pour décrire les différences génétiques entre individus et entre populations. Au cours de ces 15 dernières années, l'essor des nouvelles technologies de séquençage du génome (appelées Next Generation Sequencing ou NGS) a permis le développement de nouvelles méthodes de génotypage à haut débit capable de générer un grand nombre de marqueurs moléculaires dits SNP (Single Nucleotide Polymorphism). Un SNP correspond à un changement d'une seule base (par exemple A à la place de T ou C à la place de G) à une position donnée dans la séquence d'ADN provoquant ainsi une variation génétique identifiable entre individus. Cette variation génétique au niveau individuel peut être plus ou moins fréquente dans les populations et c'est cette fréquence différente qui renseigne sur la divergence génétique entre populations. En résumé, les études génétiques cherchent donc à quantifier à quelle fréquence ces changements de lettre interviennent sur une même position d'ADN (appelé marqueur) en utilisant plusieurs centaines ou milliers de marqueurs.

La présente étude a utilisé la méthode ddRADseq (double digest Restriction-site Associated DNA sequences) qui consiste à séquençer une fraction ciblée du génome, la même chez tous les individus. Cette même séquence est ensuite comparée entre tous les individus pour repérer les changements de bases (lettres) afin de sélectionner des marqueurs SNPs qui seront informatifs pour étudier les différences entre individus et entre populations.

1.2.2 Extraction d'ADN et préparation des librairies

Environ 20 mg de tissu de nageoire ont été utilisés pour extraire l'ADN. L'échantillon a d'abord été digéré pendant 16 h avec de la protéinase K, dans un incubateur à 56 °C avec une agitation à 1000 tr/min afin de libérer l'ADN. L'ADN libéré a ensuite été isolé par capture sur billes magnétiques (MagnifiQ, A&A Biotechnology), conformément aux instructions du fabricant, sur un robot d'extraction (Autopure96, Eurofins). Les extraits d'ADN ont été élués dans 60 µL de Tris-HCl 10 mM, pH 8.

L'ADN isolé et purifié ainsi obtenu a été quantifié à partir d'un aliquot de 2 µL par fluorométrie à l'aide du fluorochrome Qubit (kit Qubit dsDNA broad range, Invitrogen) sur un lecteur de plaques (VarioSkan Lux, Thermofisher Scientific). Un autre aliquot de 2 µL a été utilisé pour mesurer la qualité des isolats d'ADN (pureté) par absorbance spectrale. Ensuite, tous les extraits ont été

normalisés à 15 ng/μL pour les étapes suivantes afin que tous les échantillons aient la même concentration.

Les librairies de séquençage RAD à double digestion (ddRADseq) ont été préparées selon une version modifiée du protocole original de Peterson et al. (2012) qui consiste à découper l'ADN en fragments avec deux enzymes de restriction (EcoR1 et Msp1, New England Biolabs), puis à fixer à chaque fragment avec la ligase T4 (New England Biolabs) des adaptateurs porteur de codes-barres qui permettent d'identifier chaque individu.

Les fragments d'ADN ont ensuite été purifiés avec des billes magnétiques et amplifiés par PCR pendant 16 cycles puis regroupés. 5 librairies distinctes ont été créées. Après une dernière amplification et purification de l'ADN, la qualité et la quantité de chaque bibliothèque ont été contrôlées. Les cinq bibliothèques ont ensuite été mélangées en proportions équivalentes dans un seul "pool". Une étape finale de sélection a permis de ne garder que les fragments d'ADN d'une taille comprise entre 400 et 550 paires de bases, avant une vérification finale de la qualité de la librairie obtenue.

1.2.3 Séquençage et procédure de filtrage des SNPs

L'ADN a été analysé avec un séquenceur Aviti (Element Biosciences) à l'Université de Lausanne. Le séquençage a été fait en lecture paire (paired-end), c'est-à-dire en lisant chaque fragment d'ADN par ses deux extrémités, sur des fragments de 150 bases. 406 millions de lectures ont été produites, représentant une quantité d'information suffisante.

Les lectures ont ensuite été classées selon leurs codes-barres (pour distinguer les échantillons) en utilisant la fonction *process radtags* sous *stacks* v2.58 et alignées sur le génome de référence du brochet (numéro d'accèsion GCF_011004845.1).

Ensuite, un catalogue de SNPs a été généré avec *gstacks* 2.64. Seuls les marqueurs SNPs présents chez au moins 80 % des individus ont été conservés afin de réduire les risques d'erreurs de séquençage et les données manquantes.

Dans un premier temps, un fichier brut (VCF) contenant tous les SNPs non filtré a été produit, afin d'étudier la relation entre la profondeur de séquençage (nombre de fois où une région a été lue) et l'hétérozygotie (degré de diversité génétique d'un individu). Cela a permis de fixer à 8X et 30X les seuils minimal et maximal de qualité à appliquer pour réduire les erreurs de séquençage : ainsi pour être conservé un SNP doit être lue au moins 8 fois, mais pas plus de 30 fois.

Les SNPs du fichier brut (VCF) ont ensuite été filtrés plus finement avec les outils bioinformatiques *populations* (*stacks* v2.64) et *vcftools* (v0.1.16) pour :

- garder uniquement les SNPs dans la gamme de lecture choisie (8 à 30 lectures) ;

- éliminer les SNPs présentant trop d'hétérozygotie (seuil fixé à 0,6) pour améliorer la qualité et la robustesse du jeu de données ;
- conserver uniquement les SNPs où l'allèle le plus rare apparaît dans au moins 5 % des individus (seuil min maf 0.05) ;
- ne conserver qu'un SNP par locus pour éviter les marqueurs liés donnant des informations redondantes ;
- sélectionner les SNPs qui respectent l'équilibre Hardy-Weinberg (fonction hwe 0.05) afin de privilégier les marqueurs génétiques neutres (non codant).

Après application des filtres, 9234 SNPs ont été conservés pour la suite des analyses.

Sur les 426 individus analysés, 13 individus ont été écartés car ils présentaient un nombre de données manquantes supérieures à 50% sur les 9234 SNPs sélectionnés. L'absence d'information sur un grand nombre de SNPs s'expliquent probablement par une qualité d'ADN moindre pour ces individus. Ainsi les analyses statistiques ont porté sur 414 individus, 111 adultes et 303 juvéniles.

1.3 TRAITEMENTS STATISTIQUES

1.3.1 Diversité génétique des échantillons

La diversité génétique des échantillons a été étudiée à l'aide des paramètres suivants, en utilisant le Package R « hierfstat » v.0.5-11 (Goudet 2005) dans R studio v4.5.0 (R Core Team 2025) :

- **La richesse allélique (Ar)** qui correspond au nombre moyen d'allèle par locus. Les SNPs étant par définition des marqueurs bi-alléliques (deux allèles maximum par locus) qui montrent donc une variation que d'un seul nucléotide, la richesse allélique ne pourra être comprise qu'entre 1 et 2 et sera donc peu informative ;
- **L'hétérozygotie attendue (Hs) 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).
- **L'indice de fixation Fis** (Wright, 1969) qui varie de -1 à +1 et renseigne sur le déficit en hétérozygote dans un échantillon, en comparant l'hétérozygotie attendue (que l'on aurait dans le cas d'une population à l'équilibre de Hardy-Weinberg) et l'hétérozygotie observée. 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 en hétérozygotes.

1.3.2 Géniteurs efficaces (Nb) et taille efficace de la population (Ne)

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'adultes présent dans une population et le nombre de parents qui engendre réellement (génétiquement) une descendance et qui correspond au nombre de reproducteurs efficaces. Le calcul de cette taille efficace peut se faire :

- **A partir d'un échantillon contenant qu'une seule cohorte** (exemple dans la présente étude : 0+ échantillonnés dans chaque frayère) : dans ce cas, la taille efficace est notée Nb et correspond au nombre de géniteurs efficace de l'année étudiée (=parent reproducteur qui transmettent leurs gènes). Nb renseigne sur le risque de dérive génétique et sur la diversité génétique transmise entre les parents et leur descendance. Plus Nb est faible, plus la diversité génétique transmise à la descendance est réduite et plus la dérive génétique (perte aléatoire d'un allèle) est rapide. A contrario, lorsque Nb est grand cela signifie que beaucoup de parents contribuent de façon équilibrée à la descendance et que la diversité génétique transmise est élevée ce qui réduit le risque de dérive génétique.
- **A partir d'un échantillon contenant plusieurs classes d'âge** représentant une génération (exemple dans la présente étude : individus de la population en place âgés de 1+ à 6+ représentant une génération de 5-6 ans) : dans ce cas, l'estimation de la taille efficace est notée Ne et correspond au nombre d'individus qui participent génétiquement à l'ensemble de la population. Ne renseigne sur le potentiel évolutif et la perte de la diversité génétique à long terme. Plus le Ne est faible, plus les conséquences évolutives et écologiques sont importantes à savoir : augmentation de la dérive génétique (perte des allèles rares plus rapide et diminution de la diversité génétique), accroissement de la consanguinité car la reproduction entre individus apparentés est plus fréquente, réduction du potentiel adaptatif permettant de faire face aux changements environnementaux (climat, maladies,...), fluctuations démographiques accrues car la population est moins « armée » pour faire face aux changements aléatoires (variation interannuelles des conditions hydrologiques ou thermiques, apparition d'une pathologie,...).

