



apron

Plan national d'actions en faveur de l'apron du Rhône 2012-2016

Action 7: Etudes génétiques
Rapport 2014-2015

Université d'Aix-Marseille, déc. 2015



**PNA apron du Rhône – Action 7 :
Etudes génétiques**

RAPPORT 2014-2015

Janvier 2016

Vincent DUBUT, Simon BARBARY, Rémi GRENIER, Rémi CHAPPAZ
UMR 7263 – IMBE
Equipe Evolution Génome Environnement
Aix-Marseille Université, CNRS, IRD
Centre Saint-Charles, Case 36
3 place Victor Hugo
F-13331 Marseille Cedex 3

Correspondance : vincent.dubut@imbe.fr

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier chaleureusement les nombreuses personnes qui ont participé aux prospections et aux captures de nuit et notamment l'ensemble des techniciens et ingénieurs ONEMA pour leur soutien logistique et leur appui technique lors des campagnes d'échantillonnage. Nous remercions spécialement François Huger et Patrick Gindre pour les campagnes menées sur la Loue, Frédéric Maillot et Patrick Gélibert pour l'échantillonnage sur la Drôme, et Laurent Mendras et son équipe pour les campagnes menées sur l'Ardèche et la Beaume. Les auteurs remercient aussi Mickaël Béjean (Muséum de Besançon) pour son aide et sa disponibilité lors des prélèvements de géniteurs à Besançon, mais aussi pour les précisions qu'il nous a apporté quant au déroulement des opérations de reproduction artificielles et de réintroduction dans la Drôme, mais aussi Gauthier Monnet pour la lecture des écailles des aprons capturés à l'amont du pont de Blacons.

I. CONTEXTE de l'ETUDE

L'apron du Rhône (*Zingel asper* L.) est un poisson de la famille des Percidés endémique du bassin du Rhône. Avant le début du XXe siècle, l'apron était présent sur l'ensemble du bassin du Rhône, incluant le cours principal du fleuve et la majorité de ses affluents (Boutitie 1984 ; Olivier *et al.* 2009). A partir du début du XXe siècle, l'apron va perdre plus de 80% de son aire de répartition initiale. Cette diminution drastique est liée à un impact toujours croissant des activités humaines sur le milieu : fragmentation de l'habitat, perturbation de l'hydraulique et de la géomorphologie naturelles des cours d'eau (en lien avec l'aménagement et l'exploitation de ces cours d'eau) et pollution (Mari *et al.* 2002). Cette espèce est aujourd'hui restreinte à quelques populations qui ne sont pas en connexion biologique (Georget *et al.* 2009), c'est-à-dire qui ne peuvent pas échanger de migrants. En France, seules quatre populations relativement importantes persistent dans le bassin du Rhône : (i) dans le sous-bassin de l'Ardèche, (ii) sur la Loue dans le sous-bassin du Doubs, (iii) dans la Durance et le Buëch, et (iv) dans les Grandes Gorges du Verdon. Une cinquième population est présente sur le cours du Doubs suisse.

La chute de ses effectifs et de la diminution drastique de son aire de répartition ont justifié que l'apron soit aujourd'hui :

- Protégé au niveau national
- Classé « en danger » sur la liste rouge des espèces menacées en France
- Considéré comme « en danger d'extinction » dans le bassin Rhône-Méditerranée-Corse
- Inscrit aux annexes II et IV de la Directive européenne « Habitats-Faune-Flore »
- Inscrit à l'annexe II de la Convention de Berne
- Considéré comme « gravement menacé d'extinction » au niveau mondial (IUCN 2013)

Cette espèce a bénéficié de deux programmes LIFE (LIFE Apron I et LIFE Apron II) lesquels ont été pilotés par Réserve Naturelle de France (1998-2001) et le Conservatoire d'espaces naturels Rhône-Alpes (CEN RA ; 2004-2010).

C'est dans le cadre du Plan National d'Action en cours (2011-2016), piloté par la DREAL Rhône-Alpes et coordonné par le CEN Rhône-Alpes, que notre travail s'insère. Il vise à répondre aux objectifs de la Fiche-Action N°7 « Etudes Génétique » concernant l'impact du cloisonnement sur la structure et la diversité génétique des populations d'apron.

Le présent rapport présente les résultats obtenus au cours des années 2014 et 2015. La première partie de ce rapport entérine la finalisation de l'échantillonnage effectué dans les Bassins de l'Ardèche et de la Loue.

La deuxième partie de ce rapport présente les résultats du monitoring génétique des opérations de réintroductions menées depuis 2006 (dans le cadre du LIFE Apron II et poursuivies dans le cadre du PNA), résultats notamment obtenus dans le cadre du stage de Master 2 de Simon Barbary en 2015. Ce travail a deux objectifs : 1) évaluer l'impact des opérations de reproduction en captivité menées de 2008 à 2014 au Muséum de Besançon sur plusieurs paramètres démogénétiques de l'apron (richesse allélique, effectif efficace, taux d'apparentement et de consanguinité moyen), et 2) mettre en évidence de la reproduction dans la Drôme suite à l'opération de réintroduction.

II. FINALISATION de l'ECHANTILLONNAGE : Secteurs Ardèche et Loue

Avec le soutien logistique et technique de l'ONEMA, l'année 2015 a permis de finaliser l'échantillonnage sur les secteurs Ardèche et Loue. Pour le Bassin de l'Ardèche, les campagnes de prélèvement de nageoires ont concerné l'aval du **seuil de Sous-Roche (30 individus** capturés le 03/06/2015) et l'aval du **seuil de Salavas (30 individus** capturés le 04/06/2015). Concernant la Loue, **30 individus** ont été prélevés le 09/09/2015 à l'aval du **seuil de Buffard**. Ces individus supplémentaires seront poolés à ceux prélevés en 2012, 2013 et 2014 contribuant ainsi à augmenter les effectifs par tronçon et à déterminer avec plus de précision l'impact du cloisonnement sur la diversité et la connectivité des populations d'aprons dans le bassin de l'Ardèche et sur la Loue.