Les mesures de Nb et de Ne sont devenues progressivement des indicateurs incontournables en biologie de la conservation pour évaluer la viabilité des populations en termes de capacité de résilience (Frankham 2005, Oserov et al. 2015) et d'indice précoce de perturbation (Oserov et al. 2015). Ils sont préconisés au niveau des instances internationales (IUCN, Convention sur la Diversité Biologique) pour suivre la diversité génétique au sein des populations (CBD 2022, Hoban et al. 2022, Mastretta-Yanes et al. 2024).

Les calculs de Nb et Ne ont été réalisés à l'aide de COLONY V2.06 (Wang 2004, Jones et Wang 2010) et NeEstimator V2.1 (Do et al. 2014) qui utilisent deux méthodes différentes :

- COLONY utilise une approche dite « pedigree » (Wang 2009). Elle consiste à reconstituer, à partir des génotypes des 0+ échantillonnés, les relations familiales (fratries complètes = frères/sœurs et demi-fratries = demi-frères/demi-sœurs) grâce à un modèle de vraisemblance et ainsi à déduire le nombre de parents possibles. Ensuite, le succès reproducteur individuel de chaque parent est estimé pour calculer le Nb qui intègre donc la variance de contribution génétique des parents. Ainsi, le Nb obtenu représente le nombre de géniteurs qui contribueraient tous également à la descendance sans biais de sex-ratio.

Au niveau technique, le modèle a été utilisé selon les paramètres suivants : ‘male and femelle polygamy’ (système d’accouplement polygame), ‘without inbreeding’ (sans consanguinité), ‘no sibship prior’ (sans information préalable sur les fratries), ‘full-likelihood method’ (méthode de vraisemblance complète), ‘length of run medium and medium precision’ (durée de calcul moyenne et précision moyenne).

- NeEstimator utilise une approche basée sur le déséquilibre de liaison entre les loci (Waples et Do 2008). Dans une population réelle (par exemple celle des brochets de l’Arroux), le nombre de géniteurs n’étant pas infini, la dérive génétique va influencer les fréquences alléliques et créer ce qu’on appelle des déséquilibres de liaison. Or, la dérive génétique et donc le déséquilibre de liaison obtenu sera d’autant plus grand que le nombre de géniteurs est faible (Nb grand = peu de dérive génétique, Nb petit = forte dérive génétique). La méthode estime donc Nb en fonction de l’importance du déséquilibre de liaison observé dans les échantillons.

Au niveau technique, les paramétrages suivants ont été appliqués : ‘random mating model’ (accouplement aléatoire polygame), ‘critical value of allele frequency of 0.05 (seuil de fréquence allélique critique de 0,05). Les intervalles de confiance ont été générés par la méthode ‘jackknife’ entre les échantillons.

Le logiciel COLONY a également été utilisé pour reconstruire les liens de parenté possible (pedigree) entre les individus et déduire le nombre de géniteurs démographiques (mâle et femelle) et les croisements parentaux possibles. Les analyses de pedigree ont été visualisées à l’aide de Pedigree Viewer V6.5g (©Brian and Sandy Kinghorn).

1.3.3 Différentiation et structure génétique entre les échantillons

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

- **Les indices de différenciations FST** (Weir & Cockerham, 1984) pour chaque paire d’échantillons ainsi que leur significativité ont été calculés à l’aide du package R «hierfstat» (Goudet et al. 2015). Cet indice compare les taux d’hétérozygotes de chaque

population entre elles, et renseigne sur la différence génétique entre populations. Il varie de 0 à 1, plus il est élevé plus la différenciation génétique entre les deux échantillons est importante.

- **Une analyse en composante principale (ACP)** a été réalisée pour renseigner sur la proximité génétique entre les individus (basée sur la proportion des allèles partagés) sans information préalable sur leur origine géographique. L'analyse a utilisé la fonction 'dudi.pca' sous le package R « adegenet » (Jombart 2008 ; Jombart & Ahmed, 2011), après avoir remplacées les données manquantes par la moyenne des fréquences alléliques et avec le paramètre « scale = FALSE ». Le résultat de l'ACP a été visualisé avec la fonction 's.class' dans R studio v4.5.0 (R Core Team 2025).
- **Une analyse discriminante sur composantes principales (DAPC)**, Jombart et al. 2010) a également été utilisée grâce au package R « adegenet ». Elle permet de visualiser comment des groupes préalablement définis (contrairement à l'ACP) peuvent être séparées selon les génotypes des individus qui les composent. Visuellement, l'analyse représente les groupes préalablement définis sur des axes le long desquels la variance intergroupe est la plus grande et la variance intragroupe est la plus faible. Dans notre approche, deux DAPC ont été réalisées avec des groupes prédéfinis différents. Premièrement, les sites d'échantillonnage ont été utilisés pour prédéfinir les groupes afin d'évaluer si les différences de génotypes observées reflétaient l'origine géographique des individus. Deuxièmement, les groupes ont été prédéfinis à partir de la ressemblance génétique des individus obtenue par une analyse de « K means clustering » donc en faisant abstraction de leur origine géographique. Pour cette deuxième analyse, la fonction 'find.cluster' a été utilisée pour déterminer le nombre optimum de cluster génétique présentant la plus faible valeur de BIC (Bayesian Information Criterion). Le nombre de composante principale retenue dans la DAPC a été obtenu par validation croisée en utilisant la fonction 'xval' avec 100 répliques répétées 5 fois pour s'assurer la consistance du résultat.
- **Une autre méthode de « clustering » avec le logiciel STRUCTURE** v2.3.4 (Prichard et al. 2000) a également été utilisée. Cette méthode regroupe les individus en différents groupes génétiques homogènes (appelés clusters) sur la base de leur génotype sans connaître leur appartenance à l'échantillon d'origine. L'analyse a consisté à rechercher le nombre le plus probable de clusters, entre 1 et 11, selon la procédure décrite par Evanno et al. (2005) en utilisant la fonction 'structureHarvester.py' sous R (Earl et vonHoldt, 2012).

2 RESULTATS

2.1 DIVERSITE GENETIQUE AU SEIN DES ECHANTILLONS

Les indices de diversité génétique (H_o , H_s et A_r) varient peu entre les échantillons avec des valeurs comprises entre 0,251 et 0,311 pour H_o , entre 0,252 et 0,273 pour H_s et entre 1,248 et 1,268 pour A_r . Les échantillons de juvéniles de PréAbre_2022 et PréAbre_2023 présentent une diversité génétique plus élevée que tous les autres échantillons. Le site Arroux_3 montre la plus faible diversité génétique mais ce résultat peut être influencé par le faible effectif analysé (Tableau 3).

Toutes les populations sauf Arroux_3 présentent un excès d'hétérozygote ($H_o > H_s$ et $F_{is} < 0$, Tableau 3). Ces résultats suggèrent que ces échantillons ne sont pas suffisamment homogènes génétiquement pour pouvoir être considérés comme représentatifs d'une seule population. Autrement dit les individus qui composent ces échantillons sont génétiquement trop différents (fréquences alléliques différentes) pour appartenir à la même population.

Stade	Code station	Effectif		H_o	H_s	A_r	F_{is}
		Echantillonné	Analysé				
Juvéniles 0+	PréAbre_2022	50	50	0,311	0,270	1,268	-0,104
	PréAbre_2023	119	114	0,291	0,273	1,270	-0,047
	Chambon_2022	91	89	0,266	0,261	1,257	-0,018
	Chambon_2023	52	50	0,262	0,257	1,253	-0,020
Population en place (1+ - 6+)	Arroux 1	56	55	0,274	0,264	1,260	-0,021
	Arroux 2	45	45	0,266	0,262	1,258	-0,015
	Arroux 3	11	9	0,251	0,252	1,248	0,005
	Orme	2	2	-	-	-	-
TOTAL		426	414	-	-	-	-

Tableau 3 : Statistiques descriptives des échantillons (H_o =Hétérozygotie observée, H_s =Hétérozygotie attendue, A_r =Richesse allélique, F_{is} =indice de fixation)

Ces données donnent des premières informations sur le fonctionnement de la population de brochet de l'Arroux à l'échelle du linéaire étudié.

Ecologiquement, ce résultat suggère l'existence dans ces échantillons de migration récente d'individus. Ainsi, les résultats obtenus sur les juvéniles 0+ suggèrent que les frayères PréAbre et Chambon ne sont pas uniquement utilisées par une population de « géniteurs locaux » mais seraient fréquentées également par des géniteurs venant de différentes « populations » plus ou moins éloignées géographiquement. **Démographiquement**, il est également possible d'obtenir ce type de résultats si les juvéniles sont produits par un faible nombre de géniteurs mais génétiquement différents c'est-à-dire provenant de populations différentes.

Il en est de même pour les deux échantillons dans la population en place, Arroux_1 et Arroux_2, qui semblent être constitués d'individus issus de populations différentes qui traduit probablement un **phénomène de migration récente**. Pour Arroux 3, l'effectif analysé est trop faible pour pouvoir se prononcer.

Au niveau spatial, cela indique que des mouvements d'individus ont lieu à des échelles géographiques plus importantes que les linéaires échantillonnés, à savoir 2000 m pour Arroux 1 et 2800m pour Arroux 2.

Lorsque l'on fait les calculs sur la totalité des échantillons de la population en place, en regroupant tous les individus prélevés sur un linéaire d'environ 23 km (111 individus sur Arroux_1, Arroux_2, Arroux_3 et Orme), le déficit d'hétérozygote se réduit mais persiste ($H_o=0,268$ et $H_e=0,265$, $F_{is}=-0,014$). Ceci suggère que des mouvements d'individus ont lieu à une échelle spatiale plus importante que l'ensemble du linéaire étudié. Il est fort probable que les échantillons collectés comportent des individus qui ont migré récemment à partir d'autres secteurs de l'Arroux, situés plus en amont et/ou en aval du linéaire de 23 km étudié.