Enfin, il sera essentiel en 2016 de pouvoir échantillonner l'**amont du seuil de Lanas** afin d'évaluer l'effet du décloisonnement occasionné par la mise en place en 2009 d'une passe dimensionnée apron sur l'ouvrage (programme LIFE II).

III. SUIVI de l'OPERATION de REINTRODUCTION dans la DROME

III.1. Bref historique des opérations de réintroduction sur la Drôme

Dans le cadre du Life II Apron, une opération pilote de réintroduction de l'apron dans la Drôme a été conduite à partir de 2006. La première année de cette opération pilote, 30 adultes de souche Beaume et 10 adultes de souche Durance ont été introduits dans la rivière Drôme. De 2008 à 2012, ce sont principalement des juvéniles d'aprons de souche Beaume qui ont été réintroduits. Les opérations de réintroduction ont concerné principalement deux secteurs : un secteur situé sur la commune de Mirabel-et-Blacons et un secteur situé sur la commune de Sainte-Croix et Pontaix. En 2008, certains alevins ont aussi été réintroduits sur la Drôme au niveau de la confluence avec le Bès. Le maintien des aprons réintroduits a pu être mis en évidence par les suivis effectués par l'ONEMA avant et après chaque opération. A partir de 2013, des juvéniles de souches Durance ont pu être réintroduit au niveau de Sainte-Croix, alors que la réintroduction de juvéniles de souche Beaume s'est poursuivi sur le secteur de Mirabel-et-Blacons.

Deux groupes de géniteurs de souche Beaume dont les descendants ont été réintroduits sur la Drôme peuvent être distingués. Un premier groupe de géniteurs a été constitué à partir de 41 individus nés en captivité à la Réserve de la gare des Ramières, eux-mêmes issus de géniteurs originaires de la rivière Beaume. Par commodité, ce premier groupe de géniteur sera identifié

comme de souche « Ramières » et les individus le constituant seront codés RAM. Une partie de leurs descendants nés en 2005 ont participé aux opérations de réintroduction en 2006, alors qu'une autre partie a été retenue pour constituer une nouvelle cohorte de géniteurs (codés RG5), dont les descendants ont été réintroduits dans la Drôme en 2008 et 2009.

Le second groupe de géniteurs de souche Beaume a été constitué à partir de 17 individus capturés en décembre 2007 dans la rivière Beaume (codés BSV). Une partie de la génération née en 2008 issue de ces géniteurs a été réintroduite sur la Drôme en 2008, une autre partie (50 individus issus de 10 pontes différentes) a été retenue pour constituer un nouveau groupe de géniteurs (codé C08). Les descendants du groupes C08 ont été réintroduits sur la Drôme à partir de 2010, et ce jusqu'en 2015. Ce sont les descendants directs de ce groupe C08 qui participeront une dernière fois à l'opération de réintroduction de juvéniles de souche Beaume en 2015 sur le secteur Mirabel-et-Blacons. Une autre partie des descendants directs des individus C08 ont été conservés au Muséum de Besançon dans un but d'exposition. Ces individus (codés C8D) se sont reproduits, et leur descendants directs ont été réintroduits dans la Drôme de 2012 à 2014.

Il faut préciser que le groupe de juvéniles réintroduits en 2008 (928 individus) est assez hétérogène. Il est à la fois composé de descendants directs des géniteurs BSV (~50%), de descendants directs des géniteurs RG5 (~20%), mais aussi d'individus issus d'un stripping entre une femelle BSV et un mâle RG5 (~30%).

Un groupe de 18 géniteurs de souche Durance a été constitué en 2012, à l'occasion d'une pêche de sauvetage en lien avec la vidange de canaux usiniers EDF. En 2013, deux individus supplémentaires (issus du même contexte) ont été joints au groupe de 2012. Ce groupe de géniteurs est codé V4V5. La plus grande partie de leurs descendants directs ont été réintroduits dans la Drôme dans le secteur de Sainte-Croix au début des étés 2013 et 2014. Parallèlement, un groupe de 40 individus nés en 2013 (codés D13) et un groupe d'une quarantaine d'individus nés en 2014 (codés D14) ont été maintenu au Muséum de Besançon. Ce groupe d'individus D13+D14 sera ici considéré comme un échantillon représentatif des alevins de souche Durance réintroduits en 2013 et 2014. En 2014, les géniteurs V4V5 ont été relâchés dans la Drôme dans le secteur de Pontaix / Ste-Croix. Les individus D13+D14 ont à leur tour participés à la reproduction en captivité en 2015. Un échantillon de leur descendants a été échantillonné (codé D15), et sera considéré comme représentatifs des alevins de souche Durance réintroduits en 2015.

III.2. Analyses Génétiques et Statistiques

L'extraction de l'ADN est réalisée à partir des fragments de nageoire caudale prélevés lors des campagnes d'échantillonnage (Cf. ci-dessous pour le détail par secteur géographique) et préservés dans l'éthanol 96%. L'extraction est réalisée grâce au kit Gentra® Puregene® Tissue Kit (QIAGEN).

Pour chaque individu, une séquence de l'ADN mitochondrial d'une longueur de 1201 paires de bases et contenant le gène du cytochrome *b* a été obtenu par séquençage Sanger. Afin de détecter le signal en lien avec les événements récents de fragmentation anthropique du milieu durancien, et de la dégager du signal lié à l'histoire évolutive de l'espèce, **54 marqueurs** microsatellites (Dubut *et al.* 2010) ont été analysés.

Le présent rapport focalisera sur les résultats issus de l'analyse des microsatellites (les résultats des analyses concernant l'ADN mitochondrial seront fournis dans un rapport ultérieur, dans le contexte du Bassin Rhodanien dans son ensemble).

Une **analyse bayésienne d'assignation** implémentée par le logiciel STRUCTURE (Falush *et al.* 2003, 2007) a été menée afin d'identifier la souche (Beaume ou Durance) des aprons capturés dans la Drôme.

Afin d'évaluer l'impact du programme de reproduction en captivité sur les paramètres démogénétiques de l'aprons, les indices suivants ont été estimés : (i) la **richesse alléliques** (**Ar**), (ii) l'**effectif efficace** (**Ne**), paramètre en lien étroit avec le nombre d'adultes participants à la reproduction, (iii) le **coefficient d'apparentement** moyen (**R**) et le **coefficient de consanguinité** moyen (**F**). Ar a été estimé grâce au logiciel ADZE (Szpiech *et al.* 2008) qui prend en compte les tailles différentes des échantillons. Ne a été estimé selon deux approches, celle basée sur le déséquilibre de liaison entre les loci (**Ne_{LD}**), implémentée par LDNe (Waples & Do 2008) et celle basée sur le taux d'apparentement entre individus (**Ne_{RM}**) implémentées par COLONY (Jones & Wang 2010). R et F ont été estimés grâce au logiciel COANCESTRY (Wang 2011) selon l'approche TrioML (Wang 2007). L'estimation des indices F et R est très dépendante des fréquences alléliques. Or, les fréquences alléliques dans la Beaume et dans la Durance sont différentes (Laroche & Durand 2004). Aussi afin de mener des comparaisons pertinentes, seules les estimations de ces paramètres ont été conduites avec les individus de souche Beaume d'une part et les individus de souche Durance d'autre part. Les comparaisons de ces paramètres ne pourront se faire qu'à l'intérieur de ces deux groupes, et non entre les deux groupes.

Afin de détecter de la reproduction dans la rivière Drôme suite aux opérations successives de réintroduction, des analyses de parenté ont été conduites grâce au logiciel COLONY à partir

des données microsatellites. L'approche dite du Maximum de Vraisemblance (Wang & Santure 2009) a été privilégiée. Lors de cette analyse, les apons capturés dans la Drôme en 2015 pouvaient être les descendants des individus échantillonnés au Muséum de Besançon (voir ci-dessous) et de ceux capturés dans la Drôme de 2011 à 2014. L'analyse permettait aussi que des apons capturés dans la Drôme en 2015 puissent être les parents d'autres apons (plus jeunes) capturés dans la Drôme en 2015.

III.3. Echantillonnage

En 2014 et 2015, des individus de l'ensemble des groupes de géniteurs décrits plus haut (BSV, RAM, RG5, C08, C8D, V4V5, D13+D14) ainsi que 49 individus du groupe D15 ont pu être échantillonnés au Muséum de Besançon.

Tableau 1. Apons capturés dans la rivière Drôme en 2011, 2012, 2013 et 2014.

ID	Taille (mm)	Lieu de capture	Date de capture
DRO2011	145	Saillans	07/10/2011
11PBLDb1	138	Pont de Blacons	04/11/2011
11PBLDb2	140	Pont de Blacons	04/11/2011
11PBLDb3	142	Pont de Blacons	04/11/2011
11PBLDb4	145	Pont de Blacons	04/11/2011
12SAI01	120	Saillans	27/08/2012
12SAI02	135	Saillans	27/08/2012
12SCXD1	<i>nc</i>	Sainte-Croix	21/08/2012
12SCXD2	<i>nc</i>	Sainte-Croix	21/08/2012
12SCXD3	<i>nc</i>	Sainte-Croix	21/08/2012
12SCXD4	<i>nc</i>	Sainte-Croix	21/08/2012
12SCXD5	<i>nc</i>	Sainte-Croix	21/08/2012
12SCXD6	<i>nc</i>	Sainte-Croix	21/08/2012
13SAI01	<i>0+</i>	Saillans	2013
13SAI02	<i>adulte</i>	Saillans	2013
13SCXC1	125	Sainte-Croix	2013
13SCXD1	140	Sainte-Croix	2013
14SAI01	120	Saillans	05/09/2013
14SAI02	60	Saillans	05/09/2013
14SCX01	75	Sainte-Croix	21/10/2013
14SCX02	120	Sainte-Croix	21/10/2013
14SCX03	120	Sainte-Croix	21/10/2013
14SCX04	120	Sainte-Croix	21/10/2013
14SCX05	75	Sainte-Croix	21/10/2013
14SCX06	75	Sainte-Croix	21/10/2013
14SCX07	78	Sainte-Croix	21/10/2013
14SCX08	125	Sainte-Croix	21/10/2013
14SCX09	75	Sainte-Croix	21/10/2013

A ce groupe s'ajoutent des échantillons considérés ici comme représentatifs de la diversité génétique des deux populations sources : 52 aprons capturés en 2002 (codés **02PLT**) et 29 aprons capturés en 2012 (codés **12PLT**) dans la Beaume au lieu-dit Les Platanes, ainsi que 41 individus capturés dans la Durance à l'aval du seuil de Salignac en 2014 (codés **SALN**).

Au cours de prospections de suivi des opérations de réintroduction menées en 2011, 2012, 2013 et 2014, l'ONEMA a pu capturer **28 aprons** dans la rivière Drôme et prélever un fragment de nageoire en vue d'analyses génétiques (Cf. **Tableau 1**).