2.2 NOMBRE DE GENITEURS EFFICACES ET LIENS DE FRATERNITE ENTRE LES JUVENILES

Excepté pour l'échantillon PréAbre 2022, les nombres de géniteurs efficaces obtenus par les deux méthodes sont comparables pour tous autres les échantillons : PréAbre 2023, Chambon 2022 et 2023 et pour le total des deux années 2022 et 2023 (Figure 3). Pour PréAbre 2022, la différence obtenue entre les deux méthodes peut être relativisée car les intervalles de confiance se chevauchent entièrement. L'analyse en détail des résultats incite à privilégier l'estimation de COLONY car les génotypes des 0+ suggèrent un flux de gènes récent (immigration de parents) confirmés par l'excès d'hétérozygote et l'indice de fixation négatif ce qui peut engendrer une surestimation du calcul du Nb par la méthode du déséquilibre de liaison.

La frayère PréAbre montre pour les deux années étudiées, un nombre de géniteurs efficaces très faible ($Nb = 5$ pour 2022 et $Nb = 7$ à 8 en 2023) et plus faible que celui obtenu sur la frayère Chambon en 2022 et 2023 (Nb autour de 21, 22). Enfin, sur chacune des frayères, les Nb restent similaires entre les deux années suivies (Figure 3).

Les Nb obtenus pour le total des deux années sont faibles, entre 15 et 20 pour 2022 et 13 et 14 pour 2023 selon les méthodes.

Précision importante, les valeurs de Nb obtenus séparément ne peuvent pas être additionnées pour obtenir le Nb total. Et il est tout à fait normal que le Nb calculé sur le total des échantillons soit inférieur à la somme des Nb calculés séparément sur les trois frayères. Nb ne correspond pas au nombre de parent réel, il s'agit d'une estimation théorique d'un nombre de géniteurs efficaces dont le calcul est influencé par la variance du succès reproducteur (le fait que certains géniteurs contribuent plus que d'autres) et la structure génétique au sein de l'échantillon. Ainsi, lorsqu'on fait le calcul sur la totalité de l'échantillon, la variance du succès reproducteur va être

plus élevée et la structure génétique plus complexe que dans les échantillons de chacune des frayères, ce qui va donner un Nb plus faible que la somme des Nb des trois frayères calculés séparément.

Nb ne doit donc pas être considéré comme un nombre de parent réel mais plutôt comme un indicateur qui renseigne sur la « quantité » de diversité génétique transmise entre les parents et leur descendance et sur le risque de dérive génétique à court terme.

A retenir : Pour les deux années suivies (2022 et 2023) la diversité génétique transmise à court terme entre les parents et la descendance dans la population de l'Arroux amont peut être considérée comme faible à très faible, ce qui traduit un risque élevé de dérive génétique. La frayère de Chambon, localisée en position médiane sur le linéaire étudié présente une transmission génétique plus diversifiée que la frayère PréAbre localisée en amont.

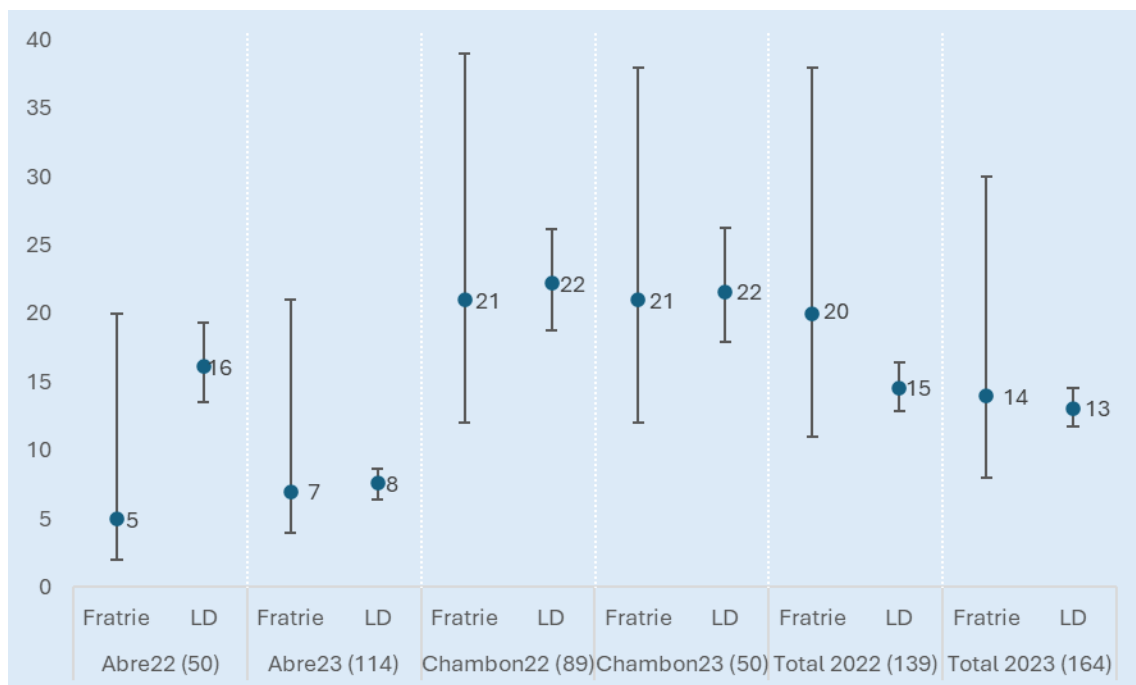


Figure 3 : Nombre de géniteurs efficaces (Nb) obtenu à partir des échantillons de 0+ selon les deux méthodes (fratrie et Déséquilibre de liaison = LD) (+ Intervalle de confiance à 95%).

L'analyse des relations de fraternité et la reconstruction des pedigrees confirment que le nombre de familles et le nombre de géniteurs démographiques sont nettement plus faibles et que donc les liens de fraternité entre individus sont plus nombreux sur la frayère PréAbre que sur la frayère Chambon (Tableau 4).

Code station	Effectif analysé	Nombre de famille estimé	Nombre d'adultes déduits en fonction des génotypes des descendants	Nombre de paire d'individus ayant les deux mêmes parents en commun	Nombre de paire d'individus ayant un seul parent en commun
PréAbre_2022	50	10	14	164	673
PréAbre_2023	114	21	14	666	2310
Chambon_2022	89	53	36	78	575
Chambon_2023	50	34	28	21	196

Tableau 4 : Statistiques des analyses de pedigree calculées sur les juvéniles 0+ échantillonnés dans les frayères.

La reconstruction des pedigrees suggère des succès reproducteurs très variables entre les individus parents en particulier pour la frayère PréAbre avec une contribution génétique à la descendance qui varie fortement d'un géniteurs à l'autre. Par exemple sur PréAbre en 2022 les résultats suggèrent que 82% des 0+ échantillonnés proviennent d'une seule femelle (Figure 4). Pour PréAbre en 2023, 54% des 114 0+ échantillonnés seraient issus de la même femelle (Figure 4).