En 2015, un effort important d'échantillonnage dans la Drôme a été conduit, en coordination avec le SD26 de l'ONEMA. Trois secteurs ont été prospectés : Pontaix / Ste-Croix (**46 individus** codés **15PSX**) le 28 mai 2015, Saillans (**3 individus** codés **15SAI**) le 6 août 2015 et l'aval et l'amont du pont de Blacons (échantillon codé **15PBL**) le 16 juillet 2015 (voir **Tableau 3** pour les tailles de individus). Les aprons capturés à l'amont du seuil du pont de Blacons (**7 individus** codés **PBM**) ont été distingués de ceux capturés à l'aval du seuil (**26 individus** codés **PBV**) afin de pouvoir détecter un éventuel franchissement du seuil par montaison.

III.4. Reproduction en captivité et paramètres démogénétiques

Les paramètres démogénétiques estimés pour les échantillons d'aprons utilisés ou issus du programme de reproduction en captivité menée au Muséum de Besançon de 2008 à 2015 sont reportés dans la **Tableau 2**. Les valeurs pour l'échantillon BSV sont données à titre indicatif, la taille réduite de l'échantillon ($n = 12$) ne permettant pas d'obtenir des estimations fiables.

Comme déjà observés (Laroche & Durand 2004), les indices de diversité A_r estimés pour les populations sauvages duranciennes (V4V5 et SALN) sont supérieurs à ceux des populations sauvages de la Beaume (02PLT et 12PLT). Cette diversité génétique plus importante est associée à un effectif efficace (N_e) supérieur dans la Durance comparativement à la Beaume, surtout si l'on considère l'indice N_{eLD} . **Ces résultats soulignent que le potentiel adaptatif de la Durance est vraisemblablement supérieur à celui de la Beaume.** En effet, il a été montré expérimentalement qu'un plus grand nombre d'allèles potentialise l'adaptation d'une population à des changements environnementaux (pour un exemple récent voir Vilas et al. 2015). Cependant, on observe dès la première génération d'aprons nés en captivité, ceux issus d'individus sauvages (RAM et C08 pour la souche Beaume et D13+D14 pour la souche Durance), une réduction drastique du N_e . Par exemple, pour la souche Beaume, on passe d'un N_{eRM} dont la moyenne est comprise entre 49 et 71 individus si l'on considère les deux échantillons de comparaison sauvages (02PLT et 12PLT) à un N_{eRM} de 6-7 individus pour

C08 et RAM. Pour la Durance les populations sauvages (V4V5 et SALN) ont un Ne_{RM} compris entre 79 et 87 individus, alors que la première génération d'aprons né en captivité présent un Ne_{RM} de 11 individus. Si on s'attache à l'indice Ne_{RM} on observe donc une réduction du Ne d'un facteur de 7-8 dès la première génération, ce facteur étant encore plus important (jusqu'à plus de 100) si on considère l'indice Ne_{LD} . Cette diminution du Ne est associée à une réduction de la richesse allélique, passant de 3,25 en moyenne dans les populations sauvages de la Beauce à environ 2,60 au sein des aprons de la première génération née en captivité et de 4,09 pour les populations sauvages de la Durance à 3,33 pour dans le groupe D13+D14.

Tableau 2. Paramètres démogénétiques des aprons.

	Echantillon	Effectif (N)	Ar_{29}	Ne_{RM} [IC 95%]	Ne_{LD} [IC 95%]	R	F
Souche Beauce	O2PLT	52	3,24	71 [48 ; 108]	145,4 [111,5 ; 204,3]	0,053	0,038
	12PLT	29	3,26	49 [29 ; 84]	116,7 [77,7 ; 221,2]	0,070	0,041
	BSV	12	n.d.	38 [17 ; 234]	4,2 [3,1;5,6]	0,086	0,042
	C08	41	2,69	6 [3 ; 21]	5,1 [4 ; 6,1]	0,286	0,034
	C8D	88	2,71	34 [22 ; 56]	26,2 [23 ; 27,6]	0,257	0,083
	RAM	29	2,48	7 [4 ; 21]	6,9 [5,8 ; 8,1]	0,295	0,068
Souche Durance	SALN	40	4,06	87 [56 ; 141]	+ ∞ [1030 ; + ∞]	0,036	0,026
	V4V5	30	4,11	79 [49 ; 140]	1619,8 [295,8 ; + ∞]	0,038	0,058
	D13+D14	75	3,33	11 [5 ; 26]	12,3 [11,7 ; 13]	0,193	0,046
	D15	49	3,24	24 [14 ; 42]	25,1 [23,1 ; 27,4]	0,198	0,110
Drôme	15DRO	81	3,60	14 [8 ; 30]	10,6 [10,1 ; 10,2]	0,162	0,112
	15PBL	33	3,00	24 [14 ; 44]	21,7 [19,1 ; 24,8]	0,279	0,111
	15PSX	46	3,25	6 [3 ; 21]	10,3 [9,6 ; 11]	0,220	0,065

n.d. : paramètre non estimé

Concernant les aprons de la seconde génération nés en captivité, et dont les parents sont de la première génération en captivité, on n'observe pas de diminution sensible de la richesse allélique, et les Ne tendent à augmenter. Ces deux observations peuvent être mises en relation avec le nombre d'individus plus important qui participe effectivement à la reproduction comparativement à celui des individus de souche sauvage.

Si on compare les résultats obtenus pour les aprons nés en captivité avec les estimations obtenues pour les aprons capturés dans la Drôme en 2015, on observe que globalement la richesse allélique dans la Drôme est similaire à celle observée dans les populations sauvages

de la Beaume. Les aprons capturés dans la Drôme rassemblent en effet des individus issus de deux lots de géniteurs de souche Beaume (ceux capturés en 2007 et ceux capturés en 2005, parents de l'échantillon RAM), mais aussi des individus issus de géniteurs de souche Durance Ramières. **Ce résultat montre l'intérêt d'avoir un nombre de reproducteurs effectifs important afin de limiter l'érosion de la diversité génétique.** Néanmoins, le N_e des aprons de la Drôme reste très faible, entre 6 dans le secteur de Pontaix / Ste-Croix et 24 dans le secteur de Blacons.

L'impact de la reproduction en captivité a aussi un effet sur le taux d'apparentement moyen des aprons, et sur le coefficient moyen de consanguinité (Tableaux 2, 3 et 4 ; Figures 1 et 2).

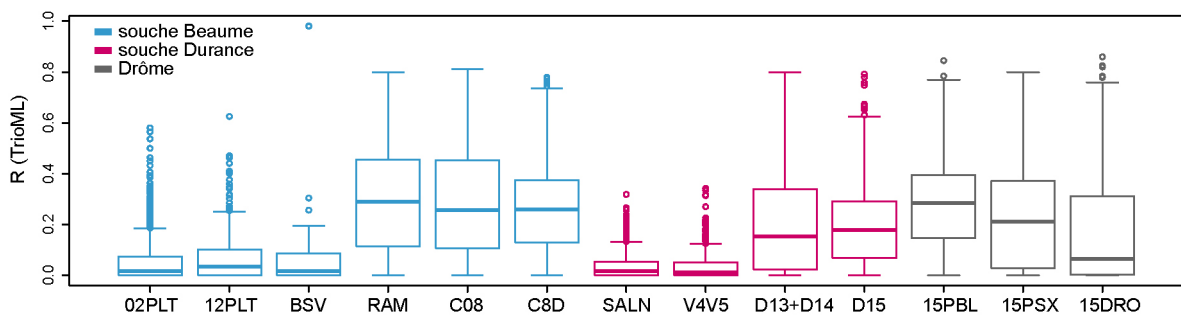


Figure 1. Box-plot des taux d'apparentement (R) des aprons.

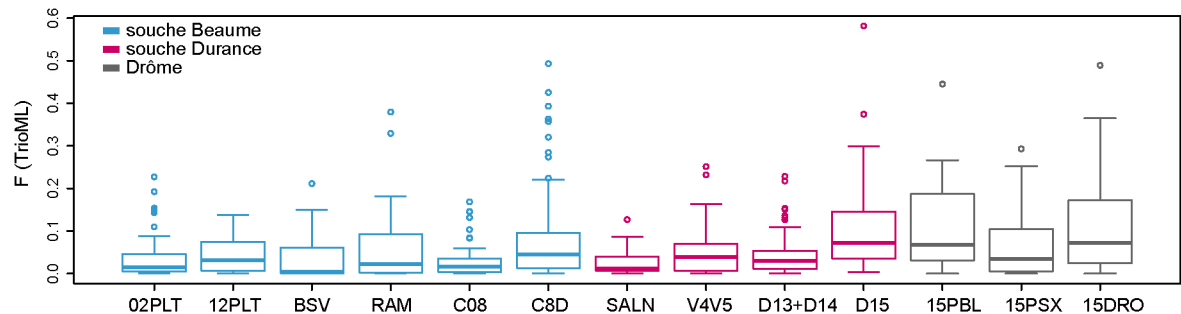


Figure 2. Box-plot des coefficients de consanguinité (F) des aprons.

Au sein de la première génération d'aprons nés en captivité (RAM et C08 pour la souche Beaume ; D13+D14 pour la souche Durance), le taux d'apparentement moyen (R) est significativement supérieur à celui observé dans les populations sauvages, et les moyennes restent relativement stables (quoique significativement différentes) entre la première et la deuxième génération (voir C08 vs. C8D et D13-D14 vs. D15).

Le coefficient de consanguinité n'augmente pas significativement au sein de la première génération née en captivité comparativement à celui mesuré dans les populations sauvages. En revanche, ce coefficient augmente significativement à la deuxième génération (Cf. D15

vs. D13+D14 et C8D vs. C08), des individus partageant au moins un parent pouvant être amenés à se reproduire ensemble. On note que le taux de consanguinité des aprons de souche Beaume dans la Drôme à Blacons (15PBL) est relativement élevé ($F = 0,11$) et similaire à celui observé pour C8D ($F = 0,08$) (Tableaux 2 et 3).

Tableau 3. Comparaisons de moyenne de F (demi-matrice supérieure) et R (demi-matrice inférieure) : Souche Beaume

	02PLT	12PLT	RAM	C08	C8D	15PBL
02PLT	-	n.s.	n.s.	n.s.	**	**
12PLT	n.s.	-	n.s.	n.s.	n.s.	*
RAM	**	**	-	n.s.	n.s.	n.s.
C08	**	**	n.d.	-	**	**
C8D	**	**	n.d.	*	-	n.s.
15PBL	**	**	n.s.	n.s.	*	-

n.d. : paramètre non estimé ; n.s. : test de comparaison des moyenne non significatif

Tableau 3. Comparaisons de moyenne de F (demi-matrice supérieure) et R (demi-matrice inférieure) : Souche Durance

	V4V5	SALN	D13+D14	D15	15PSX
V4V5	-	n.s.	n.s.	*	n.s.
SALN	n.s.	-	n.s.	**	n.s.
D13+D14	**	**	-	**	n.s.
D15	**	**	**	-	*
15PSX	**	**	**	*	-

n.d. : paramètre non estimé ; n.s. : test de comparaison des moyenne non significatif

La perte de diversité génétique, la réduction importante de l'effectif efficace et un taux de consanguinité élevé au sein des populations d'aprons réintroduites est inévitablement dues au nombre limité de géniteurs participant de façon effective à la reproduction en milieu contrôlé. Pour éviter ces phénomènes pouvant nuire à la viabilité de la population réintroduite, le renouvellement régulier des reproducteurs mis en place dès 2015 avec la capture de 30 aprons sauvage dans la Durance apparaît essentiel.