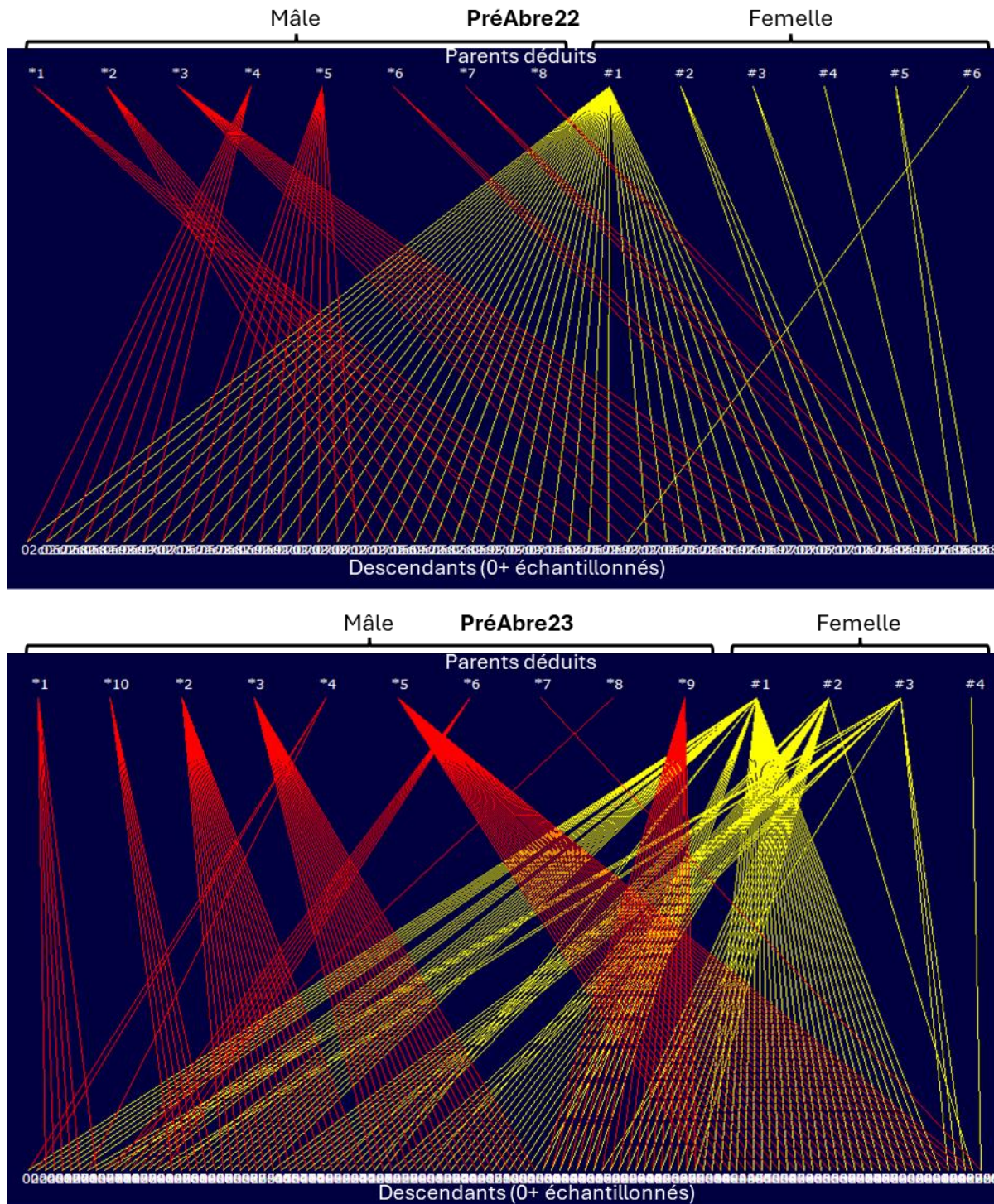


Figure 4 : Reconstruction des relations familiales (pedigree) entre 0+ échantillonnés et les parents possibles déduits par COLONY pour la fratrie PréAbre en 2022 et 2023.

Pour Chambon en 2022 et 2023, le nombre de femelles ayant un succès reproducteur élevé est plus important mais on remarque quand même que plus de la moitié des femelles présente une

contribution génétique très faible avec seulement 1 ou 2 descendants produits dans les échantillons (Figure 5).

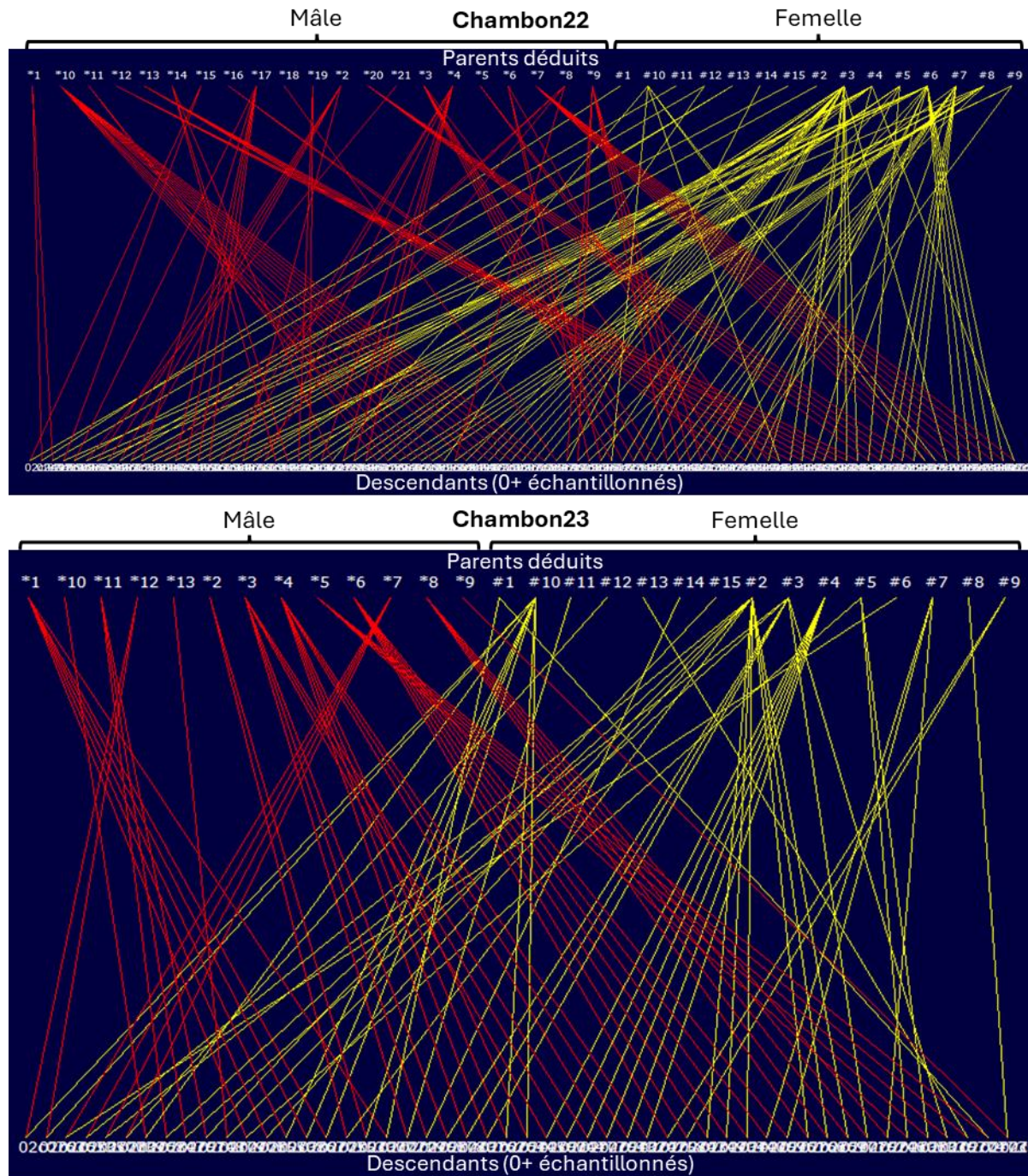


Figure 5 : Reconstruction des relations familiales (pedigree) entre 0+ échantillonnés et les parents possibles déduits par COLONY pour la frayère Chambon en 2022 et 2023.

2.3 TAILLE EFFICACE (N_e) ET LIENS DE FRATERNITE DANS LA POPULATION EN PLACE

L'effectif de 9 individus échantillonnés sur le tronçon aval Arroux 3 n'est pas suffisant pour obtenir une estimation robuste de la taille efficace. L'intervalle de confiance est important et la borne supérieure est à l'infini (Figure 6).

La taille efficace pour le tronçon Arroux 1 est très faible ($N_e=12$) et nettement inférieure à celle obtenue pour le tronçon Arroux 2 (entre 42 et 51). Pour le total des 3 tronçons, représentant l'ensemble du linéaire étudié, la taille efficace reste globalement faible variant entre 29 et 33 (Figure 6).

Précision importante, les valeurs de N_e obtenues séparément ne peuvent pas être additionnées pour obtenir le N_e total. Et il est tout à fait normal que le N_e calculé sur le total des échantillons soit inférieur à la somme des N_e calculés séparément sur les trois tronçons Arroux 1, Arroux 2 et Arroux 3. La calcul est influencé par 1) le succès reproducteur qui va être différent d'un tronçon à l'autre, (le nombre de géniteurs qui vont avoir une contribution dominante va varier entre les tronçons) et par 2) la structure spatiale, c'est-à-dire le niveau d'isolement génétique entre les différents tronçons (importance des flux de gènes c'est-à-dire des mouvements d'individus entre les sites).

Ne ne correspond pas au nombre de parent réel qui contribue à la génération, il s'agit d'une estimation théorique de la taille efficace d'une population. Ne doit être considéré comme un indicateur qui renseigne sur la capacité d'une population à transmettre de la diversité génétique d'une génération à l'autre et sur le risque de dérive génétique à long terme.

A retenir : ces résultats indiquent un potentiel évolutif faible et un risque de dérive génétique important à long terme à l'échelle du linéaire étudié.

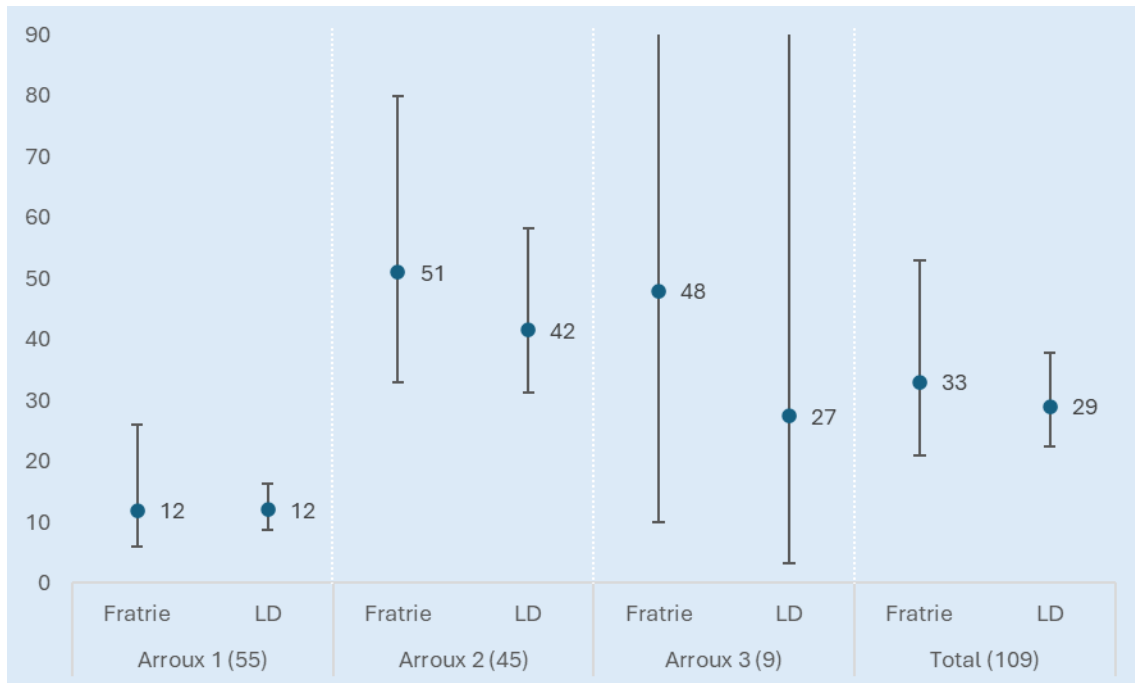


Figure 6 : Taille efficaces (N_e) obtenue à partir des échantillons de la population en place selon les deux méthodes (fratrie et déséquilibre de liaison = LD) (+ Intervalle de confiance à 95%).

L'analyse des relations familiales entre les individus des 3 tronçons indiquent que des individus issus des deux mêmes parents (27 paires d'individus) sont retrouvés au sein des tronçons Arroux 2 et Arroux 1. Ceci suggère que des individus nés au sein d'une même frayère se sont répartis sur ces deux tronçons distants d'environ 10 km (Figure 7). Plusieurs relations de demi-fratries (individus ayant un seul parent en commun) sont également observées entre les 3 tronçons étudiés (Figure 7). Ces relations traduisent soit un déplacement d'individus provenant d'une même frayère mais n'ayant qu'un parent en commun (polygamie) soit un déplacement de géniteurs qui se seraient reproduits sur deux frayères différentes au cours de deux années différentes. Dans tous les cas, ces résultats révèlent bien une certaine mobilité des individus au sein de l'ensemble du linéaire étudié.

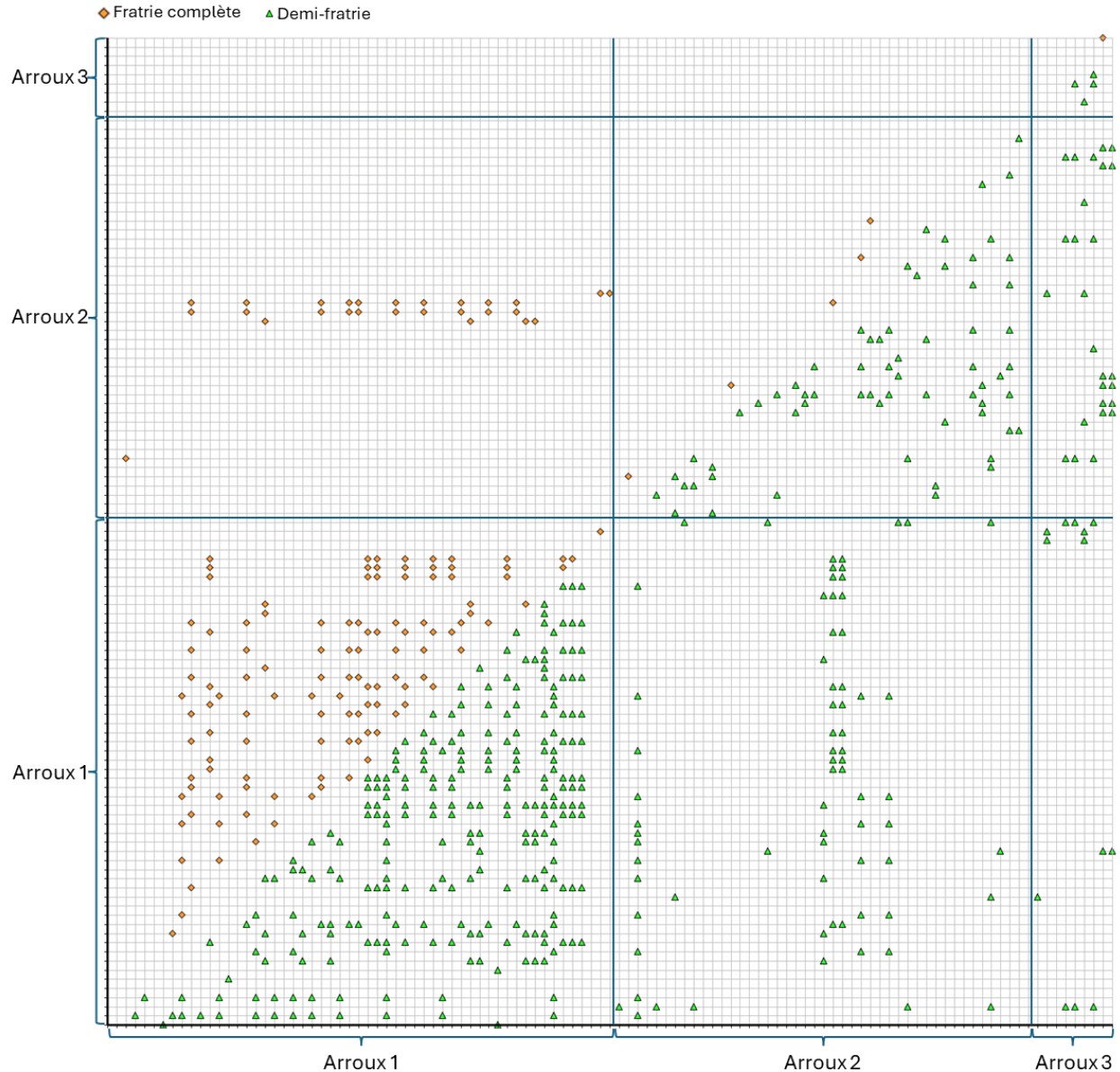


Figure 7 : Matrice montrant les relations de fratrie (au-dessus de la diagonale) et de demi-fratrie (en dessous de la diagonale) entre les individus échantillonnés dans la population en place au niveau des 3 tronçons étudiés.

2.4 DIFFERENCIATION ET STRUCTURATION GENETIQUE AU SEIN DU SECTEUR ETUDIE

La valeur de F_{st} globale, qui mesure la différenciation génétique au sein des 7 échantillons (l'échantillon Orme ne contenant que 2 individus a été retiré), est de 0,0314. Ainsi, seulement 3% de la variance génétique globale est due à des différences entre populations alors que 97% de cette variance s'explique par des différences au sein des populations. **Ce résultat traduit une faible**

différentiation génétique entre les échantillons étudiés et suggère un flux de gènes relativement important entre les échantillons.

Les valeurs de Fst par paire varient de 0,0053 à 0,0973 et peuvent être interprétées de la façon suivante (Tableau 5) :

- Elles sont très faibles (0,0053 à 0,0084) traduisant des flux de gènes importants entre :
 - Arroux 2 et Arroux 3 ;
 - Arroux 2 / Arroux 3 et les 0+ de la frayère Chambon ;
 - Arroux 1 et les 0+ de la frayère PréAbre en 2023 ;
- Elles sont faibles (0,0232 à 0,0583) suggérant des flux de gènes plus modérés entre :
 - Arroux 1 et Arroux 2 / Arroux 3 ;
 - Arroux 1 et les 0+ de la frayère Chambon ;
 - Arroux 1 et les 0+ de la frayère PréAbre en 2022 ;
 - Arroux 2 / Arroux 3 et les 0+ de la frayère PréAbre en 2023 ;
- Elles sont modérées à fortes (0,0588 à 0,0973) suggérant des flux de gènes restreints jusqu'à un isolement reproducteur partiel entre :
 - Entre les 0+ issus des deux frayères Chambon et PréAbre (résultat logique attendu) ;
 - Arroux 2 / Arroux 3 et les 0+ de la frayères PréAbre en 2022.

	0+_Abre22	0+_Abre23	0+_Chambon22	0+_Chambon23	Arroux1	Arroux2	Arroux3
0+_Abre22							
0+_Abre23	0,0254						
0+_Chambon22	0,0973	0,0628					
0+_Chambon23	0,0946	0,0588	0,0091				
Arroux1	0,0583	0,009	0,0424	0,0383			
Arroux2	0,0836	0,0424	0,0084	0,0098	0,0232		
Arroux3	0,0881	0,05	0,0091	0,0096	0,0297	0,0053	
(Orme)	-	-	-	-	-	-	-

Tableau 5 : Valeurs de Fst par paires (Weir et Cockerham, 1984) sur 7 échantillons (l'échantillon Orme ne contenant que 2 individus a été retiré). En gras les valeurs qui diffèrent significativement de 0 au seuil de 0,05.

Ces résultats montrent une certaine logique géographique dans les flux de gènes entre les zones de frayère et les tronçons de rivière. Les 0+ prélevés sur la frayère PréAbre sont génétiquement plus proches des individus échantillonnés sur le tronçon de rivière Arroux 1 que ceux prélevés sur Arroux 2 et 3. Et de même, les 0+ provenant de la frayère Chambon sont plus proches des individus des tronçons Arroux 2 et 3 que des individus échantillonnés sur Arroux 1. Mais les résultats des Fst mettent également en évidence l'existence d'échanges significatifs entre les 3 tronçons de rivières étudiés et également entre des frayères et des tronçons de rivières

géographiquement plus éloignés (Arroux 1 – frayère Chambon, Arroux 2 et 3 – frayère PréAbre, Arroux 3 – frayère Chambon). **Ces échanges traduisent une certaine mobilité des individus au sein de l'ensemble de la zone d'étude qui peut se produire par dispersion des juvéniles dans la rivière et lors des migrations pré et post reproduction des adultes.**

L'analyse par ACP permet de caractériser la structuration génétique entre les échantillons sans information préalable sur leur origine. Elle permet donc de décrire comment se structure la variabilité génétique globale sans a priori sur l'origine géographique des individus. Les résultats permettent de détecter 3 groupes regroupant des individus génétiquement proches sur les deux premiers axes expliquant environ 12,3% de la variance. **La première information importante qui ressort est que ces groupes ne coïncident pas avec l'origine géographique des individus.** En effet, on observe :

- un premier groupe indépendant (pointillés rouges en haut de la Figure 8.A) qui est composé majoritairement par des individus de Arroux 1 et un individu de Arroux 2.
- Un deuxième groupe indépendant (pointillés bleus en bas à droite de la Figure 8.A) composé d'une majorité d'individus de Arroux 1 et deux individus de Arroux 2.
- Un troisième groupe (pointillés verts en bas au centre de la Figure 8.A) regroupant des individus des 3 tronçons et de la zone humide de l'Orme.

Les individus échantillonnés sur le tronçon Arroux 1 montrent la plus grande variabilité génétique et se répartissent à peu près à part égale dans les 3 groupes génétiques différents.

L'analyse par DAPC (analyse discriminante des composantes principales) renseigne sur la différenciation génétique entre groupes d'individus qui ont été préalablement définis (ici les 4 secteurs échantillonnés). **Les résultats montrent bien que les tronçons étudiés ne constituent pas des entités génétiques homogènes qui se différencient les uns des autres.** Au contraire de nombreux individus provenant d'origine géographiques différentes se rapprochent entre eux. Par exemple, 5 individus échantillonnés sur Arroux 2 (points noirs) se positionnent au sein du cercle des individus de Arroux 1 (violets). De même, des individus échantillonnés sur Arroux 1 se positionnent au sein du cercle des individus de Arroux 3 (vert) et de Arroux 2. Etc...(Figure 8.B). **Ces résultats mettent en évidence des migrations d'individus entre les secteurs étudiés.**

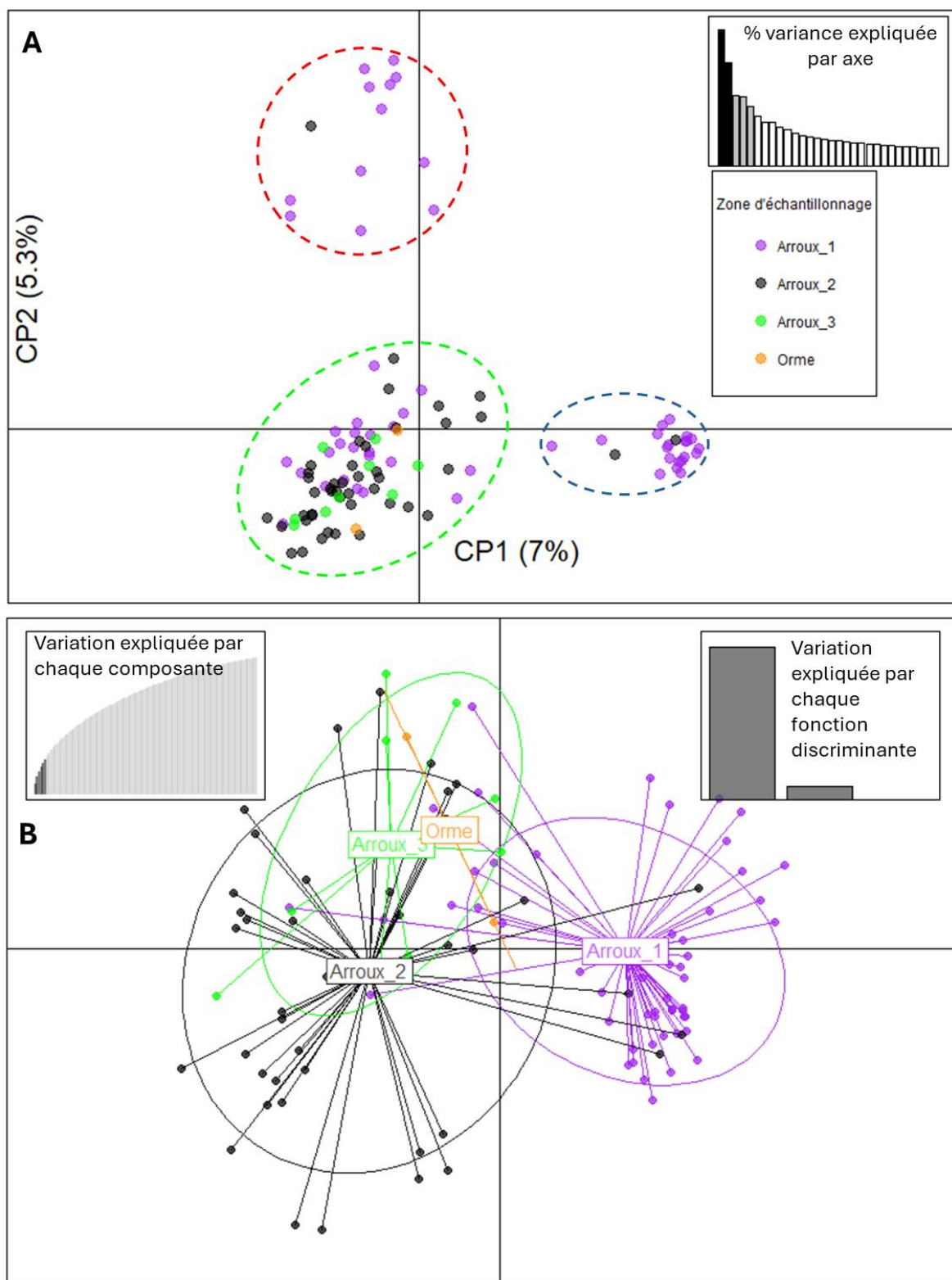


Figure 8 : Analyse des composantes principales (ACP) (graphique A) et Analyse Discriminante des Composantes Principales (DAPC) (graphique B) obtenues avec les individus échantillonnés dans la population en place.

La recherche de cluster génétique par les deux méthodes, DAPC et Structure, montre des résultats convergents et suggère **l'existence de 3 clusters différents au sein de l'ensemble des secteurs étudiés qui ne présentent pas de correspondance avec la position géographique des échantillons** (Figure 9). Ainsi, l'échantillon Arroux 1 se compose d'individus assignés aux trois clusters quasiment à part égale. L'échantillon Arroux 2 est majoritairement composé d'individus assignés au cluster vert mais présente également 2 individus assignés au cluster bleu et un au cluster rouge. Les échantillons Arroux 3 et Orme sont composés uniquement d'individus assignés au cluster vert.

Le mélange de clusters génétiques différents concerne donc principalement les individus du tronçon Arroux 1 situés en amont de la zone d'étude alors que les individus situés sur les tronçons médian et aval (Orme, Arroux 2 et 3) sont inféodés majoritairement à un même cluster. **Ces résultats suggèrent une migration récente d'individus génétiquement différents venant de l'amont du bassin qui serait davantage visible sur le tronçon Arroux 1 avec une propagation plus restreinte sur l'aval du secteur d'étude.**

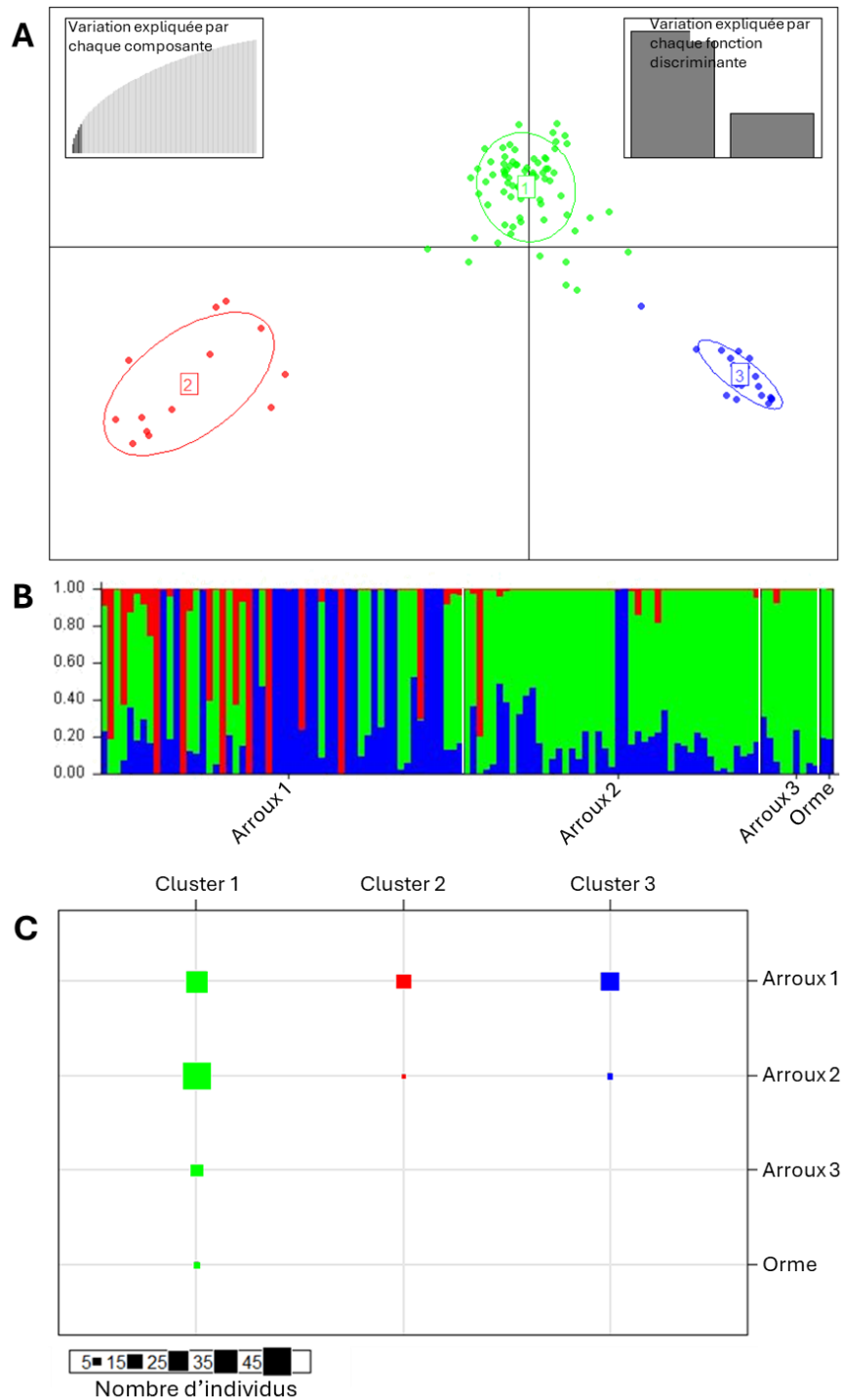


Figure 9 : Résultat de la structuration en 3 clusters génétiques obtenues par DAPC et Structure au sein des échantillons de la population en place. Chaque cluster est représenté par une couleur (vert, rouge, bleu). A= DAPC distinguant les individus en fonction de leur appartenance aux clusters, B= répartition des clusters au sein des échantillons obtenue par Structure présentant la probabilité qu'à chaque individu d'appartenir aux clusters identifiés, C= répartition des individus de chaque origine géographique au sein des 3 clusters identifiés obtenue par DAPC.

3 SYNTHÈSE

3.1 UN RISQUE IMPORTANT DE DÉRIVE GÉNÉTIQUE À COURT ET LONG TERME

Les valeurs de géniteurs efficaces et de tailles efficaces obtenues sont globalement très faibles à faibles. Cela signifie qu'il y a peu de diversité génétique qui est transmise à court terme entre les parents et leurs descendants, et également à long terme à l'échelle des générations. Il y a donc un risque réel de dérive génétique qui a pour conséquence de restreindre le potentiel évolutif de la population et de limiter sa viabilité dans le temps.

Les résultats montrent une différence géographique entre la zone amont (frayère Pré l'Abre et tronçon Arroux 1) et la zone médiane (frayère Chambon et tronçon Arroux 2). En effet, la frayère Pré l'Abre présente des Nb (entre 5 et 8) beaucoup plus faibles que la frayère Chambon (21-22) et le tronçon Arroux 1 présente un Ne (12) beaucoup plus petit que le tronçon Arroux 2 (42-51). Ainsi, le risque de dérive génétique apparaît beaucoup moins important au niveau de la frayère Chambon ce qui semble être bénéfique à la population en place sur le tronçon Arroux 2 qui présente un risque de dérive génétique à long terme moins élevé que sur Arroux 1. La différence de Nb observée entre les deux frayères peut révéler une différence de fonctionnalité/qualité des frayères. L'estimation de Nb peut en effet être un bon indicateur de contraintes environnementales qui vont agir sur le succès reproducteur (Whiteley et al. 2015). Ainsi la frayère Pré l'Abre qui présente un Nb très faible pourrait présenter plus de contraintes environnementales (surfaces, habitats, hydrologie) qui rendraient la reproduction moins efficace.

Or, les caractéristiques (surfaces, habitats) et le fonctionnement hydraulique des deux frayères sont très différents. La frayère Pré l'Abre se situe dans une zone humide éloignée du lit de la rivière et connectée temporairement à celle-ci par l'intermédiaire d'un chenal hydraulique. Cela signifie que sa mise en eau et que donc son accessibilité pour les géniteurs et son utilisation comme site de reproduction sont limités et variables dans le temps en fonction des conditions hydrologiques. A contrario, la frayère Chambon se situe sur un bras « mort », (ancien méandre) connecté directement et en permanence au lit de la rivière. Au vu de nos résultats, la frayère Chambon correspondant à une zone humide permanente semble nettement plus efficace et bénéfique pour la viabilité de la population que la frayère Pré-Abre qui est une zone humide temporaire. Cette différence d'efficacité de reproduction entre zone humide permanente et temporaire serait à confirmer en étudiant un nombre de frayères plus important.

Ainsi, en termes de restauration de zone de reproduction, il semble judicieux de privilégier les sites de type bras mort ou lône sur lesquels une connexion hydraulique permanente est envisageable.

3.2 UNE MOBILITE EVIDENTE DES INDIVIDUS AU SEIN DE LA ZONE D'ETUDE ET AU-DELA

L'ensemble des résultats obtenus en termes de différenciation et de structuration génétique met en évidence des flux de gènes importants entre nos échantillons et l'existence de migrations récentes d'individus entre les tronçons échantillonnés au sein de la zone d'étude. Mais les résultats suggèrent également la présence au sein de la zone d'étude d'individus migrant d'origines géographiques non connues donc extérieures à la zone étudiée.

Ces éléments apportent trois informations :

- D'une part, ils renseignent sur le comportement de migration et de dispersion du brochet sur l'Arroux. Il y a une mobilité évidente des individus à minima sur les 23 km de rivières que constitue la zone d'étude. Des déplacements sur des linéaires potentiellement plus importants par des individus provenant de secteurs situés plus en amont de la zone d'étude sont également envisageables. Ces déplacements pourraient avoir lieu au stade juvénile lorsque les individus se dispersent le long de la rivière et/ou au stade adulte lors des migrations pré- et post-reproduction.

Les phénomènes de dispersion de juvéniles au sein des rivières ne sont encore peu voire pas documentés dans la littérature scientifique. En revanche, les déplacements d'adultes en rivière ont été plus largement étudiés, en particulier par télémétrie, et montrent des résultats qui sont tout à fait cohérents avec les flux de gènes et les migrations d'individus observées à l'échelle spatiale étudiée sur l'Arroux. Ainsi, Ovidio (2005) observe sur la rivière Ourthe en Belgique des déplacements d'adultes vers l'amont jusqu'à 15,7 km et des déplacements longitudinaux vers l'amont et l'aval compris entre 1,4 et 25 km. Masters et al (2005), sur la rivière Frome en Angleterre, indiquent des linéaires totaux de rivière parcourue pouvant atteindre 6 km sur 15 mois de suivi. Sur l'Yser, une rivière de plaine en Belgique, des déplacements amont ou aval sur des linéaires compris entre 4 et 16 km ont été rapportés (Pauwels et al. 2014). Sur la Seine, dans le département de Seine et Marne, Grimaud (2020) observe des déplacements compris entre 350 m et 30 km. Toujours en France sur l'Aisne, de nombreux déplacements pré et post reproduction ont été observés chez les adultes entre octobre et avril sur une zone d'étude d'environ 10 km (Chevallier et al. 2023). Enfin, sur la rivière Severn dans l'Ouest de l'Angleterre, Nolan et al. (2025) observent des mouvements pré et post reproduction d'adultes compris entre 1,3 et 22 km sur une période de 12 mois.

- D'autre part, ils mettent en avant l'importance pour le fonctionnement de la population de brochets d'avoir, sur une large échelle spatiale, une bonne connectivité à la fois longitudinale le long de la rivière et transversale entre la rivière et les annexes latérales qui représentent des habitats de reproduction.

Sur le plan longitudinal, les observations de flux de gènes et de migration récente d'individus indiquent que la continuité piscicole est assurée sur les 23 km de rivière étudiée entre Dracy-St-Loup et Etang-sur-Arroux. Ainsi, l'arasement en 2019 du barrage de St Andoche situé au niveau d'Autun entre les tronçons Arroux 1 et Arroux 2, a certainement contribué à faciliter les flux de gènes et la migration d'individus entre les tronçons étudiés.

Les résultats obtenus renforcent le fait que les travaux de restauration de la continuité longitudinale sont primordiaux et sont des actions efficaces à promouvoir pour rétablir les flux de gènes et renforcer la viabilité de la population.

Sur le plan de la connectivité transversale pour l'accès aux habitats de reproduction, les résultats suggèrent l'importance des annexes latérales présentant une connexion hydraulique permanente.

- Enfin, les résultats indiquent que l'aire d'étude représentée par le linéaire de 23 km de rivière n'est pas suffisante pour caractériser l'échelle spatiale de fonctionnement de la population de brochets de l'Arroux. Cette population a besoin d'un espace de vie ou « home range » plus important que le linéaire étudié pour assurer son fonctionnement et le maintien de sa viabilité. Les connaissances actuelles ne permettent pas de connaître le linéaire de rivière nécessaire au bon fonctionnement de la population.

3.3 APPLICATIONS POUR LA GESTION ET PROPOSITIONS

3.3.1 Caractériser l'échelle de fonctionnement de la population sur l'ensemble de l'Arroux

Comme expliqué plus haut, l'étude a montré que les flux de gènes et les déplacements d'individus avaient lieu au-delà des 23 km du linéaire étudié et que donc l'échelle spatiale nécessaire au fonctionnement de la population de l'Arroux n'est aujourd'hui pas connue. Ainsi, une étude des flux de gènes et une recherche de structuration génétique intégrant une quinzaine de tronçons échantillonnés sur l'ensemble du linéaire de l'Arroux apporterait des informations intéressantes pour la gestion. Elle permettrait de caractériser l'échelle de fonctionnement de la population (unité de gestion), d'évaluer la taille efficace globale de la population, d'identifier d'éventuels problèmes de continuité longitudinale (effet du seuil VNF et du barrage des Forges à Gueugnon) et de proposer des actions de gestion efficace en agissant à une échelle géographique cohérente vis-à-vis du fonctionnement de la population.

3.3.2 Connaître la fonctionnalité relative des frayères à l'échelle de l'Arroux

A travers le calcul du nombre de géniteurs efficaces, l'étude a montré que les frayères pouvaient être plus ou moins productives et avoir des effets plus ou moins bénéfiques sur la

population. Ainsi l'estimation du nombre de géniteurs efficaces, Nb, sur l'ensemble des zones de reproduction connues du bassin de l'Arroux permettrait d'évaluer la fonctionnalité relative des frayères. Une telle étude serait l'occasion de répertorier les frayères réellement fonctionnelles à l'échelle du bassin. Les résultats des Nb permettraient de proposer et de hiérarchiser des mesures de restauration pour rendre les frayères plus efficaces avec des bénéfices attendus sur l'ensemble de la population de l'Arroux.

3.3.3 Restaurer des zones de reproduction efficaces

L'inventaire de la population de brochet et des zones de reproduction réalisé sur ce même linéaire par la FDPPMA 71 (Maupoux 2023) a clairement montré que les frayères réellement fonctionnelles, capable de produire des juvéniles, étaient peu nombreuses. Pour rappel, sur 12 frayères étudiées réparties sur le linéaire concernée par l'étude, seules deux ont été hydrauliquement et biologiquement fonctionnelles en 2022 et 2023. Il y a donc un déficit de frayères fonctionnelles sur ce linéaire et un réel besoin de restaurer des zones humides pouvant servir d'habitat de reproduction.

Or, l'étude a fait ressortir deux informations pratiques et importantes qui peuvent aider à définir la stratégie de restauration des zones humides en vue de créer des habitats de reproduction les plus efficaces possibles.

La première est que les individus migrent sur de relative longue distance, jusqu'à plusieurs dizaines de km. Ainsi les frayères localisées à un endroit ne sont pas uniquement utilisées par des géniteurs locaux présents à proximité dans la rivière mais sont également utilisés par des géniteurs venant de secteurs plus éloignés. Cette information suggère qu'il n'est pas nécessaire de créer un réseau dense de zones de reproduction réparti sur l'ensemble du linéaire. La création d'un réseau de quelques frayères éloignées d'une dizaine de km serait déjà une bonne stratégie pour avoir un effet sur l'ensemble de la population.

La deuxième information est qu'une frayère en communication permanente avec la rivière semble être plus bénéfique et efficace qu'une frayère dont la mise en eau est temporaire et dépendante des conditions hydrologiques de l'hiver et du printemps. Ainsi, il sera plus efficace de créer des annexes hydrauliques permanentes ou d'améliorer les conditions hydrauliques des zones humides existantes pour augmenter leur durée de mise en eau.

4 REFERENCES

- CBD. (2022). "Decision Adopted by the Conference of the Parties to the Convention on Biological Diversity CBD/COP/DEC/15/4 Kunming-Montreal Global Biodiversity Framework." CBD/COP/DEC/15/4. <https://www.cbd.int/doc/decisions/cop-15/cop-15-dec-04-en.pdf>.
- Cittadino, S., Tarkan, A. S., Aksu, S., Wright, R. M., Hindes, A. M., Lane, S., ... & Britton, J. R. (2024). Individual variability in the movement ecology of Northern Pike *Esox lucius* in a highly connected wetland system. *Aquatic Sciences*, 86(4), 105.
- Chevallier, E., Denys, G. P., Marlot, R., Duntze, M., Mierral, A., Fasquel, A., ... & Boucault, J. (2023). Behaviour of two predator fishes *Esox lucius* Linnaeus, 1758 and *Silurus glanis* Linnaeus, 1758 during two successive floods in the French Aisne River. *Cybium: Revue Internationale d'Ichtyologie*, 47(1), 79-99.
- Do, C., R. S. Waples, D. Peel, G. M. Macbeth, B. J. Tillett, and J. R. Ovenden. (2014). "NeEstimator V2: Re-Implementation of Software for the Estimation of Contemporary Effective Population Size (Ne) From Genetic Data." *Molecular Ecology Resources* 14: 209–214.
- Earl, D. A. & vonHoldt B. M. (2012). *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.
- Frankham, R. (2005). Genetics and extinction. *Biological conservation*, 126(2), 131-140.
- Goudet, J. (2005). Hierfstat, a package for R to compute and test hierarchical F-statistics. *Molecular ecology notes*, 5(1), 184-186.
- Goudet, J., Jombart, T., & Goudet, M. J. (2015). Package 'hierfstat'. *Estimation and Tests of Hierarchical F-Statistics*.
- Grimaud, M. (2020). Etude du brochet (*Esox lucius*) et de ses frayères sur la Seine. Rapport de Master II. Université de Lorraine, AgroParisTech, Fédération de Seine et Marne pour la Pêche et la Protection du Milieu Aquatique, 26 pages + annexes.
- Hoban, S., F. I. Archer, L. D. Bertola, et al. (2022). "Global Genetic Diversity Status and Trends: Towards a Suite of Essential Biodiversity Variables (EBVs) for Genetic Composition." *Biological Reviews* 97, no. 4: 1511–1538.
- Jombart, T. (2008). adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics* 24, 1403-1405.
- Jombart, T., Devillard, S. & Balloux, F. (2010). Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genetics* 11, 94.
- Jombart, T., & Ahmed, I. (2011). adegenet 1.3-1: new tools for the analysis of genome-wide SNP data. *Bioinformatics*, 27(21), 3070-3071.
- 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.

- Masters, J. E. G., Hodder, K. H., Beaumont, W. R. C., Gozlan, R. E., Pinder, A. C., Kenward, R. E., & Welton, J. S. (2005). Spatial Behaviour of Pike *Esox Lucius* L. in the River Frome, UK. In *Fifth European Conference on Fish Telemetry*.
- Mastretta-Yanes, A., J. M. Da Silva, C. E. Grueber, et al. (2024). "Multinational Evaluation of Genetic Diversity Indicators for the Kunming-Montreal Global Biodiversity Framework." *Ecology Letters* 27, no. 7: e14461.
- Maupoux, J. (2023). Etude de la population de brochet de l'Arroux entre Dracy-Saint-Loup et Etang-sur-Arroux. Rapport FDPMA 71, 49 pages.
- Nolan, E. T., Hindes, A. M., Bolland, J. D., Davies, P., Gutmann Roberts, C., Tarkan, A. S., & Britton, J. R. (2025). Movements and habitat use of native and invasive piscivorous fishes in a temperate and channelized lowland river. *Hydrobiologia*, 852(8), 2187-2206.
- Ozerov, M., Jürgenstein, T., Aykanat, T., & Vasemägi, A. (2015). Use of sibling relationship reconstruction to complement traditional monitoring in fisheries management and conservation of brown trout. *Conservation Biology*, 29(4), 1164-1175.
- Ovidio, M. (2005). Long range seasonal movements of northern pike (*Esox lucius* L.) in the barbel zone of the River Ourthe (River Meuse basin, Belgium). In *Fifth European Conference on Fish Telemetry*.
- Pauwels, I. S., Goethals, P. L., Coeck, J., & Mouton, A. M. (2014). Movement patterns of adult pike (*Esox lucius* L.) in a Belgian lowland river. *Ecology of freshwater fish*, 23(3), 373-382.
- Peterson, B. K., Weber, J. N., Kay, E. H., Fisher, H. S., & Hoekstra, H. E. (2012). Double digest RADseq: an inexpensive method for de novo SNP discovery and genotyping in model and non-model species. *PloS one*, 7(5), e37135.
- Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945-959.
- Wang, J. (2004). "Sibship Reconstruction From Genetic Data With Typing Errors." *Genetics* 166, no. 4: 1963–1979.
- Wang, J. (2009). "A New Method for Estimating Effective Population Size From a Single Sample of Multilocus Genotypes." *Molecular Ecology* 18: 2148–2164.
- Waples, R. S., and C. Do. (2008). "LdNe: A Program for Estimating Effective Population Size From Data on Linkage Disequilibrium." *Molecular Ecology Resources* 8: 753–756.
- Weir, B. S., & Cockerham, C. C. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *evolution*, 1358-1370.
- Whiteley, A. R., Coombs, J. A., Cembrola, M., O'Donnell, M. J., Hudy, M., Nislow, K. H., & Letcher, B. H. (2015). Effective number of breeders provides a link between interannual variation in stream flow and individual reproductive contribution in a stream salmonid. *Molecular Ecology*, 24(14), 3585-3602.
- Wright, S. (1969). Evolution and the Genetics of Populations. VOL 2. The Theory of Gene Frequencies. University of Chicago Press, Chicago.