III.5. Mise en évidence de reproduction dans la Drôme

Le succès d'une opération de réintroduction est lié à la viabilité de la population réintroduite. Un indice de viabilité peut être amené par la mise en évidence d'individus nés sur le site de réintroduction. Deux approches ont été mise en œuvre pour détecter de la reproduction. La première met à profit le fait que deux souches (Beaume et Durance) ont été utilisées pour

l'opération de réintroduction sur la Drôme. Ces souches étant différenciées génétiquement, des tests d'assignation pourront détecter des hybrides entre les deux souches.

Les analyses préliminaires (Dubut et al. 2013) avaient suggéré qu'un des deux individus capturés à Saillans en 2012 (code 12SAI02) présentait $\sim 1/8^e$ de son génome similaire identique à celui des aprons natifs de la Drôme capturés en 1996 et 1997. Néanmoins, des analyses de parentés (Barbary 2015) ont pu montrer que ce résultat n'était pas fondé. En effet, comme pour l'ensemble des individus capturés dans la Drôme entre 2011 et 2014, au moins un de ses deux parents a pu être identifié comme faisant partie des géniteurs du Muséum de Besançon. L'individu 12SAI02, comme tous les individus capturés dans la Drôme avant 2015, était né à Besançon.

Les analyses d'assignation ont été conduites sur l'ensemble des individus capturés sur la Drôme entre 2011 et 2015 (**Figure 3**). Ces nouvelles analyses montrent la nature artéfactuelle du résultat obtenu en 2013 pour l'individu 12SAI02 (cet individu est entièrement de souche Beauce). En revanche, au sein des individus capturés en 2015 à l'aval du Pont de Blacons (15PBV), deux individus (15PBV08 et 15PBV26) apparaissent clairement présenter la moitié de leur génome qui est d'origine Beauce, l'autre moitié d'origine Durance (**Figure 3**).

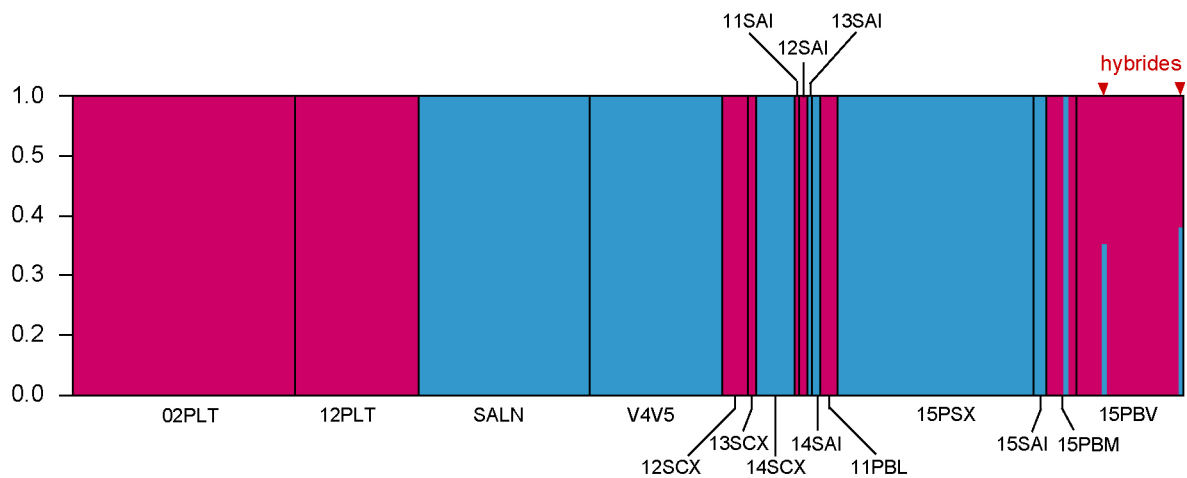


Figure 3. Barplot issu des analyses d'assignation.

En rose, le cluster Beauce, en bleu le cluster Durance. Chaque individu est représenté par une barre verticale, chaque barre synthétisant le taux d'assignation à chacun des clusters.

Au-delà de la détection de ces deux individus hybrides, on observe plusieurs éléments en lien avec la dynamique de la population réintroduite. Dès 2013, la souche Durance est détectée à Saillans et à partir de 2015, elle est détectée à Blacons : un individu de souche Durance à l'amont du pont (15PBM31) et les deux hybrides décrits plus haut à l'aval du pont. La souche Durance ayant été réintroduite seulement à partir de 2013 à plusieurs kilomètres en amont (Sainte-Croix), ces détections d'aprons de souche Durance à Saillans dès 2013 et à Blacons à

partir de 2015 **soulignent la capacité de dispersion des aprons, au moins à la dévalaison dans notre cas, et son importance dans la colonisation de la rivière** (voir aussi Danancher *et al.* 2008).

Ensuite si on considère le secteur de Sainte-Croix, on assiste dès 2014 à un remplacement de la souche Beaume (réintroduite sur ce site de 2008 à 2010) par la souche Durance (réintroduite sur le site à partir de 2013). **Cette observation suggère que 1) la survie des aprons ne se prolonge pas au-delà de 3 ans sur ce secteur et 2) qu'il n'y a pas eu de reproduction notable qui aurait permis de pérenniser la souche Beaume dans la secteur de Sainte-Croix.**

Ce résultat contraste avec les observations faites au niveau du pont de Blacons. En effet, dans ce secteur, les deux souches sont retrouvées, et c'est sur ce secteur que les **analyses de parenté** ont permis de détecter 7 individus nés sur la rivière Drôme (individus en rouge dans la **Tableau 4**). En effet, pour 6 individus (PBV01-08-22-23-24-26), aucun parent n'a pu être identifié parmi les géniteurs connus du Muséum de Besançon, et pour un individu (15PBM30), un de ses parents avait été capturé à Saillans en 2011 (DRO2011, voir aussi Tableau 1). **Le secteur aval (entre Saillans et Blacons) présenterait des conditions écologiques plus favorables à l'aprons (comparativement au secteur de Pontaix / Sainte-Croix), permettant notamment à l'aprons de se reproduire, 20% (7/33) des individus capturés au niveau du pont de Blacons étant nés dans la Drôme.**

Enfin, des analyses scalimétriques complémentaires ont permis de déterminer l'âge des individus de souche Beaume capturés à l'amont du Pont de Blacons (15PBM27-28-29-32-33). Il s'agit de deux 1+, de deux 2+ et d'un 3+. Ces aprons de souche Beaume sont nés en captivité (Cf. **Figure 3** et **Tableau 4**). Dans la mesure où aucun apron de souche Beaume n'a été relâché à l'amont du seuil depuis 2010, **les analyses mettent en évidence que l'apron est capable de franchir le seuil du pont de Blacons à la montaison.**

Tableau 4. Résultats des analyses de parenté conduite sur les aprons capturés dans la Drôme en 2015

Individu	T _F (mm)	Parent 1	Parent 2	Souche
15SAI01	136	V406	V418	Durance
15SAI02	102	V406	V418	Durance
15SAI03	101	V417	V418	Durance
15PBM27	131	C0803	n.d.	Beaume
15PBM28	142	C0801	C0817	Beaume
15PBM29	122	C8D04	C8D10	Beaume
15PBM30	130	DRO2011	n.d.	Beaume
15PBM31	131	V407	V418	Durance
15PBM32	103	C8D62	C8D64	Beaume
15PBM33	107	C0803	C0805	Beaume
15PBV01	130	n.d.	n.d.	Beaume
15PBV02	126	C0803	n.d.	Beaume
15PBV03	125	C8D33	n.d.	Beaume
15PBV05	104	C8D32	n.d.	Beaume
15PBV06	111	C8D33	n.d.	Beaume
15PBV07	116	C8D56	C8D64	Beaume
15PBV08	102	n.d.	n.d.	Hybride
15PBV09	111	C8D33	n.d.	Beaume
15PBV10	121	C8D33	n.d.	Beaume
15PBV11	114	C0801	C0813	Beaume
15PBV12	111	C0803	C0805	Beaume
15PBV13	101	C0805	n.d.	Beaume
15PBV14	116	C8D11	C8D12	Beaume
15PBV15	113	C8D35	n.d.	Beaume
15PBV16	107	C0801	C0808	Beaume
15PBV17	105	C8D11	C8D64	Beaume
15PBV18	110	C0801	C0817	Beaume
15PBV19	109	C8D04	C8D10	Beaume
15PBV20	103	C0805	C0808	Beaume
15PBV21	122	C0803	C0805	Beaume
15PBV22	113	n.d.	n.d.	Beaume
15PBV23	116	n.d.	n.d.	Beaume
15PBV24	116	n.d.	n.d.	Beaume
15PBV25	105	C8D33	n.d.	Beaume
15PBV26	103	n.d.	n.d.	Hybride
15PSX01	83	V406	V418	Durance
15PSX02	83	V419	V425	Durance
15PSX03	71	V406	V419	Durance
15PSX04	87	V418	V425	Durance
15PSX05	118	V407	V419	Durance
15PSX06	86	V418	V420	Durance

n.d. : parent non identifié par la reconstruction de parenté

Tableau 4 (suite). Résultats des analyses de parenté conduite sur les aprons capturés dans la Drôme en 2015

Individu	T _F (mm)	Parent 1	Parent 2	Souche
15PSX07	75	V406	V418	Durance
15PSX08	80	V418	V425	Durance
15PSX09	68	V419	V426	Durance
15PSX10	82	V418	V420	Durance
15PSX11	86	V418	V420	Durance
15PSX12	88	V418	V425	Durance
15PSX13	78	V407	V419	Durance
15PSX14	83	V409	V418	Durance
15PSX15	80	V419	V425	Durance
15PSX16	123	V418	V420	Durance
15PSX17	83	V409	V418	Durance
15PSX18	125	V419	V425	Durance
15PSX19	82	V419	V420	Durance
15PSX21	84	V418	V425	Durance
15PSX22	85	V407	V418	Durance
15PSX23	88	V418	V420	Durance
15PSX24	82	V409	V419	Durance
15PSX25	88	V419	V425	Durance
15PSX26	81	V418	V420	Durance
15PSX27	84	V418	V425	Durance
15PSX28	82	V406	V419	Durance
15PSX29	86	V407	V418	Durance
15PSX30	84	V406	V419	Durance
15PSX31	70	V417	V418	Durance
15PSX32	74	V406	V418	Durance
15PSX33	76	V406	V418	Durance
15PSX34	130	V419	V420	Durance
15PSX35	125	V406	V418	Durance
15PSX36	127	V414	V418	Durance
15PSX37	127	V416	V418	Durance
15PSX38	134	V419	V420	Durance
15PSX39	118	V419	V420	Durance
15PSX40	132	V414	V418	Durance
15PSX41	118	V414	V418	Durance
15PSX42	116	V416	V418	Durance
15PSX44	134	V416	V418	Durance
15PSX45	129	V419	V425	Durance
15PSX46	120	V416	V418	Durance
15PSX47	130	V419	V425	Durance
15PSX48	135	V416	V418	Durance

n.d. : parent non identifié par la reconstruction de parenté

V. CONCLUSIONS et PERSPECTIVES

Ce travail a permis de mettre en évidence l'impact des pratiques d'élevage en captivité menée de 2008 à 2015 sur les paramètres démogénétiques des aprons. Il souligne encore une fois l'importance de **renouveler régulièrement les géniteurs pour éviter une diminution trop importante du potentiel adaptatif** des aprons réintroduits. Il montre aussi que **l'utilisation d'apron nés en captivité pour produire des alevins augmente la consanguinité**, potentialisant son impact négatif sur la viabilité des populations réintroduites.

Un des résultats forts de ce travail est très encourageant pour la suite de l'opération de réintroduction de l'apron dans la rivière Drôme : pour la première fois, il a pu être **mis en évidence plusieurs individus nés dans la Drôme**, issus des aprons réintroduits. Ce travail a permis en outre de mettre en évidence la **franchissabilité à la montaison du seuil du pont de Blacons**.

L'opération de réintroduction dans la rivière Drôme va se poursuivre jusqu'en 2018. Le monitoring génétique de l'opération est programmé jusqu'en 2020. Ce monitoring permettra de suivre en détail l'évolution de deux types d'indicateurs clefs pour la viabilité à terme de la population réintroduite : les paramètres démogénétiques et la reproduction dans la rivière. Un échantillonnage poussé du secteur de réintroduction associé aux analyses de parenté permettra en effet de suivre l'évolution de la reproduction dans la Drôme. Concernant les paramètres démogénétiques une baisse des coefficients d'apparentement et de consanguinité est notamment attendue grâce à l'introduction de nouveaux géniteurs de souche Durance dans le programme de reproduction en captivité (30 nouveaux géniteurs par an sur la période 2016-2018).

V. BIBLIOGRAPHIE

- Barbary (2015) *Analyses de parenté et évaluation d'un programme de réintroduction d'une espèce en danger d'extinction : l'apron du Rhône (Zingel asper L. 1758)*. Mémoire de Master 2 Ecologie Evolution Biométrie, Université Lyon I, 47 pp.
- Boutitie F (1984) *L'apron Zingel asper L. (Percidae), poisson rare menacé de disparition (biologie, répartition, habitat)*. Rapport de DEA Écologie des Eaux Continentales, Université Lyon I, 27 pp.
- Danancher D, Izquierdo JI, García-Vásquez E (2008) Microsatellite analysis of relatedness structure in young of the year of the endangered *Zingel asper* (Percidae) and implications for conservation. *Freshwater Biology*, 53:546-557.
- Dubut V, Grenier R, Megléczy E, Chappaz R, Costedoat C, Danancher D, Descloux S, Malausa T, Martin JF, Pech N, Gilles A (2010) Development of 55 novel polymorphic microsatellite loci for the critically endangered *Zingel asper* L. (Actinopterygii: Perciformes: Percidae) and cross-species amplification in five other percids. *European Journal of Wildlife Research*, 56: 931-938.
- Dubut V, Gilles A, Chappaz R (2013) *PNA apron du Rhône – Action 7 : Etudes génétiques. Rapport 2013-2014*. 17 p.
- Falush D, Stephens M, Pritchard JK (2003) Inference of population structure using multilocus genotype data: Linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* 164: 1567-1587.
- Falush D, Stephens M, Pritchard JK (2007) Inference of population structure using multilocus genotype data: Dominant markers and null alleles. *Molecular Ecology Notes* 7: 574-578.
- Georget M, Roche P, Langon M (2009) *Bilan de l'état des populations d'apron du Rhône*. Rapport du Life apron II, CREN, ONEMA, 55 p.
- Jones OR, Wang J (2010) COLONY: a program for parentage and sibship inference from multilocus genotype data. *Molecular Ecology Resources* 10: 551-555.
- Laroche J, Durand JD (2004). Genetic structure of fragmented populations of a threatened endemic percid of the Rhone river: *Zingel asper*. *Heredity* 92: 329-334.
- Mari S, Labonne J, Gaudin P (2002) A conservation strategy for *Zingel asper*, a threatened endemic percid of the Rhône basin. In: Collares-Pereira MJ, Cowx IG, Coelho MM (eds) *Conservation of freshwater fishes: Options for the future*. Fishing News Books, Oxford, pp 149-156

- Olivier JM, Carrel G, Lamouroux N, Dole-Olivier MJ, Malard F, Bravard JP, Amoros C (2009) The Rhône River Basin. In: Tockner K, Uehlinger U, Robinson CT (eds) *Rivers of Europe*. Academic Press, Amsterdam, pp. 247-295
- Szpiech ZA, Jakobsson M, Rosenberg NA (2008) ADZE: a rarefaction approach for counting alleles private to combinations of populations. *Bioinformatics* 24: 2498-2504.
- Vilas A, Pérez-Figueroa A, Quesada H, Caballero A (2015) Allelic diversity for neutral markers retains a higher adaptive potential for quantitative traits than expected heterozygosity. *Molecular Ecology* 24: 4419-4432.
- Waples RS, Do CHI (2008) LDNE: a program for estimating effective population size from data on linkage disequilibrium. *Molecular Ecology Resources* 8: 753-756.
- Wang J (2007) Triadic IBD coefficients and applications to estimating pairwise relatedness. *Genetical Research* 89, 135-153.
- Wang J (2011) COANCESTRY: a program for simulating, estimating and analysing relatedness and inbreeding coefficients. *Molecular Ecology Resources* 11: 141-145.
- Wang J, Santure A (2009) Parentage and sibship inference from multilocus genotype data under polygamy. *Genetics* 181: 1579-1594.



Etude s'inscrivant dans le cadre du PNA Apron, animé par le



Et coordonné par la DREAL Rhône-Alpes



Direction régionale de l'environnement
RHÔNE-ALPES

Partenaires financiers du PNA:

