



**Agrocampus Ouest**  
65 rue de Saint Brieuc  
CS 84215  
35042 Rennes Cedex  
Tél : 02 23 48 55 00

**INRA-UMR ESE**  
65 rue de Saint Brieuc  
CS 84215  
35042 Rennes Cedex  
Tel : 02 23 48 54 40

### Mémoire de Fin d'Etudes

#### DIPLOME D'INGENIEUR AGRONOME

Spécialisation : Génie de l'Environnement

Option : Sol, Eau, Hydrosystèmes

**Etude de la différenciation et de la dispersion des populations des deux espèces d'Aloses (*Alosa spp*) en France : apport de la génétique des populations et de la microchimie des otolithes**



*Alosa alosa*



*Alosa fallax*

Par : Mr Rougemont Quentin

Soutenu le : 13/09/2012



**Agrocampus Ouest**  
65 rue de Saint Brieuc  
CS 84215  
35042 Rennes Cedex  
Tél : 02 23 48 55 00

**INRA-UMR ESE**  
65 rue de Saint Brieuc  
CS 84215  
35042 Rennes Cedex  
Tel : 02 23 48 54 40

## Mémoire de Fin d'Etudes

### DIPLOME D'INGENIEUR AGRONOME

Spécialisation : Génie de l'Environnement  
Option : Sol, Eau, Hydrosystèmes

### **Etude de la différenciation et de la dispersion des populations des deux espèces d'Aloses (*Alosa spp*) en France : apport de la génétique des populations et de la microchimie des otolithes**

Par : Mr Rougemont Quentin

Soutenu le : 13/09/2012

Devant le jury :

*Sous la présidence de :*

Maître de stage :

Sophie Launey, INRA UMR ESE

Elodie Reveillac, Agrocampus Ouest, UMR ESE

Enseignant responsable et tuteur scientifique : Dominique Ombredane, Agrocampus Ouest, UMR ESE

Autres membres :

Christophe Cudennec, Agrocampus Ouest, UMR SAS

Yannick Outreman, Agrocampus Ouest, UMR IGEPP

*"Les analyses et les conclusions de ce travail d'étudiant n'engagent que la responsabilité de son auteur et non celle d'Agrocampus-Ouest".*

# Remerciements

---

Je remercie Sophie Launey et Elodie Réveillac pour m'avoir offert l'opportunité de réaliser ce stage. Je les remercie pour leur disponibilité durant l'élaboration du rapport. Merci à Sophie Launey et à Anne-Laure Besnard pour m'avoir formé aux techniques de laboratoires et à la manipulation des robots à la plateforme du Rheu.

Merci à Elise Sola du MNHN pour la préparation des otolithes et pour son investissement dans le projet amphihalins.

Un merci à Guillaume Evanno pour son enthousiasme sans faille et les nombreuses discussions que nous avons pu avoir sur les alooses...et sur les lamproies !

Merci à Jean-Luc Baglinière pour m'avoir brièvement formé à la lecture d'écailles et pour toutes les connaissances qu'il a pu m'apporter sur les alooses.

Merci à tous les partenaires qui ont fournis les échantillons d'écailles/nageoires, d'otolithes d'alooses le long de l'Arc Atlantique.

Merci à Stéphane Tétard pour les pêches d'alooses dans l'estuaire de la Loire.

Merci à Claire qui me pousse toujours à aller plus loin dans toutes les circonstances...

Enfin, merci à ma famille qui m'a toujours soutenue dans mes études.

# Table des matières

---

Remerciements

Table des figures et illustrations

Glossaire

<b>Introduction générale</b> .....	1
1. Contexte général.....	1
2. Présentation des espèces étudiées .....	3
2.1 Classification .....	3
2.2 Biogéographie : répartition actuelle des deux espèces.....	3
2.3 Cycle biologique et traits d'histoire de vie.....	4
3. Outils .....	4
3.1 Structure génétique des aloses : Encore de nombreuses interrogations .....	5
3.2 Intérêts de la microchimie des otolithes pour la compréhension des traits d'histoire de vie .....	6
<b>Matériels et Méthodes</b> .....	8
1. Méthodes Génétiques .....	8
1.1 Sites d'étude et échantillonnage .....	8
1.2 Analyse des données Génétiques .....	10
2. Analyse multi-élémentaire des otolithes par Ablation laser ICP-MS .....	13
2.1 Echantillonnage .....	13
2.2 Analyses statistiques .....	17
<b>Résultats</b> .....	18
1. Génétique des populations .....	18
1.1 Qualité du jeu de données et identification des hybrides .....	18
1.2 Diversité génétique.....	19
1.3 Différenciation entre population .....	20
1.4 Approche phylogénétique et bayésienne.....	21
1.5 Isolement par la distance .....	1
1.6 Assignation d'individus capturés en mer à un groupe d'origine et recherche des migrants.....	24
2. Résultats de la microchimie des otolithes .....	26
2.1 Fréquentation des habitats par les deux espèces .....	26
2.3 Distinction des espèces par la signature marine .....	28
2.4 Distinction de groupes à partir des signatures marines .....	28
2.5 Distinction de groupes à partir des signatures dulcicoles .....	29
<b>Discussion</b> .....	31
1. Génétique .....	31
1.1 Diversité et Structuration génétique intra spécifique .....	31
1.2 Un fonctionnement en métapopulation ? .....	35
1.3 Structure génétique interspécifique : Conséquences de l'hybridation?.....	36

1.4 Quel statut pour <i>A. fallax</i> en Méditerranée ?.....	37
2. Microchimie des Otolithes .....	37
2.1 Qualité de l'échantillonnage.....	37
2.2 Pertinence des seuils utilisés .....	37
2.3 Fréquentation des habitats par les deux espèces .....	38
2.4 Discrimination des espèces .....	39
2.5 Discrimination par la signature marine .....	39
2.6 Discrimination par la signature juvénile .....	40
2.7 Limites de l'étude microchimique.....	40
3. Implication pour la gestion.....	41
Conclusion et perspectives .....	42
Bibliographie .....	44
Références Webographiques .....	48
Annexes .....	49

# Table des figures et illustrations

---

## Liste des Figures

Figure 1 : Cartes de répartition de <i>A. alosa</i> et de <i>A. fallax</i> en France et localisation des sites Natura 2000 (Cartes disponibles sur <a href="http://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/recherche">http://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/recherche</a> ) .....	3
Figure 2 : Cycle biologique d' <i>Alosa alosa</i> et d' <i>Alosa fallax</i> ( <i>synthèse de données bibliographiques</i> ) .....	4
Figure 3 : Carte de localisation des rivières échantillonnées (réalisé avec MapInfo11) .....	9
Figure 4 : Principales étapes de préparation des otolithes d'aloises pour l'analyse microchimique.....	13
Figure 5 : Carte de localisation des sites échantillonnés, les sites en rivière et ceux en mer sont figurés, le nombre d'individus par site est proportionnel à la taille des graphes, Réalisée sous MapInfo 11.....	14
Figure 6 : Schéma montrant le sens de l'ablation laser sur un otolithe d'aloise et les profils de variation de la composition chimique de l'otolithe (Ratios Ba:Ca et Sr:Ca) permettant l'identification des différentes phases de vie de l'individu. La phase estuarienne correspond à l'intersection des courbes, elle n'a pas été figurée dans un souci de lisibilité Les seuils de Lochet (2006) sont donnés à titre indicatif : entrée en Estuaire : $Sr > 1.1 \cdot 10^{-3}$ (courbe verte), sortie de l'estuaire : $Sr > 1.9 \cdot 10^{-3}$ (courbe bleu claire) .....	15
Figure 7: Arbre de Neighbour-Joining inter-espèces produit à partir des distances DCE entre les paires d'échantillons. Les nombres à l'intérieur des branches représentent les valeurs de bootstraps à partir de 10 000répliquats.....	22
Figure 8 : Résultats des analyses bayésiennes .....	23
Figure 9 : (a) Isolement par la distance chez <i>A.fallax</i> (b) isolement par la distance chez <i>A. alosa</i> .....	24
Figure 10 : Fréquence de fréquentations des habitats par <i>A. alosa</i> . ED=Eau Douce, Est=Estuaire, EDM=Mer, les chiffres (1 à n) correspondent aux retours dans le milieu ED, EDM, EST .....	26
Figure 11 : Graphe des relations Sr/Ca et Ba/Ca pour chaque individu <i>A. alosa</i> échantillonnés par site, relation établi uniquement à partir de la signature en Eau Douce .....	27
Figure 12 : Fréquence de fréquentations des habitats par <i>A. fallax</i> . ED=Eau Douce, Est=Estuaire, EDM=Mer, les chiffres (ex: ED1 à n) correspondent aux retour dans le milieu ED, EDM, EST.....	27
Figure 13 : Graphe des relations Sr/Ca et Ba/Ca pour chaque individu <i>A. fallax</i> échantillonnés par site. Relation établie à partir de la signature en Eau Douce uniquement.....	27
Figure 14 : Individu femelle de 1300 g capturée dans l'estuaire de la Loire. La courbe Bleue représente le Sr/Ca, la courbe Verte correspond au Mn/Ca (le pic localise le nucléus), la courbe Rouge correspond au Ba/Ca, la droite Bleue représente le seuil de sortie de l'estuaire. La droite Verte représente le seuil d'entrée dans l'estuaire .....	27
Figure 15 : ACP réalisée à partir de la signature marine des individus capturés en Sud Bretagne. (a): Graphe des variables (b) Graphe des individus.....	28
Figure 16 : ACP réalisée chez <i>A. alosa</i> à partir de la dernière signature marine. (a): Graphe des variables (b) Graphe des individus. ....	29

## Liste des Tableaux

Tableau 1 : Liste des rivières échantillonnées et nombre d'individus capturés par espèce .....	8
Tableau 2 : Nombre total d'otolithes récoltés par site pour <i>A. alosa</i> et <i>A. fallax</i> . ....	14
Tableau 3 : Caractéristiques et calibration des lasers utilisés .....	15
Tableau 4 : Indices de diversité génétique pour les populations <i>d'Alosa alosa</i> .....	19
Tableau 5 : Indices de diversité génétique pour les populations <i>d'Alosa fallax</i> .....	20
Tableau 6: Coefficient de différenciation (Fst) pour <i>A. alosa</i> , valeurs obtenues dans Fstat après 2000 permutations. les valeurs non significatives, après correction par FDR, apparaissent en italique, les couleurs correspondent à des groupes possibles ayant une pertinence géographique et génétiquement différents.....	20
Tableau 7 : Coefficient de différenciation (Fst) pour <i>A. fallax</i> .....	21
Tableau 8 : Résultats des tests de Mantel effectué pour chaque espèces à l'échelle des populations (r inter population) et à l'échelle des individus (r inter individus).....	24
Tableau 9 : Résultats des tests d'assignations chez <i>A. alosa</i> effectués avec le logiciel Geneclass.....	24
Tableau 10 : Résultats des tests d'assignations chez <i>A. fallax</i> effectués avec le logiciel Geneclass.....	25
Tableau 11 : Comparaison des niveaux de diversité observés à l'aide de nos marqueurs avec les niveaux de diversité observés à partir de marqueurs microsatellites chez <i>A. alosa</i> (Faria et al., 2004) et <i>A. sapidissima</i> (Waters et al., 2000, Julian et Barton, 2007).....	31

# Glossaire

---

**Allèle nul :** Allèle ayant subi une mutation (e.g. délétion) et qui ne peut être détecté lors de l'amplification par PCR.

**Allèle privé :** Allèle ne se trouvant que dans une seule population.

**Amphihalin :** (chez un poisson) : Caractérise une espèce qui effectue sa croissance et sa reproduction dans des milieux de salinités différentes mais qui ne peut passer de l'un à l'autre qu'à des moments précis de son cycle biologique (modifié de Fontaine, 1976).

**BV : Bassin Versant**

**Fis :** (coefficient de consanguinité) : Estimateur du degré de consanguinité entre les individus. Le Fis mesure le déficit en hétérozygote par rapport à ce qui est attendu sous l'équilibre de HW (croisement au hasard des gamètes). On a  $Fis = 1 - \frac{H_o}{H_e}$ .

**Fst de Wright :** Coefficient de différenciation inter-populations. Il se calcule selon la formule suivante :  $Fst = \frac{Ht - Ho}{Ht}$  avec  $Ht$  l'hétérozygotie attendue totale. Ainsi on déduit de l'équation que le Fst mesure l'écart entre le taux d'hétérozygote de la population totale si celle-ci est en panmixie et le taux d'hétérozygote moyen observé dans les sous populations. Cela reflète la probabilité que deux allèles pris au hasard dans une sous population soient identiques par descendance.

**Fst de Weir et Cockerham :**

$$Fst = \frac{\sigma^2_a}{(\sigma^2_a + \sigma^2_b + \sigma^2_w)}$$

avec :

$\sigma^2_a$  : la variance inter-populations des fréquences alléliques ( $a=$ among population)

$\sigma^2_b$  : la variance inter-individus au sein des populations ( $b=$ between)

$\sigma^2_w$  : la variance intra-individus ( $w=$ within)

Ici, on peut voir le Fst comme la mesure de diversité totale expliquée par l'écart entre les fréquences alléliques des populations. C'est aujourd'hui cette indice  $\theta$  (Fst de Weir et Cockerham) qui est le plus utilisé comme estimateur du Fst car il prend en compte les différences dans la taille des échantillons et les écarts par rapport à HW.

**Fréquence allélique** : nombre d'un allèle divisé par le nombre total d'allèles présents dans la population au locus considéré.

**Hardy Weinberg (Loi de)** : Dans une population fermée, d'effectif illimité, non soumise à la sélection ni aux mutations, et où les unions se font au hasard, les fréquences alléliques restent constantes de génération en génération, de même que les fréquences génotypiques, celles-ci pouvant se déduire de la connaissance des fréquences alléliques.

**Hétérozygotie attendue** : Soit un locus avec un allèle  $a$  à la fréquence  $p$  et un allèle  $A$  à la fréquence  $q=1-p$ . Un individu est dit hétérozygote à ce locus s'il possède une combinaison  $Aa$  des allèles. Au contraire un individu est homozygote s'il possède une combinaison  $aa$  ou  $AA$  des allèles. L'hétérozygotie attendue sera calculée par :

$$He = 1 - \sum_{i=1}^k pi^2 \text{ avec } k \text{ le nombre total d'allèle } a \text{ à la fréquence } p^2$$

**Hétérozygotie observée (Ho)** : fréquence observée des génotypes hétérozygotes dans la population.

**Homing** : Retour à la rivière de naissance.

**Itéropare** : Individu se reproduisant plusieurs fois dans sa vie (cas de l'aloise feinte).

**Marqueur génétique** : séquence polymorphe (présentant une variation entre individus) d'ADN facilement détectable, à hérédité mendéienne (Tagu, 1999), multiallèle, co-dominant, non épistatique, neutre, dont l'identification est reproductible et économique.

**Microchimie de l'otolith** : analyse spatialisée de la composition chimique de l'otolith. Différent de la chimie de l'otolith qui est l'analyse chimique de l'otolith *in toto*.

**Nucléus** : zone centrale de l'otolith comprenant le primordium et les couches accrétées jusqu'à résorption des réserves vitellines et passage à l'exotrophie signalé structurellement dans l'otolith par une couche calcique dense et épaisse.

**Otolithe** : concrétion minéralo-protéique située dans l'oreille interne des poissons téléostéens permettant l'équilibre dans l'espace. L'otolith croît par accrétion chronique de couches concentriques autour d'une sphère primaire, le primordium

**Primordium** : structure initiale complexe de l'otolith. Constitué de matériel granulaire et fibrillaire, il est fabriqué dès le début de l'embryogénèse à partir des éléments vitellins transmis par la mère.

**PCR** (Polymérase Chain Réaction) : méthode d'amplification exponentielle d'une séquence d'ADN spécifique par répétition de réactions d'elongation grâce à une enzyme, l'ADN polymérase. Une PCR se fait en trois étapes : dénaturation, hybridation, elongation.

**Polymorphisme (P0.95)** : Proportion de locus polymorphe, où la fréquence de l'allèle le plus fréquent est <0.95.

**Potamotoque/Anadrome** : Espèce ayant pour nécessité de migrer d'un habitat salé, où il réalise sa phase de croissance, à un habitat dulcicole pour se reproduire.

**Richesse Allélique** : Nombre moyen d'allèles par locus corrigé pour les variations de tailles d'échantillons entre populations.

**Semelpare** : se dit d'une espèce se reproduisant une seule fois dans sa vie (La grande alose est considérée comme telle) La dépense énergétique de la migration de reproduction (migration, investissement gonadique, comportement reproducteur...) cause généralement la mort de l'individu.

**Sympatrie** : se dit d'espèces vivant sur un même territoire géographique/habitat et se partageant les ressources.

**Sympatrie** : se dit d'espèces vivant sur un même territoire géographique et se partageant les ressources.

**UICN** : Union International de Conservation de la Nature.

# Introduction générale

---

## 1. Contexte général

Le fort niveau d'exploitation des ressources naturelles par l'homme a engendré des modifications considérables dans la répartition et l'abondance de nombreuses espèces avec pour conséquence première une perte mondiale de diversité biologique. En 2010 selon l'ONU, les cinq principales causes d'érosion de la biodiversité sont la perte et la dégradation des habitats, le changement climatique, la pollution, la surexploitation, les espèces exotiques envahissantes. En 2012, l'IUCN estime que 35% des espèces animales décrites sont menacées (IUCN, 2012). Parmi celles-ci, la FAO estime que 80% des espèces de poissons apparaissent soit pleinement exploitées soit surexploitées (FAO, 2009). Il existe un effort croissant pour essayer de ralentir cette tendance, et ce surtout depuis la prise de conscience au niveau international (*e.g.* Sommet de la terre Rio, 1992) des effets néfastes de l'activité humaine sur la planète. Ainsi des efforts sont faits pour protéger la biodiversité à tous ses niveaux (écosystémique, populationnel, spécifique, génétique).

L'Union Européenne (UE) a réagi en 1992 en instaurant une directive « habitat faune flore ». Cette directive a engendré la création du réseau Natura 2000 qui vise à protéger les habitats d'espèces menacées. Ce réseau est composé de Zones d'Espaces Protégés (ZEP) et de Sites d'Intérêts Communautaires (SIC). Depuis 2010, il inclut les habitats marins et les espèces qu'ils abritent. Toutefois, avant de valider la cartographie du réseau en mer, il est nécessaire d'en caractériser la pertinence notamment pour les poissons migrateurs amphihalins, espèces sentinelles pour la mesure de la connectivité entre le réseau Natura 2000 continental et marin.

Au sein des téléostéens, les poissons migrateurs amphihalins, parmi lesquels on retrouve le saumon Atlantique (*Salmo salar* L.1758), l'anguille Européenne (*Anguilla anguilla* L.1758) et les alooses (*Alosa spp*) ont subi un déclin significatif de leurs populations respectives (Parrish *et al.*, 1998; Baglinière *et al.*, 2003; Limburg et Waldman, 2009) en lien avec les activités humaines comme la fragmentation/destruction des habitats ou encore la pollution. La grande alose (*Alosa alosa* L.1758) et l'aloise feinte (*Alosa fallax* Lacépède, 1803) ont vu leur aire de répartition originelle largement diminuer. Chacune des deux espèces est à ce jour considérée comme vulnérable sur la liste IUCN Française et Européenne. A l'échelon international les deux espèces sont considérées comme insuffisamment documentées, soulignant ainsi la nécessité d'acquisition de connaissances même si les connaissances ont largement progressées depuis la publication du livre « Les Alooses » (Baglinière et Elie, 2001). Les deux espèces sont aussi inscrites en annexe III de la convention de Berne et aux annexes II et V de la directive « Habitat-Faune-Flore ». Elles sont en outre susceptibles de coloniser les sites Natura 2000 en mer.

Pour répondre à la réserve scientifique émise par la Commission Européenne concernant certaines espèces de poissons amphihalins inscrites en annexe II de la directive « Habitat », un vaste projet « Natura 2000 en mer : connaissances sur les amphihalins » financé par le Ministère de l’Ecologie et du Développement Durable est actuellement mis en œuvre par le Muséum National d’Histoire Naturelle. A l’heure actuelle, il semble presque impossible de quantifier les effectifs d’amphihalins en milieu marin. A défaut, il semble pertinent et réaliste de quantifier les effectifs produits par les géniteurs en rivières et susceptibles de coloniser les zones Natura 2000 en mer situées à proximité. Le projet vise à produire des connaissances sur l’utilisation de l’habitat par les amphihalins en milieux estuariens, proches côtiers et hauturiers, et développer des outils pour suivre la production d’amphihalins par les systèmes continentaux.

L’un des volets de ce projet est d’analyser, pour diverses espèces amphihalines, la fréquentation et l’utilisation des habitats marins et estuariens. La combinaison de différents outils (microchimie des otolithes, génétique) permettra de déterminer la structure génétique et spatiale des populations, tout en s’attachant à évaluer l’importance des zones marines pour le maintien et la connectivité des stocks en mer à l’aide des traceurs chimiques que constituent les otolithes

### **Objectifs du stage :**

L’objectif général de mon travail est de connaître le niveau de structuration génétique des populations d’*Alosa alosa* et d’*Alosa fallax* à l’échelle nationale et le degré de dispersion des individus. Plusieurs questions en découlent :

- Les populations d’aloses forment-elles un seul stock au niveau national français ou plusieurs stocks différenciés ? Pour cela nous déterminerons la structuration génétique des populations. Nous estimerons comment se distribue la diversité génétique au sein de ces populations.
- Quelle est l’importance de la phase marine pour la réalisation du cycle de vie des aloses et son rôle dans la dispersion géographique en mer et la connectivité entre bassins versants de naissance? Pour cela nous nous intéresserons aux archives de signatures chimiques enregistrées par les otolithes en étudiant les différentes périodes de vie (eau douce, estuaire, mer) chez des individus d’origines différentes.

La combinaison de deux méthodes (génétique des populations et microchimie des otolithes) doit permettre d’obtenir un niveau de résolution suffisant afin de répondre à ces différentes interrogations et finalement aider à définir des unités de gestion pertinentes dans le cadre du programme Natura 2000 en mer.

## 2. Présentation des espèces étudiées

### 2.1 Classification

Le genre *Alosa* peut être divisé en trois grands groupes selon leur répartition géographique : Atlantique Ouest (6 espèces), Ponto Caspien (8 espèces), Atlantique Est et Méditerranée (2 espèces). *Alosa alosa* et *Alosa fallax* sont les deux seules espèces à appartenir au dernier groupe (Whitedhead, 1985, Baglinière, 2000). En France, on trouve *Alosa alosa* ainsi que deux sous espèces d'alooses feintes : *Alosa fallax fallax* présente le long de la façade atlantique, et *Alosa fallax rhodanensis* présente dans le bassin méditerranéen uniquement.

### 2.2 Biogéographie : répartition actuelle des deux espèces

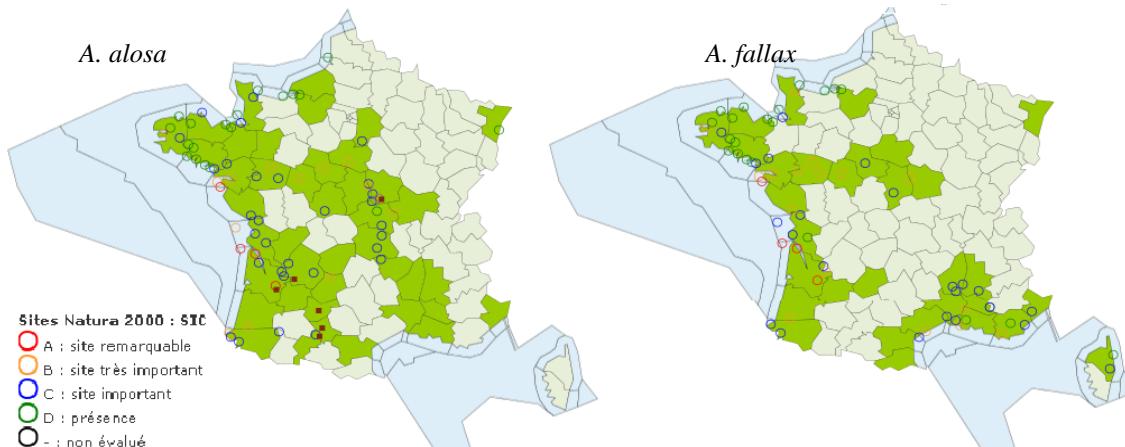


Figure 1 : Cartes de répartition de *A. alosa* et de *A. fallax* en France et localisation des sites Natura 2000 (Cartes disponibles sur [http://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/recherche](http://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/recherche))

Aujourd’hui *A. alosa* est présente en France, au Portugal et sur quelques rivières de Grande Bretagne. En France, sa limite septentrionale semble être les fleuves normands. Les populations les plus importantes (Figure 1a) sont situées sur la Loire et dans le système Gironde où elles sont en régression. Bien qu’elle soit aussi présente plus au sud (Adour, Nivelle) (Baglinière, 2000; Baglinière et Sabatié, 2011), *A. alosa* semble s’étendre de plus en plus au Nord ce qui pourrait être une réponse au réchauffement climatique.

*A fallax* est aujourd’hui présente sur l’Elbe, le Rhin, les Iles britanniques (Pays de Galles, Irlande) et jusqu’au sud du Maroc (Baglinière, 2000). En France les populations majeures sont situées sur la Loire, la Gironde, l’Adour et sur les fleuves Méditerranéens (Figure 1b). Les effectifs d’*A. fallax rhodanensis* ont particulièrement diminué et elle n’est présente que sur le Rhône, l’Aude, l’Hérault, le Vidourle, le Golo et le Tavignano (Corse).

Les causes de réduction de l’aire de répartition des deux espèces sont principalement la construction de barrages limitant l’accès aux frayères (Jonsson *et al.*, 1999), le recalibrage des cours d’eau, l’extraction de granulats (supprimant les frayères) et de manière générale la dégradation de l’habitat, la pollution et la pêche (Elie *et al.*, 2000 ; Taverny *et al.*, 2000 ; Limburg & Waldmann, 2009).

## 2.3 Cycle biologique et traits d'histoire de vie

*A. alosa* et *A. fallax* sont des migrants anadromes au cycle biologique globalement similaire malgré quelques différences dans les traits écologiques et d'histoire de vie. *A. fallax* est répertoriée comme espèce itéropare alors que *A. alosa* est semelpare.

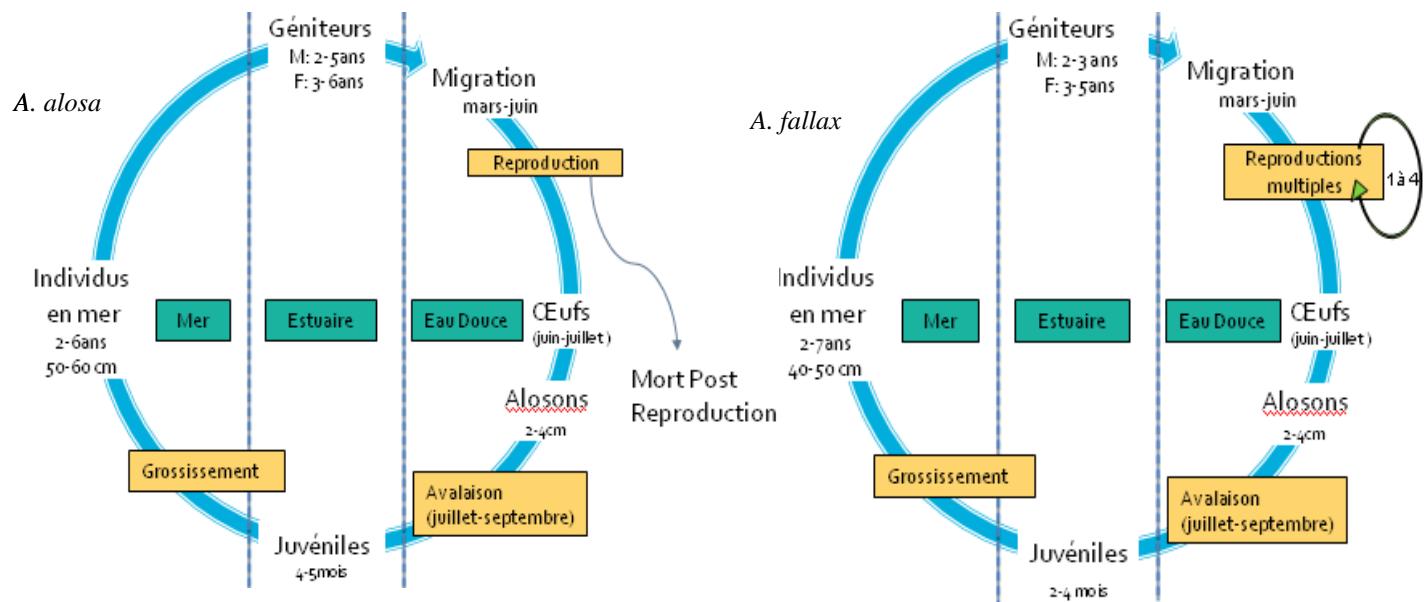


Figure 2 : Cycle biologique d'*Alosa alosa* et d'*Alosa fallax* (synthèse de données bibliographiques)

### **Remontée migratoire**

Les adultes d'*A. alosa* et *A. fallax*, âgés de 3 à 8 ans, remontent en rivière de février à juin (avril à mai pour *A. fallax*). Il semble qu'il existe un homing à l'échelle du bassin versant pour les deux espèces (Baglinière, 2000 ;Alexandrino *et al.*, 2006). Mais il est nécessaire d'étudier plus spécifiquement ce phénomène de homing afin de pouvoir en estimer l'intensité.

### **Hybridation**

Les observations morphologiques ont montré l'existence d'hybrides entre *A. alosa* et *A. fallax*. Ces poissons présentent des caractéristiques morphométriques, méristiques et biométriques intermédiaires entre les deux espèces (Mennesson Boisneau et Boisneau, 2000). Les études génétiques confirment ce phénomène d'hybridation lorsque les espèces sont en sympatrie (Alexandrino *et al.*, 2006, Coscia *et al.*, 2010; Joly *et al.*, 2011a et 2011b).

## **3. Outils**

Deux types d'outils sont mis en œuvre dans cette étude : la génétique des populations et la microchimie des otolithes. Chacun apportera des informations complémentaires sur les histoires de vie individuelles et sur la capacité de dispersion des espèces. Les deux outils ont récemment été utilisés en combinaison sur des poissons migrants. La génétique fournit des informations sur la population source et la microchimie informe sur les capacités de dispersion des individus (Bradbury *et al.*, 2008, Ohara *et al.*, 2009, Perrier *et al.*, 2011a). Ils ont ainsi été utilisés pour

identifier des stocks de poissons avec précision (Barnett-Jonhson *et al.*, 2010 Smith et Campana, 2010).

Chacun des deux outils a déjà été appliqué chez les alooses, mais ces études restaient partielles et n'ont jamais été développées à l'échelle nationale.

### **3.1 Structure génétique des alooses : encore de nombreuses interrogations**

La génétique des populations renseigne sur la répartition de la variabilité génétique au sein des populations et entre les populations. Cette variabilité est principalement influencée par la migration, la dérive et la sélection naturelle.

De nombreux marqueurs génétiques (allozymes, RFLP, minisatellites...) ont été développés afin d'étudier la diversité génétique neutre au sein et entre les populations. Dans cette étude ce sont des marqueurs microsatellites qui ont été utilisés.

Les **microsatellites** sont des séquences non codantes du génome, formés d'un motif de base de 2 à 6 pb répétés un grand nombre de fois. Ils sont faciles à amplifier par PCR et possèdent un taux de mutation important (Chistiakov *et al.*, 2006) estimé entre  $10^{-2}$  et  $10^{-6}$  par locus et par génération (Ellegren, 2000). Leur nature répétitive les expose facilement aux erreurs de réPLICATION résultant en des changements de longueur. Ces différences de tailles, présentes en grand nombre, confèrent aux microsatellites un haut niveau de polymorphisme. Ils sont donc très informatifs et sont largement utilisés en génétique des populations. Ces marqueurs sont neutres, hérités de façon mendélienne, marquant des régions non codantes, codominants, spécifiques d'un locus et d'un coût raisonnable, ce qui en fait des marqueurs de choix aujourd'hui largement utilisés. Chez *A. fallax* et *A. alosa* un petit nombre de marqueurs ont été développés récemment (Faria *et al.*, 2004) et utilisés avec succès (Volk *et al.*, 2007; Jolly *et al.*, 2011a, 2011b).

A l'heure actuelle, les études sur la génétique des populations des deux espèces sont peu nombreuses.

L'étude de Volk *et al.*, (2007) utilisant les marqueurs microsatellites chez *A. fallax* sur les côtes du Danemark a révélé une faible structure génétique sur une distance côtière de près de 500km suggérant un flux génétique important entre les populations étudiées à cette échelle spatiale. Au contraire, Joly *et al.*, (2011b) ont obtenu une forte structuration génétique spatiale et un patron significatif d'isolement par la distance chez *A. alosa* et *A. fallax* en Grande Bretagne confirmant la possibilité d'un homing vers la rivière d'origine.

A l'heure actuelle, l'étude la plus complète sur les alooses européennes est celle menée par Alexandrino *et al.*, (2006). Elle inclut des sites répartis sur l'arc Atlantique et a confirmé l'indépendance des deux taxons tout en montrant que la diversité génétique et la structuration génétique étaient beaucoup plus fortes pour *A. fallax*. Une forte structuration génétique avec un patron d'isolement par la distance a été constatée chez les deux espèces à une échelle de 2000 à

4000 km suggérant une prépondérance du flux génétique entre les populations les plus proches spatialement. Cependant, cette étude n'incluait que deux rivières de la façade atlantique française (Charente et Gironde).

En France, les études de diversité génétique les plus importantes portent sur l'aloise feinte du Rhône. La divergence avec l'aloise feinte Atlantique a été établie. En revanche, l'homogénéité génétique au sein des individus de Méditerranée est importante et il existe des ressemblances avec les aloises feintes marocaines (Le Corre, 1999, Le Corre *et al.*, 2005).

Finalement, les études de génétique des populations des deux espèces le long de la façade Atlantique française sont peu nombreuses malgré l'intérêt de connaître le degré de structuration des *Alosa*. En termes de gestion, il semble en effet fondamental de savoir s'il existe un ou plusieurs stocks pour une espèce de poisson donnée et quel est leur degré de connectivité. La microchimie des otolithes peut permettre d'aller plus avant dans cette démarche d'investigation.

### **3.2 Intérêts de la microchimie des otolithes pour la compréhension des traits d'histoire de vie**

Si la génétique permet de connaître la structure spatiale à large échelle géographique et populationnelle, elle n'est pas nécessairement suffisante pour caractériser les déplacements d'espèces et discriminer des stocks à une échelle fine, spatiale, temporelle et individuelle.

Les poissons possèdent des traceurs naturels qualifiés de « boîte noire » tant ils intègrent d'informations sur l'histoire de vie des individus qui les fabriquent, il s'agit des otolithes. Les otolithes sont des concrétions minéralisées, composées de carbonates de calcium sous forme d'aragonite, situées dans l'oreille interne de tous les téléostéens (Lecomte-Finiger, 1999). Les éléments présents dans le milieu aquatique diffusent dans l'endolymphe principalement par voie dissoute et sont véhiculés jusqu'aux sacs otiques renfermant les otolithes. Ces éléments sont ensuite incorporés dans la structure des otolithes lors de leur minéralisation et donc de leur croissance (Campana, 1999). Cette croissance est chronique (journalière pendant la vie larvaire, elle devient saisonnière à l'émergence du juvénile) et continue (jusqu'à la mort) ce qui permet d'enregistrer la quasi-totalité de l'histoire de vie. Il est donc théoriquement possible d'inférer les changements d'habitat (rivière, estuaire, mer) des poissons et de distinguer des stocks géographiquement (Campana, 2005; Elsdon *et al.*, 2008).

L'ensemble de ces propriétés fait de l'otolithe un traceur privilégié des migrations. Cet outil a été utilisé pour discriminer des stocks de poissons marins (Thorrolf *et al.*, 1998a et b, Campana *et al.*, 2000, Gillanders 2002), pour déterminer les rivières d'origine des individus et évaluer le homing (Veinott *et Porter*, 2005). Les différents milieux traversés peuvent être identifiés et il est ainsi possible d'identifier les migrations et changements d'habitat (Secor *et al.*, 2001, Fablet *et al.*, 2007, Daverat *et al.*, 2011b). Le succès de ces études repose sur plusieurs hypothèses :

1. Il est nécessaire que les habitats traversés aient des signatures chimiques différentes les unes des autres (variation spatiale de la composition chimique) tout en exprimant une certaine stabilité (Gillanders, 2002; Walther et Thorrold 2009).
2. Il est nécessaire que les signatures caractéristiques de chaque milieu de vie (eau douce, estuaire, mer) soient bien enregistrées dans les otolithes.
3. Il faut que les processus ontogéniques et physiologiques n'altèrent pas ces signatures.

Finalement les signaux chimiques enregistrés dépendent des facteurs environnementaux (composition chimiques des eaux et de la nourriture, salinité, température), des processus ontogéniques et physiologiques (métamorphose, reproduction, stress, alimentation).

Actuellement l'analyse de la composition chimique se base sur 31 éléments connus dans les otolithes tout en sachant qu'un grand nombre sont régulés et que leur incorporation directe est rare (Campana, 1999). Ces éléments sont présents en traces et pour être détectés la technique actuelle de référence est l'ablation laser couplée à un spectromètre de masse (LA-ICP-MS). Cette méthode offre une résolution de détection élémentaire de l'ordre de la partie par billion(s), une très grande sensibilité, permettant l'analyse de nombreux éléments chimiques, ainsi que la possibilité de spatialiser l'analyse de la composition chimique de l'otolithe et donc de reconstituer l'historique de l'incorporation des éléments chimiques au cours de la vie du poisson.

A ce jour, les travaux les plus complets ayant étudié les traits d'histoire de vie des deux espèces au moyen de l'analyse microchimique des otolithes sont ceux réalisés par Lochet (2006) et Lochet *et al.*, (2008, 2009) qui se sont intéressés à la fréquentation des habitats dulçaquicoles, estuariens et marins sur le bassin versant Garonne-Dordogne. Ces travaux ont permis de mettre en évidence des différences dans l'exploitation spatio-temporelle de ces compartiments entre les deux espèces. Ainsi, contrairement aux estimations précédentes, il a été montré que la durée de séjour estuarien était courte ceci au profit d'un temps de séjour en rivière plus long. Ce dernier est plus long pour *A. alosa* que pour *A. fallax*. Enfin, la microchimie des otolithes de juvéniles a permis de montrer l'existence d'un signal de Sr:Ca permettant la distinction des compartiments marin et estuarien chez *A. alosa* ce qui n'est pas le cas chez *A. fallax*.

Une autre étude (Tomas *et al.*, 2005) a utilisé l'empreinte élémentaire des otolithes d'*A. alosa* d'âge 0+ pour discriminer avec succès la rivière d'origine des poissons capturés en Gironde.

Les études d'empreintes élémentaires chez les aloses sur la façade Européenne se sont donc restreintes à l'étude du système Gironde. Une étude à plus large échelle devrait permettre de mieux connaître l'histoire de vie des populations d'aloises française ainsi que leurs capacités de dispersion en milieu marin et donc d'allo-recrutement depuis les bassins versants d'origine.

# Matériels et méthodes

## 1. Méthodes Génétiques

### 1.1 Sites d'étude et échantillonnage

Un total de **752** individus d'Aloses (*Alosa alosa* et *A. fallax*) provenant de la façade Atlantique, de la Méditerranée et de la Corse a été échantillonné. Les individus ont été capturés sur 19 rivières françaises (13 rivières pour *A. Alosa* et 11 rivières pour *A. fallax*), sur la rivière Ulla en Espagne et sur 11 sites en mer. Des nageoires ont été prélevées sur chaque individu puis conservées dans de l'alcool à 95%. Pour certains sites, des écailles ont été récupérées sur les cadavres d'individus en post-reproduction. Des collections d'écailles disponibles au laboratoire de l'INRA ont aussi été utilisées pour compléter l'échantillonnage. Les détails sont présentés tableau 1 et figure 1 pour les sites en rivière et **annexe 1** pour les sites en mer où 89 individus ont été capturés, notamment en Sud Bretagne (43 individus).

Tableau 1 : Liste des rivières échantillonnées et nombre d'individus capturés par espèce

Rivière	Année de collection	<i>A. fallax</i>	<i>A. alosa</i>	Echantillon
Adour	1999 -2011	16	33	Ecaille (17) + Nageoire(32)
Aude	2011	15	0	Nageoire
Aulne	2001	0	34	Ecaille
Charente	1997-1998-2012	4	52	Ecaille
Dordogne	2011	15	30	Nageoire
Garonne	2011	0	30	Nageoire
Loire	2011-2012	12	41	Nageoire
Nivelle	2012	0	30	Nageoire
Orne	2011	15	8	Nageoire
Rhône_V	2010	30	0	Nageoire
Rhône_S <sup>1</sup> *	2010	37	0	Nageoire
Scorff	2011	0	35	Nageoire
Sélune	2010	0	5	Nageoire
Tavignano	2010-2011	50	0	Nageoire
Tavignano_BC*	2010	15	0	Nageoire
Trieux	2009	0	16	Ecaille
Ulla (Espagne)	2011	32	0	Nageoire
Vidourle	2010	10	0	Nageoire
Vienne	1999	0	16	Ecaille
Vilaine	2010-2011	4	36	Nageoire
Vire	2010-2011	0	30	Nageoire

<sup>1</sup> Rhône\_S=Rhône Sauveterre et Rhône\_V=Rhône Vallabregues = deux sites géographiquement différents sur le Rhône.

Tavignano\_BC= Tavignano Barrage de Cardiccia.= Echantillons de 15 adultes. Tavignano= Echantillon de 50 juvéniles

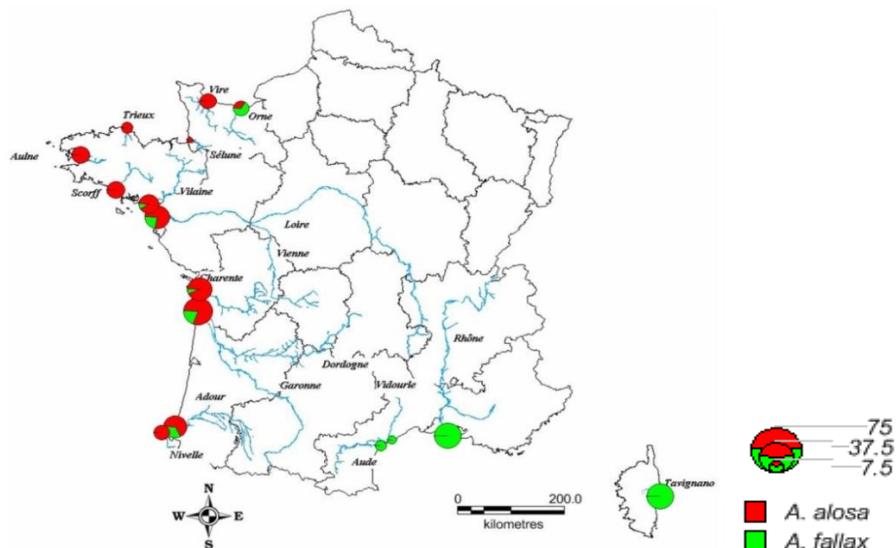


Figure 3 : Carte de localisation des rivières échantillonnées (réalisé avec MapInfo11)

#### 1.1.1 Extraction d'ADN:

L'extraction d'ADN des 752 individus est réalisée dans des plaques de 96 puits (0.2ml) à partir d'un échantillon de nageoire ou d'écaille. Chaque échantillon a été digéré dans une solution de 20 µl protéinase K (10g/mL, Promega, USA), de 10 µl de TE (Tris/EDTA) et de 100 µl de Chelex 10% chauffée à 55°C pendant 2 heures puis à 99°C pendant 10 minutes. La solution a ensuite été centrifugée à 1000 tours/minute pendant 1 minute puis 10 µl de surnageant a été récupéré dans chaque puits, dilué 10 fois dans une nouvelle plaque et congelé à -20°C. Ce protocole dérivé d'Estoup *et al.*, 1996, est peu coûteux, simple et permet d'obtenir un ADN de qualité « moyenne », mais suffisante pour l'analyse des marqueurs microsatellites. Un dosage de l'ADN a été effectué pour quelques individus avec la technique de NanoDrop (Nanodrop2000/2000c Spectrophotometer, Thermoscientific, USA).

#### 1.1.2 Développement des marqueurs microsatellites chez *Alosa* spp. et PCR

Pour augmenter le panel de marqueurs microsatellites disponibles pour les deux espèces, l'INRA a développé de nouveaux marqueurs (travail réalisé avant mon arrivée). Une banque de marqueurs microsatellites a été développée à partir d'un échantillon de 6 individus (3 *A. alosa* et 3 *A. fallax*) par l'entreprise GenoScreen par une méthode de pyroséquencage développée par Malausa *et al.*, (2011). Treize loci ont été retenus parmi les marqueurs (leur nom, taille et identification est donnée **annexe 2**), et utilisés dans le stage.

Durant le stage, les PCR ont été effectuées en utilisant le marquage M13 (**Annexe 3**). L'amplification a été réalisée avec un volume de 6µL composé de 2µL d'ADN d'aloise (soit en moyenne 125ng d'ADN/µL), de 1.06µL d'eau 0.08U/µL de Taq polymérase (GoTaq Promega), de 1.30µL de tampon5X (GoTaq Promega), de 0.05µM de chaque dNTP, 0.52µL de MgCl<sub>2</sub>, de 0.34µL d'amorce M13 fluorescente, de 0.33µL d'amorce forward rallongée d'une séquence M13,

et de 0.33 $\mu$ L d'amorce reverse. Chaque PCR a été réalisée dans un thermocycleur C1000 Thermal Cycler (Bio-Rad). Les conditions d'amplification étaient les suivantes : 4 minutes de dénaturation initiale à 94 °C, puis 20 cycles en « touchdown » avec : 30 secondes de dénaturation à 94°C, 30s d'hybridation à une température décroissante de 0.5°C à chaque cycle (de 65 à 55°C) et 60s d'elongation à 72°C ; puis 20 cycles de 30s à 94°C, 30s d'hybridation à 55°C, 60s d'elongation à 72°C et enfin 5 minutes de synthèse finale à 72°C.

### ***1.1.3 Génotypage***

La migration des fragments amplifiés a été effectuée dans un séquenceur ABI Prism® 3130xl 16 capillaires. Cette technique permet d'analyser plusieurs marqueurs de même taille mais portant des fluorophores différents, au même moment, en multiplexant les produits de la PCR dans un même puits. Quatre multiplexes ont été réalisés ainsi en combinant des fluorochromes bleu, vert, jaune ou rouge. La combinaison des marqueurs dans les multiplex est donnée **annexe 4**. Un standard de taille (GeneScan 500LIZ, fluorophore orange) permet d'attribuer une taille aux différents pics correspondants à la taille des allèles. Les profils du génotype de chaque individu se présentent sous forme d'électrophorégramme (**Annexe 5**). Chaque profil a été analysé avec le logiciel GeneMapper 3.7 (Applied Biosystems).

## **1.2 Analyse des données génétiques**

Toutes les analyses ont été faites en séparant chaque espèce (à l'exception de la détermination des hybrides). Les groupes présentant moins de 7 individus ont été exclus des analyses standards. Les individus capturés en mer ne sont utilisés que dans les analyses bayésiennes d'assignation.

### ***1.2.1 Analyses génétiques standard et diversité génétique au sein des populations***

Une fois le génotypage des individus réalisé, il est nécessaire de s'assurer de la qualité du jeu de données. Pour cela la présence **d'allèles nuls**, d'erreurs d'amplification d'allèles de grande taille ou de mauvaises amplifications dans les données ont été vérifiées avec le logiciel Microchecker 2.2.3 (van Oosterhout *et al.* 2004).

La diversité génétique des populations est mesurée par l'estimation de la richesse allélique (**Ar**) et l'estimation de l'hétérozygotie observée (**Ho**) et l'hétérozygotie attendue (**He**) sous l'équilibre de Hardy-Weinberg (HW). Les calculs d'hétérozygotie permettent de déterminer le coefficient de consanguinité **Fis**.

Ces indices ont été calculés en utilisant différents logiciels :

La richesse allélique (**Ar**) corrigée par la taille de l'échantillon le plus petit selon la procédure de raréfaction de El Mousadik et Petit, (1996) a été calculée dans Fstat 2.9.3 (Goudet, 2002) le polymorphisme des marqueurs (**P0.95**), l'hétérozygotie observée (**Ho**) et l'hétérozygotie

attendue (**He n.b.**) sous HW corrigée par la taille de l'échantillon ont été calculés dans Genetix 4.05.2 (Belkhir *et al.*, 2004).

L'excès d'hétérozygotes par rapport à l'équilibre de HW a été calculé dans Genepop 4.0 (Rousset, 2010) pour chaque locus et globalement en utilisant les chaînes de Markov avec les paramètres suivants : démémorisation=10000, nombre de batchs = 800, nombre d'itérations par batch : 8000. Comme recommandé par Rousset (2008), ces paramètres sont supérieurs aux valeurs par défaut ce qui permet de réduire les écarts types des p-values à un niveau inférieur à 0.01 pour augmenter la précision des résultats. Les p-values sont ensuite corrigées par la méthode de Benjamini et Hochberg, (1995) pour les tests multiples. Cette méthode a été préférée à celle de Bonferroni (Rice, 1989) souvent critiquée (e.g.: Narum, 2006). Les déviations de l'équilibre d'HW ont été quantifiées par estimation du Fis de Weir et Cockerham (1984) par locus et par population dans Fstat. Le déséquilibre de liaison a été estimé par marqueur dans chaque population et globalement dans Genepop 4.0 avec les mêmes paramètres que précédemment.

### 1.2.2 Différenciation génétique entre espèces et entre populations :

Le paramètre le plus simple et le plus couramment utilisé pour mesurer la différenciation entre population est le **Fst** de Wright. Ici un estimateur du Fst, noté  $\theta$  et proposé par Weir et Cockerham (1984) (voir glossaire pour les définitions du Fst) a été calculé dans Fstat. Les probabilités critiques ont été obtenues en utilisant 2000 permutations par population puis corrigées en utilisant la méthode Benjamini et Hochberg, (1995).

L'estimation précise du Fst peut être difficile lorsque les effectifs des échantillons de chaque population sont trop petits. Une approche bayésienne a donc été effectuée permettant d'inclure l'ensemble des échantillons (voir plus loin).

### 1.2.3 Structure génétique des populations : approche phylogénétique et bayésienne

La structuration génétique a d'abord été étudiée par construction d'arbres phylogénétiques. Pour ce faire, 10 000 matrices de distances génétiques ( $D_{CE}$ , Cavalli-Sforza et Edwards, 1967) ont été calculées avec MSA 4.05 (Dieringer et Shlöterer, 2003) sur l'ensemble du jeu de données. Cette distance ( $D_{CE}$ ) a été choisie car elle est basée sur des distances géométriques, indépendantes du modèle de mutation des microsatellites. (Liu and Muse, 2005). Il a aussi été démontré que c'est une des méthodes les plus efficaces pour obtenir des topologies d'arbres phylogénétiques correctes à partir des microsatellites (Takezaki et Nei, 1996). Un arbre phylogénétique a été construit selon la méthode du Neighbor-Joining, (Saitou et Nei 1987) en utilisant la suite de logiciels Phylip (Felsenstein, 1995) et Tree View 1.6 (Page, 1996) pour la visualisation.

La structure des populations a ensuite été étudiée à l'aide de la méthode de clustering bayésien implémentée dans le programme Structure 2.3.3 (Pritchard *et al.*, 2000). Ce programme

a été utilisé en analyse préliminaire sur le jeu de données complet, intégrant les deux espèces afin d'identifier les éventuels individus hybrides présents dans le jeu de données et les erreurs d'identification d'espèces. Les individus capturés en mer et les plus petits échantillons ont été inclus dans l'analyse. Les paramètres par défaut ont été utilisés pour *A. alosa* et pour *A. fallax*. : « admixture model » et fréquences alléliques corrélées, avec un nombre de clusters génétiques compris entre 1 et 24 pour *A. alosa* et 1 à 22 pour *A. fallax* (nombre de site +3). 20 répliques ont été effectués. Chaque analyse commence avec une période de préchauffe (burn-in) où les 50 000 premières données simulées sont supprimées (afin de s'assurer de la convergence des simulations vers la distribution *a posteriori* tout en s'affranchissant du choix de la valeur initiale), suivie d'une Chaîne de Markov de Monte Carlo (MCMC) de 150 000 itérations. L'identification des hybrides a été effectuée avec une MCMC de 300 000 itérations. Les individus présentant un coefficient d'ascendance (Q-value) compris entre 0,01 et 0,10 ont été classés comme *A. alosa*. Des Q-values supérieures ou égales à 0.90 correspondent aux individus *A. fallax*. Les hybrides présentent des valeurs entre 0.11 et 0.89 (Coscia *et al.*, 2010; Jolly *et al.*, 2011a et b). Le nombre de cluster a été estimé à l'aide du Pr Ln(K) (Pritchard *et al.*, 2000) et du  $\Delta K$  selon la méthode d'Evanno *et al.*, (2005). Les résultats ont été mis en forme avec Structure Harvester (Earl et vonHolt, 2012). Les graphes ont été tracés à l'aide de Distruct 1.1 (Rosenberg, 2004)

#### **1.2.4 Isolement par la distance**

Un patron d'isolement par la distance (IBD) existe lorsque la différenciation génétique entre populations augmente avec la distance géographique les séparant (Wright, 1943). L'IBD entre paires de populations a été évalué par des tests de Mantel. Les matrices de Fst ont été permutées contre les matrices de distances géographiques calculées avec Google Earth d'estuaire à estuaire. Sous l'hypothèse d'un habitat bidimensionnel (positions fixes des individus et pas d'hétérogénéité dans la densité spatiale), l'équation  $\frac{Fst}{1-Fst}$  a été utilisée comme mesure de la distance génétique tel que suggéré par Rousset (1997). Des tests de Mantel ont été effectués pour chaque espèce séparément. 10 000 permutations ont été utilisées pour vérifier la significativité des coefficients de corrélation. Chaque test a été réalisé à l'aide du package Vegan sous R.2.14.2. Un test de Mantel à l'échelle individuelle a aussi été mis en œuvre en considérant l'estimateur  $a_r$  proposé par Rousset (2000), calculé entre paires d'individus à l'aide du logiciel SPAGeDi v1.2 (Hardy et Wekmans, 2003).

#### **1.2.5 Assignation d'individus d'origine marine et recherche de migrants**

Les individus capturés en rivières ont été utilisés comme groupe de référence pour assigner les individus capturés en mer à une « région » d'origine. Le logiciel Geneclass 2 (Piry *et al.*, 2004) a été utilisé pour réaliser cette assignation avec la méthode de Paetkau *et al.*, 2004. La

recherche de migrants (individus échantillonnés dans une rivière mais ayant une probabilité supérieure d'assignation dans une autre rivière) a aussi été effectuée à l'aide de ce logiciel avec un seuil fixé à 0.01 et un calcul de vraisemblance selon le critère  $L_{Home}/L_{max}$  (Paetkau *et al.*, 2004). La même procédure a été répétée pour *A. alosa* et *A. fallax* séparément.

## 2. Analyse multi-élémentaire des otolithes par Ablation laser ICP-MS

Cette approche a pour objectifs principaux de :

1. discriminer les deux espèces selon la composition en éléments chimiques des otolithes à partir de signatures marines.
2. vérifier si des groupes d'individus se forment à partir de la signature en eau douce de naissance et voir à quelle échelle ces groupes se discriminent (rivière, BV, région, autre).
3. vérifier si les signatures en mer diffèrent et, le cas échéant, discriminer des grandes régions marines.

### 2.1 Echantillonnage

Un échantillonnage moins exhaustif que pour la génétique a été effectué, en lien notamment avec l'obligation de sacrifier les individus pour le prélèvement d'otolithes. Le tableau 2 donne le nombre d'individus récoltés par site et leur localisation est donnée sur la figure 6.

#### *2.1.1 Récolte et préparation des otolithes*

L'analyse de la composition chimique des otolithes nécessite un protocole très précis lors de leur préparation afin de minimiser le risque de contamination. Ce protocole est détaillé dans Tabouret (2010) et est résumé figure 5.

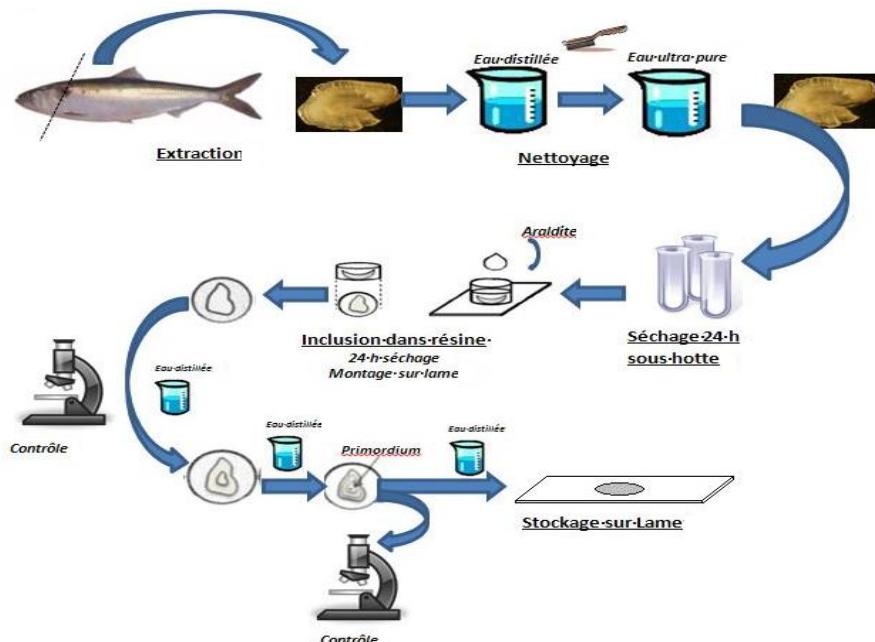


Figure 4 : Principales étapes de préparation des otolithes d'aleses pour l'analyse microchimique

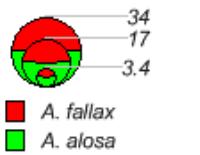


Tableau 2 : Nombre total d'otolithes récoltés par site pour *A. alosa* et *A. fallax*.

Site	Année	<i>A. fallax</i>	<i>A. alosa</i>
Adour	2011	11	9
Aude	2012	7	
Dordogne	2011	11	
Loire	2010-2011	5	28
Rhône	2012	7	
Sélune	2010		5
Vilaine	2011	5	19
Vire	2011		7
Arcachon	2011		2
Boulogne	2012	1	
Calais	2011	3	
Dinan	2011	1	
Mer Celtique			1
Mer Méditerranée	2011	2	
Mer Nord	2012	11	
Oléron	2011	2	1
Pertuis charentais	2010-2011	5	
Sud Golfe Gascogne	2011	6	
Sud Bretagne	2010-2011	11	23
Total		88	95

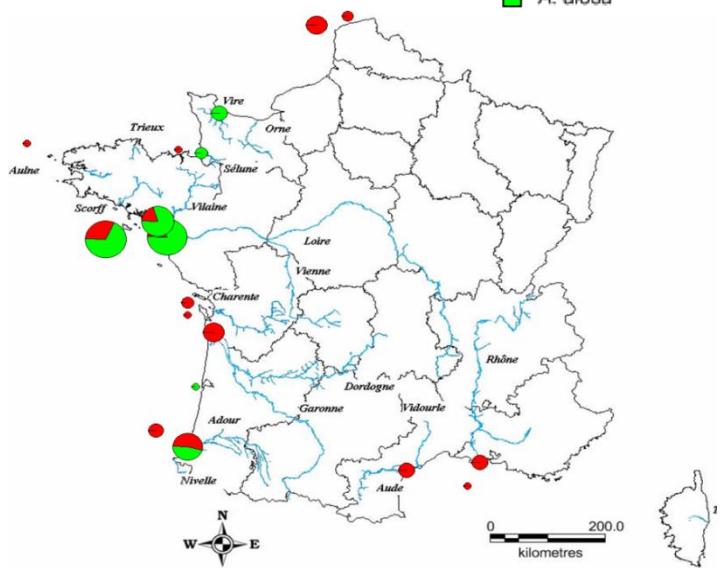


Figure 5 : Carte de localisation des sites échantillonnés, les sites en rivière et ceux en mer sont figurés, le nombre d'individus par site est proportionnel à la taille des graphes, Réalisée sous MapInfo 11.

### 2.1.2. Objectifs de la préparation

L'objectif de la préparation est de mettre à nu la structure en couches de l'otolithe (par ponçage) afin d'exposer à la surface de l'otolithe les couches minérales accrétées de la naissance (œur de l'otolithe) à la mort de l'individu (bord externe de l'otolithe). Une ablation laser est ensuite réalisée, du centre vers le bord de l'otolithe, et la matière minérale contenant les éléments incorporés au cours de la vie du poisson et donc au gré des changements d'habitats est pulvérisée puis analysée par un spectromètre de masse (voir figure 6). Cela permet d'obtenir la composition chimique spatialisée de l'otolithe et donc la composition chimique des masses d'eau traversées par l'individu au cours du temps et donc de sa vie.

#### Choix de la méthode

L'Ablation Laser couplée à un Spectromètre de Masse à Plasma Induit (LA-ICPMS) a été choisie ici car c'est l'outil le plus adapté à notre problématique. Campana et al., (1997) ont ainsi montré la précision et la polyvalence du LA-ICPMS dans la détection d'éléments traces (ex. Sr, Ba, Cu, Mg), tels que recherchés ici. L'ablation au laser femtoseconde à haute fréquence de tir (fs-LA-ICP-MS) a été mise en œuvre au laboratoire LCABIE de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour. L'ablation laser de la surface de l'otolithe produit, grâce à cette technique, des particules très fines (<200nm) qui sont atomisées dans le plasma de l'ICP-MS de manière répétable (Claverie et al., 2009). Les éléments ainsi atomisés sont ensuite sensiblement détectés par le spectromètre de masse.

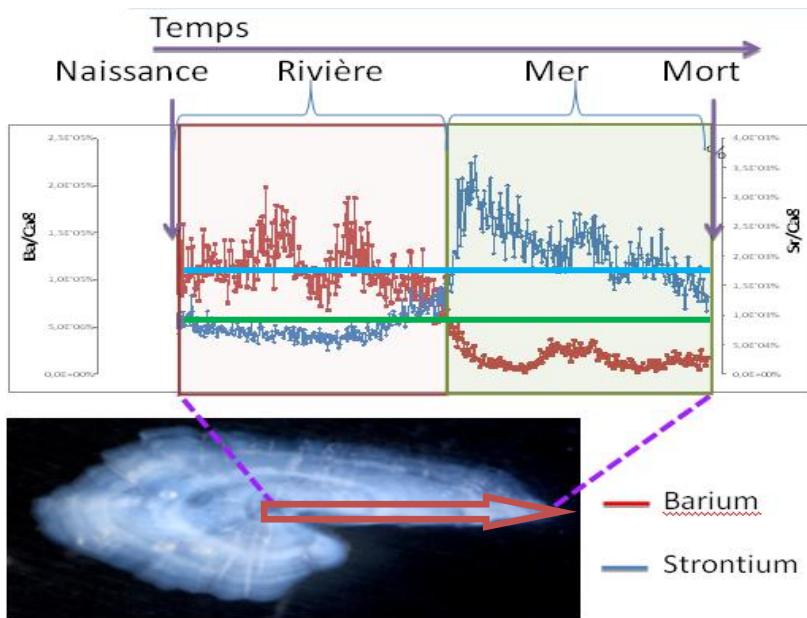


Figure 6 : Schéma montrant le sens de l'ablation laser sur un otolithe d'aloise et les profils de variation de la composition chimique de l'otolithe (Ratios Ba:Ca et Sr:Ca) permettant l'identification des différentes phases de vie de l'individu. La phase estuarienne correspond à l'intersection des courbes, elle n'a pas été figurée dans un souci de lisibilité Les seuils de Lochet (2006) sont donnés à titre indicatif : entrée en Estuaire :  $Sr > 1.1 \cdot 10^{-3}$  (courbe verte), sortie de l'estuaire :  $Sr > 1.9 \cdot 10^{-3}$  (courbe bleu claire)

### 2.1.3 Fonctionnement du LA-ICPMS

#### Conditions d'ablations laser

Des transects ont été réalisés depuis le nucléus jusqu'au bord externe du rostre de l'otolithe comme présenté figure 7. Deux lasers ont été utilisés pour des raisons techniques (panne du premier laser). Les caractéristiques de chaque laser sont données dans le tableau ci-dessous :

Tableau 3 : Caractéristiques et calibration des lasers utilisés

Instrument	Femtosecond (Alfamet-Novalase, France)	LAMBDA III (Perkin Elmer)
Longueur d'onde	1030 nm (IR)	257 nm (UV)
Taux de répétition	500Hz	50 Hz
Transect	Linéaire Nucléus-Rostre	Linéaire Nucléus-Rostre
Vitesse de déplacement	$5 \mu\text{m.s}^{-1}$	$5 \mu\text{m.s}^{-1}$
Diamètre faisceau	45 $\mu\text{m}$	45 $\mu\text{m}$

Le laser est couplé à un ICP-MS de type Elan DRC II (Perkin Elmer).

L'optimisation des conditions de fonctionnement de l'appareil a été réalisée en calibrant l'ICP-MS avec des standards pour les éléments considérés: standards de verre NIST 614, 612 et 610 (produits par le National Institute of Standards and Technology, USA) et standard d'otolithe certifié NIES22 (produit par le National Institute for Environmental Studies, Japan). (Yoshinaga *et al.*, 2000) Ces standards ou CRM (Certified Reference Material) permettent de prendre en compte aussi bien les valeurs importantes de Sr, Ca, Ba, Mg, Na, K, tout en étant valides pour les éléments présents en très faible quantité (Zn, Cu, Pb, Cd). La calibration est réalisée au début et à la fin de chaque série d'analyses (matin et soir) afin de quantifier et corriger la dérive de l'ICP-MS.

Afin d'assurer une atomisation optimale des particules et une sensibilité maximale du signal, le rapport U/Th a été réglé sur 1+0.05 et les variations des niveaux d'oxydes ThO/Th amenés sous les 3%.

Les conditions d'ablation ont été choisies de manière à avoir une grande sensibilité afin de couvrir une large gamme d'éléments traces présents en très faibles quantité dans l'otolithe. Au total 12 éléments (15 isotopes) ont été étudiés (Ba, Mn, Sr, Mg, Pb, Li, Cu, Zn, Cd, Sn, Rh, Rb, Co, Ag, Ca). Le Ca est utilisé comme standard interne étant donné qu'il constitue la matrice de base de l'otolithe. Il sert à la normalisation des résultats par la suite.

Après plusieurs tests visant à déterminer la taille optimale du faisceau (30, 45, 60 µm) c'est la largeur de 45 µm d'ablation qui a été retenue pour aboutir au meilleur compromis entre détection sensible des éléments traces et forte résolution spatiale sur l'otolithe et donc temporelle sur la vie des individus.

Trois sessions d'analyses ont été effectuées : la 1<sup>ère</sup> en Octobre 2011, la 2<sup>nde</sup> en Mai 2012 et la 3<sup>ème</sup> en Juillet 2012.

#### **2.1.4 Analyse multi-élémentaire**

Les données issues de l'ICP-MS sont ensuite transférées sous Excel où elles sont mises en forme puis traitées. Les données brutes sont normalisées en se référant aux valeurs des NIST 610, 612, 614 et NIES22. La teneur en chaque élément est ramenée à la concentration en Ca de la matrice de l'otolithe.

Une courbe est ensuite tracée pour chaque individu (cf. figure 6). Trois éléments sont tracés pour identifier les changements d'habitat : le barium (Ba), le strontium (Sr) et le manganèse (Mn).

Le Ba est présent en plus forte concentration en eau douce qu'en mer alors qu'une relation inverse est observée pour le Sr. Le Mn sert généralement à identifier la position du nucléus sur le profil par la présence d'un pic. L'analyse des profils pour le Ba et le Sr permet d'identifier la résidence en eau douce (ED), en mer (M) et en estuaire (E) et donc les changements d'habitats halins au cours de la vie de l'individu.

Pour déterminer les différentes phases de résidence dans chaque habitat halin, les valeurs seuils de Sr déterminées par Lochet (2006) ont été appliquées. Lors de cette étude les mêmes valeurs seuils avaient été délibérément fixées aux deux espèces. Ainsi les critères d'attribution d'un habitat sont les suivants :

Si ratio  $\text{Sr:Ca} < 1.10.10^{-3}$  alors l'individu est en ED, si le ratio  $\text{Sr:Ca}$  est compris entre  $1.10.10^{-3}$  et  $1.90.10^{-3}$  alors l'individu est en E, enfin si le ratio  $\text{Sr:Ca} > 1.90.10^{-3}$  alors l'individu est en M.

On obtient ainsi les valeurs moyennes de chaque élément dans chaque habitat halin exploité par l'individu au cours de sa vie. La détermination des différentes phases a été effectuée

manuellement individu par individu sous Excel. Les valeurs moyennes en éléments analysés pour chaque individu ont ensuite été exportées sous le logiciel R2.14.2 pour analyses statistiques.

## **2.2 Analyses statistiques**

Un test non paramétrique de Kruskall-Wallis a tout d'abord été effectué pour vérifier d'éventuels biais inter-sessions d'analyses et le biais inter-machines puisque deux types de laser ont été utilisés. Les différences n'étant pas significatives ( $p>0.05$ ), les individus ont tous été groupés ensemble pour la suite des analyses.

Un ensemble de tests statistiques a été effectué en séparant à chaque fois :

-*A. fallax* et *A. Alosa*;

-L'habitat considéré : ED, E, M ;

-Pour les tests en rivière seuls les individus capturés en rivières ont été utilisés ;

-Pour les tests en mer seuls les individus en mer ont été utilisés.

Les tests mis en œuvre sont les suivants :

Une ACP par habitat considéré et par espèce a été effectuée pour visualiser les différences entre groupes puis une méthode de regroupement (classification ascendante hiérarchique) a été utilisée pour tenter de discriminer plus précisément les groupes.

Enfin une analyse linéaire discriminante (LDA) par habitat et par espèce a été effectuée pour tenter de discriminer les groupes selon leur signature (ED, E, M) puis pour réassigner des groupes dont l'origine dulcicole est inconnue à une rivière/un BV d'origine. De même, des LDA ont été réalisées afin d'assigner des groupes dont l'origine marine est inconnue à des groupes dont on connaît la signature marine (capturés en mer).

Il a été montré que la LDA peut poser problème lors de la discrimination d'individus (Mercier *et al.*, 2011), un certain nombre d'hypothèses doivent être vérifiées (multinormalité et égalité des variances). De plus, ce genre d'analyse tend à « forcer » des individus dans des groupes et ne permet pas forcément de connaître quels sont les éléments à prendre en compte pour la discrimination (Mercier *et al.*, 2011 ; Bareille, comm. Pers.). En conséquence il aurait été souhaitable de mettre en place des analyses statistiques moins contraignantes en termes d'hypothèses, telle les forêts aléatoires ou les réseaux de neurones comme proposé par Mercier *et al.*, (2011). Cette analyse n'a cependant pas pu être mise en œuvre en raison de la trop petite taille des échantillons statistiques (10 échantillons par site étant le minimum). En ne conservant que les sites possédant plus de 10 individus le jeu de données aurait été trop réduit pour être pertinent.

# Résultats

---

## 1. Génétique des populations

### 1.1 Qualité du jeu de données et identification des hybrides

#### *1.1.1 Qualité du jeu de données*

648 individus parmi les 752 ont été génotypés avec succès. Les individus dont l'analyse a été faite à partir d'écailles anciennes (ex : Adour, 1999) ont posé le plus de problèmes ainsi que ceux dont les tissus ont été prélevés sur les cadavres (ex : Charente, 2012). Ceci s'explique probablement par une dégradation de l'ADN et/ou une contamination par de l'ADN exogène (ex : bactéries).

L'analyse avec Microchecker a mise en évidence la présence d'un allèle nul (Alo29) dans 36% des populations d'*A. Alosa* (**Annexe 6**). De même, le marqueur Alo15 semble avoir un allèle nul dans 27% des populations d'*A. fallax* (**Annexe 6**). Ces 2 allèles nuls étaient toutefois présents en faible fréquence. Les analyses supplémentaires ont permis de mettre en avant un écart à l'équilibre de HW pour 6 marqueurs (Alo06, Alo07, Alo15, Alo16, Alo26, Alo29) pour les populations d'*Alosa alosa* de la Loire, mais le Fis n'est significatif que pour le marqueur Alo29. Les autres populations ne montrent aucun signe de déséquilibre de HW et aucun Fis n'est significatif. Un seul test de déséquilibre de liaison parmi 936 comparaisons est significatif chez les *A. Alosa* et un parmi 858 comparaisons chez *A. fallax*. Les quelques tests statistiques significatifs obtenus sont donc attribués au hasard. Finalement, les 13marqueurs ont été conservés pour la suite des analyses.

#### *1.1.2. Identification des hybrides*

Une analyse préliminaire dans le logiciel Structure 2.3.3 a permis de mettre en avant l'existence de 31 individus hybrides soit 5% du total. Trois hybrides ont été identifiés sur l'Adour (10% des individus de l'Adour). 8 hybrides proviennent de la Charente (16%), 7 proviennent du Sud Bretagne (16%) et 4 de la Loire (8%). Les 2 individus provenant de la Méditerranée (prélevés en mer) sont identifiés comme hybrides (*A. alosa* n'est pourtant pas supposé présente dans cette zone). Deux individus sur le Scorff correspondent aussi à des hybrides. Un individu a été identifié comme hybride sur l'Ulla, la Vienne, le Vidourle, en Mer du Nord et à Calais. (les Q-value par individus sont données en **Annexe 7**). Les hybrides ont été retirés du jeu de données pour la suite de l'analyse.

Quatre individus de Charente (Mer) avaient été identifiés comme *A. alosa* et correspondaient à des *A. fallax*. Un individu sur la Loire a été identifié comme *A. fallax* et correspond en réalité à *A. alosa*. Un individu *A. fallax* avait été originellement identifié comme *A.*

*alosa* en Sud Bretagne. Ils ont été remplacés dans leurs groupes d'origine. Il serait intéressant de savoir quels critères morphologiques ont été utilisés pour reconnaître les individus sur le terrain et ont engendré les erreurs de classification.

## 1.2 Diversité génétique

Les indices de diversité génétique par population sont présentés dans les tableaux 4 et 5, les détails par locus et par population sont données en **annexe n°6**. Le nombre total d'allèles est de 149 pour *A. Alosa* et 139 pour *A. fallax*. Chez *A. alosa*, le nombre d'allèles par locus varie de 4 à 20 ( $\mu=5,3$ ) et de 4 à 17 ( $\mu=5$ ) chez *A. fallax*. La richesse allélique moyenne ajustée par rivière, calculée sur les 13 microsatellites, s'étend de 3,74 à 5,193 chez *A. alosa* (respectivement 3,44 à 4,70 chez *A. fallax*). L'hétérozygotie moyenne observée est de 0.59 (étendue : 0.49-0.62) pour *A. alosa* et 0.52 pour *A. fallax* (étendue : 0.44-0.59). Ces niveaux de diversité sont modérées pour chaque espèce et l'on observe une diversité génétique légèrement plus élevée chez *A. alosa* que chez *A. fallax*. Toutefois bien que l'hétérozygotie observée ( $H_o_{A.alosa}=0.596$  vs  $H_o_{A.fallax}=0.523$ ) diffère significativement ( $P<0.05$ , 5000 permutations), la richesse allélique (4.265 vs 3.864) n'est pas significativement différente ( $P=0.061>0.05$ , 5000 permutations) entre les deux espèces.

Tous les loci sont polymorphes chez *A. alosa*, en revanche 55% des populations chez *A. fallax* ont un taux de polymorphisme inférieur à 1, indiquant également une tendance à une variabilité génétique plus faible chez *A. fallax*.

Enfin, on observe que la diversité génétique augmente de manière croissante selon un gradient nord-sud et ce chez les deux espèces (à l'exception de l'Orne, tableaux 4 et 5)

**Tableau 4 : Indices de diversité génétique pour les populations d'*Alosa alosa***

N=nbre d'individus, P(0.95)=Proportion de polymorphisme >95%, A=Nbre d'allèle moyen par populations, Ar=richesse allélique moyenne, Ho=Hétérozygotie observée, Hnb=Hétérozygotie attendue non biaisée, Fis=Coefficient d'hybridation, Pri>Allèles Privés

Site	N	P(0.95)	A	Ar	Ho	Hnb	Fis	P-Value
Adour	13	1	4.846	4.251	0.610	0.619	0.015	0.3628
Aulne	14	1	4.462	3.807	0.494	0.552	0.109	0.0237
Charente	41	1	8.539	5.193	0.596	0.650	0.084	0.0026
Dordogne	26	1	6.692	4.738	0.619	0.663	0.068	0.0260
Garonne	25	1	6.462	4.614	0.623	0.641	0.028	0.2205
Loire	37	1	8.077	4.949	0.618	0.656	0.058	0.0119
Nivelle	30	1	5.077	3.946	0.609	0.616	0.011	0.3647
Orne	8	1	4.000	4.000	0.558	0.596	0.069	0.1679
Scorff	33	1	6.385	4.162	0.588	0.602	0.024	0.2199
Trieux	16	1	4.615	3.936	0.580	0.572	0.002	0.6109
Vilaine	30	1	5.769	4.280	0.620	0.619	-0.001	0.5189
Vire	29	1	5.000	3.744	0.540	0.541	0.010	0.4654

Tableau 5 : Indices de diversité génétique pour les populations d'*Alosa fallax*

Site	N	P(0.95)	A	Ar	Ho	Hnb	Fis	P-Value
Adour	16	0.9231	5.000	4.122	0.466	0.590	<b>0.216</b>	<b>0.0003</b>
Aude	15	1	4.769	4.020	0.570	0.615	0.076	0.054
Dordogne	15	0.9231	4.462	3.753	0.455	0.540	0.076	0.0245
Loire	10	0.9231	3.846	3.383	0.471	0.479	0.016	0.383
Orne	15	1	4.077	4.559	0.458	0.482	0.053	0.164
Rhône_V	30	1	7.000	4.419	0.590	0.593	0.004	0.458
Rhône_S	37	1	7.000	3.440	0.555	0.597	0.071	0.005
Tavignano	50	0.9231	4.615	3.455	0.531	0.555	0.043	0.059
Tavignano_	15	0.9231	3.923	3.127	0.544	0.528	-0.032	0.773
Ulla	32	0.9231	4.769	4.704	0.448	0.436	-0.028	0.781
Vidourle	10	1	5.154	3.846	0.594	0.608	0.025	0.338

### 1.3 Différenciation entre population

Le Fst global inter-espèce est de 0.234 (P=0.0001, 10 000 permutations). Le Fst global pour *A. alosa* est de 0.042 (P=0.0001, 10 000 permutations). Il est de 0.216 pour *A. fallax* (P=0.0001, 10000 permutations). Ces deux valeurs sont significativement différentes (P=0.0080, 5000 permutations).

Chez *A. alosa* 89% des comparaisons de valeurs de Fst par paires de populations sont significatives après correction (tableau 6). Toutefois les valeurs de Fst demeurent faibles et il apparaît difficile de différencier des groupes le long de la façade Atlantique. Le Fst Dordogne-Garonne est de 0 ce qui est conforme aux attendus, ces deux rivières font en effet partie du même grand bassin versant. La Nivelle s'avère être la rivière pour laquelle les Fst sont les plus importants (6% avec l'Adour, 11% avec l'Aulne). De même les populations de la Manche (Vire, Orne) apparaissent significativement différencier de celles de l'Atlantique.

Tableau 6: Coefficient de différenciation (Fst) pour *A. alosa*, valeurs obtenues dans Fstat après 2000 permutations. les valeurs non significatives, après correction par FDR, apparaissent en italique, les couleurs correspondent à des groupes possibles ayant une pertinence géographique et génétiquement différents

	Adour	Charente	Dordogne	Garonne	Loire	Vilaine	Nivelle	Aulne	Trieux	Scorff	Orne
Charente	0.028										
Dordogne	0.016	<i>0.006</i>									
Garonne	0.013	<i>0.014</i>	<i>0.000</i>								
Loire	0.027	<i>0.016</i>	<i>0.003</i>	<i>0.008</i>							
Vilaine	0.026	<i>0.031</i>	<i>0.017</i>	<i>0.023</i>	<i>0.004</i>						
Nivelle	0.062	<i>0.088</i>	<i>0.058</i>	<i>0.064</i>	<i>0.056</i>	<i>0.058</i>					
Aulne	0.056	<i>0.044</i>	<i>0.059</i>	<i>0.052</i>	<i>0.041</i>	<i>0.049</i>	<i>0.118</i>				
Trieux	0.040	<i>0.043</i>	<i>0.044</i>	<i>0.046</i>	<i>0.025</i>	<i>0.020</i>	<i>0.092</i>	<i>0.009</i>			
Scorff	0.041	<i>0.050</i>	<i>0.031</i>	<i>0.044</i>	<i>0.024</i>	<i>0.024</i>	<i>0.087</i>	<i>0.028</i>	<i>0.006</i>		
Orne	0.038	<i>0.041</i>	<i>0.038</i>	<i>0.028</i>	<i>0.035</i>	<i>0.039</i>	<i>0.071</i>	<i>0.049</i>	<i>0.046</i>	<i>0.039</i>	
Vire	0.052	<i>0.071</i>	<i>0.063</i>	<i>0.050</i>	<i>0.040</i>	<i>0.042</i>	<i>0.081</i>	<i>0.060</i>	<i>0.051</i>	<i>0.052</i>	<i>0.032</i>

Chez *A. fallax*, 82% des tests montrent des valeurs de Fst significatives (Tableau 7). Les populations du Rhône (Rhône\_V et Rhône\_S) et de Corse (Tavignano et Tavignano\_BC) ne sont pas significativement différentes. Les populations d'*A. fallax* de Méditerranée (Rhône, Aude, Vidourle) n'apparaissent pas significativement différentes entre elles mais sont différentes de toutes les autres populations (Fst compris entre 16.3% et 26%). De la même manière les populations du Tavignano sont significativement différentes de toutes les autres populations échantillonnées, avec les valeurs de Fst comprises entre 23.3% et 35.8%. Elles forment un groupe à part entière. La population de la rivière Ulla (Espagne) est significativement différenciée de toutes les autres populations avec les valeurs de Fst comprises entre 20 et 33.7%. Les populations d'*A. fallax* échantillonnées le long de la côte Atlantique (Adour, Dordogne, Loire) sont significativement différencierées des autres groupes. Enfin, la population de l'Orne est différente des individus de l'Atlantique, et forme un cinquième groupe.

**Tableau 7 : Coefficient de différenciation (Fst) pour *A. fallax*.**

	Adour	Dordogne	Loire	Orne	Ulla	Aude	Rhône_V	Rhône_S	Vidourle	Tavignano
Dordogne	0.025									
Loire	0.049	0.003								
Orne	0.176	0.137	0.121							
Ulla	0.200	0.198	0.240	0.284						
Aude	0.164	0.192	0.201	0.170	0.246					
Rhône_V	0.180	0.208	0.204	0.169	0.259	0.012				
Rhône_S	0.176	0.205	0.195	0.174	0.248	0.010	0.000			
Vidourle	0.163	0.210	0.222	0.210	0.277	0.011	0.016	0.001		
Tavignano	0.251	0.272	0.302	0.323	0.322	0.233	0.253	0.237	0.241	
Tavignano_BC	0.256	0.284	0.328	0.358	0.337	0.248	0.270	0.249	0.260	0.011

## 1.4 Approche phylogénétique et bayésienne

### 1.4.1 Approche phylogénétique

L'analyse de l'arbre de Neighbour-joining non enraciné inter-espèce est riche en information. Il montre bien la séparation entre les deux espèces avec une valeur de bootstrap de 100%.

Pour *A. alosa* on observe un groupe Atlantique (Garonne, Dordogne, Charente, Loire) qui se différencie de l'Adour et de la Vilaine. Un groupe rassemblant le Scorff, le Trieux et l'Aulne peut être différencié (bootstrap = 86%) et un groupe rassemblant l'Orne et la Vire se démarque mais avec un bootstrap faible (47.9%). Le groupe Charente, Dordogne, Garonne se distingue avec un bootstrap de 84%.

En ce qui concerne *A. fallax*, la population Corse se distingue clairement (Bootstrap = 100%), tout comme la population méditerranéenne (Bootstrap = 99,50%) confirmant l'existence d'une sous-espèce méditerranéenne et suggérant fortement l'existence d'une lignée divergente Corse en son sein. Enfin, l'Adour, la Loire et la Dordogne forment un groupe homogène le long

de la façade Atlantique (Bootstrap = 89.5%) alors que l'Orne forme le groupe « Manche » (bootstrap support=82.95%) et l'Ulla forme elle aussi un groupe différencié (bootstrap = 88.87%)

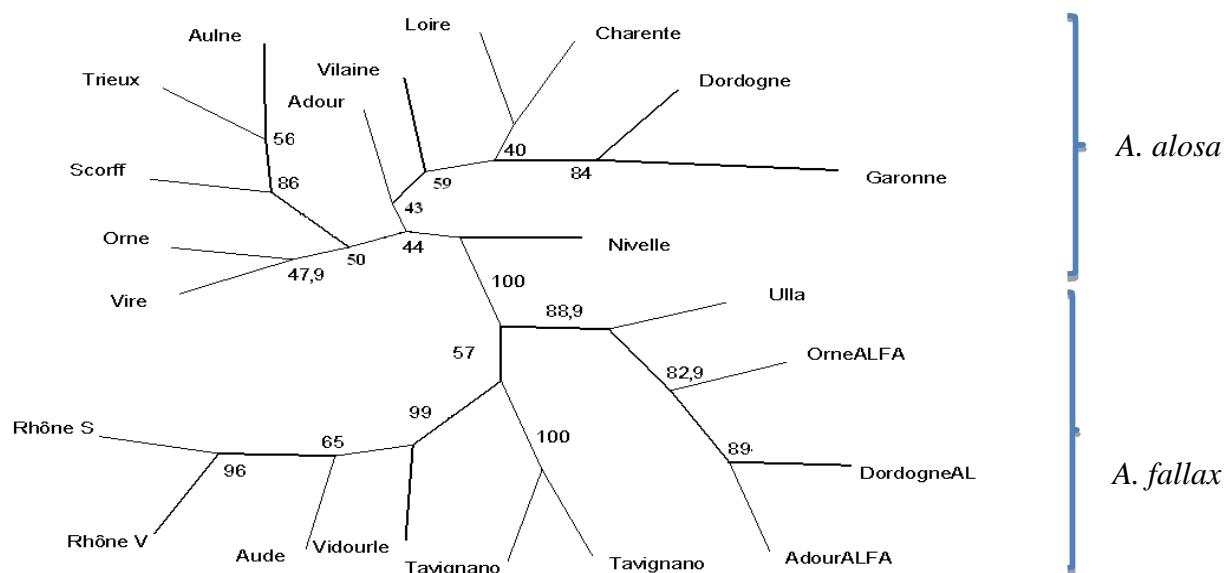


Figure 7: Arbre de Neighbour-Joining inter-espèces produit à partir des distances DCE entre les paires d'échantillons. Les nombres à l'intérieur des branches représentent les valeurs de bootstraps à partir de 10 000 répliques.

#### 1.4.2 Approche bayésienne

Chez *A. alosa*, la probabilité est maximale pour K=4 clusters ( $\text{LnP}(\text{Data}) = -11231$ , Annexe 8). La méthode du  $\Delta K$  montre un pic pour K=4, ( $\Delta K=39$ ). Le nombre de cluster le plus pertinent correspond donc à K=4 (Figure 8 et annexe 8 pour les graphes). Les probabilités d'assignations montrent un degré d'« admixture » assez grand au sein de l'atlantique alors que la Nivelle se distingue fortement. L'assignation aux groupes est moins marquée que pour *A. fallax* (annexe 8et figure 11).

Chez *A. fallax*, la probabilité est maximale pour K=8 ( $\text{LnP}(\text{Data}) = -8178$ ) mais les écarts-types sont minimaux pour K=3, K=4, K=5. La méthode du  $\Delta K$  montre un pic pour **K=3** ( $\Delta K=881$ ) et décroît progressivement vers **K=4** ( $\Delta K=100$ ) et à **K=5** ( $\Delta K=12$ ). Les graphes montrent que la structure à K=3 et K=5 est pertinente (Cf annexe 8 et figure8).

Deux niveaux hiérarchiques de structuration sont donc retenus : Le premier pour **K=3** sépare en effet les sous espèces *Alosa fallax fallax* (groupe Atlantique), *Alosa fallax Rhodanensis* (groupe méditerranéen) et *Alosa fallax Rhodanensis* du Tavignano (groupe Corse). La structuration pour **K=5** cluster est aussi pertinente et correspond à 5 régions géographiques : Le Rhône, La Corse, l'Ulla, L'Atlantique français et L'Orne (figure8, annexe 8)

Ces 5 régions étant fortement structurées comme mis en évidence par les analyses précédentes, il peut être difficile de détecter une structuration plus fine le long de l'Atlantique. Des analyses incluant uniquement les échantillons de l'Atlantique ont donc été effectuées. Le calcul du  $\text{LnP}(D)$  et du  $\Delta K$  montrent une structuration pertinente en **K=3** groupes (Adour, Loire-Dordogne, Orne) avec  $\Delta K=15,28$ , lorsque seul les individus capturés en rivière sont pris en

compte (annexe 8). Au final une structuration en 6 groupes est donc pertinente : Adour, Loire-Dordogne, Orne, Ulla, Corse, Méditerranée. Enfin, on observe nettement l'existence d'un individu assigné au Tavignano dans la population du Rhône (P=100%).

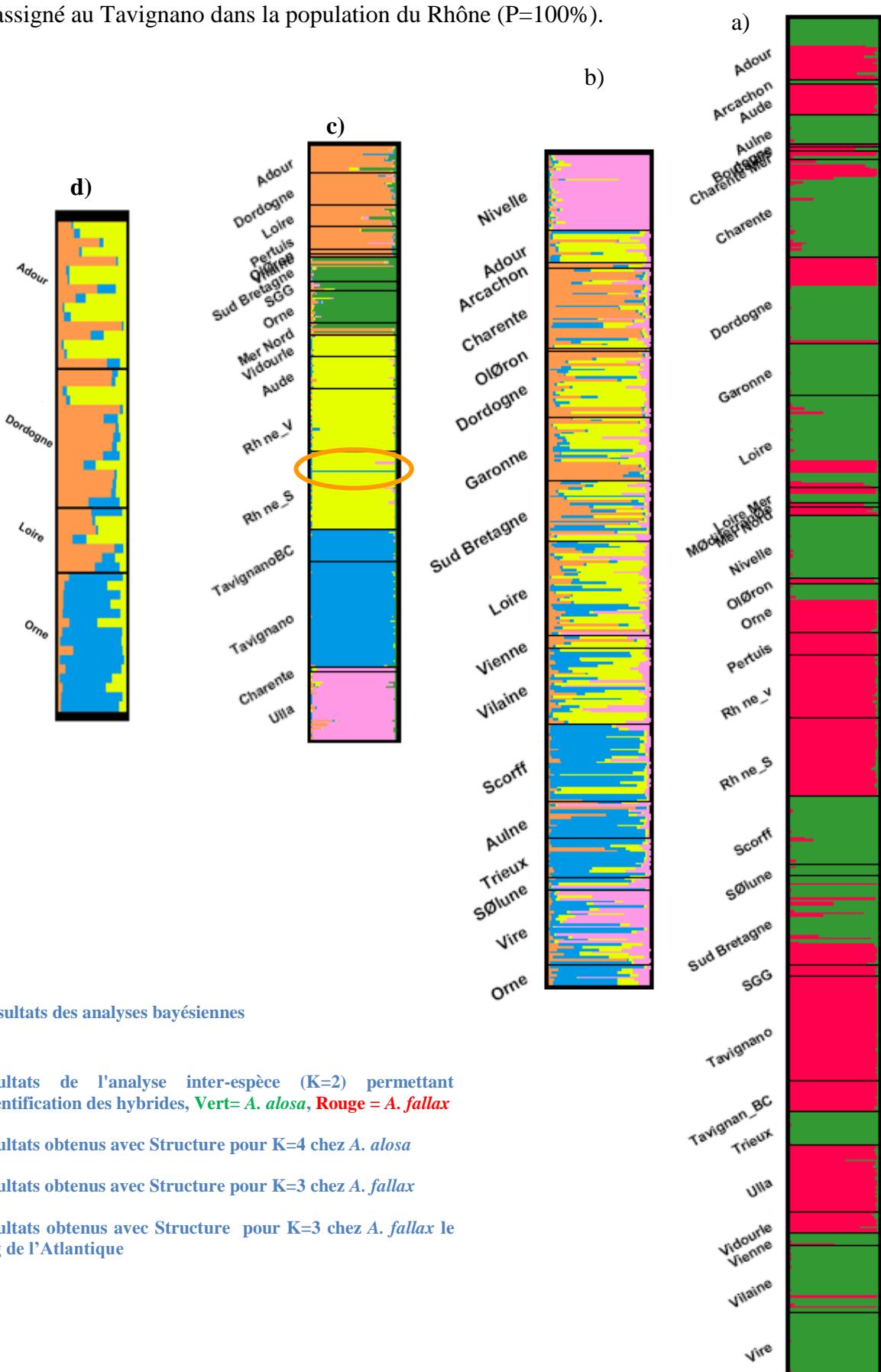


Figure 8 : Résultats des analyses bayésiennes

- (a) Résultats de l'analyse inter-espèce ( $K=2$ ) permettant l'identification des hybrides, Vert= *A. alosa*, Rouge = *A. fallax*
- (b) Résultats obtenus avec Structure pour  $K=4$  chez *A. alosa*
- (c) Résultats obtenus avec Structure pour  $K=3$  chez *A. fallax*
- (d) Résultats obtenus avec Structure pour  $K=3$  chez *A. fallax* le long de l'Atlantique

## 1.5 Isolement par la distance

Les tests effectués pour chaque espèce montrent un patron significatif d'isolement par la distance aussi bien à l'échelle des populations que des individus (tableau 8 et figure 9). Des tests effectués chez *A. fallax* en incluant uniquement les sites de l'Atlantique sont significatifs ( $r=0.9483$ ,  $p=0.0082$ ).

Tableau 8 : Résultats des tests de Mantel effectué pour chaque espèces à l'échelle des populations (r inter population) et à l'échelle des individus (r inter individus)

Espèce	r Inter population	p-value	r inter individu	p-value
<i>A. alosa</i>	0.4451	0.0001	0.3	0.11
<i>A. fallax</i>	0,6508	0.0001	0.44	0.0001

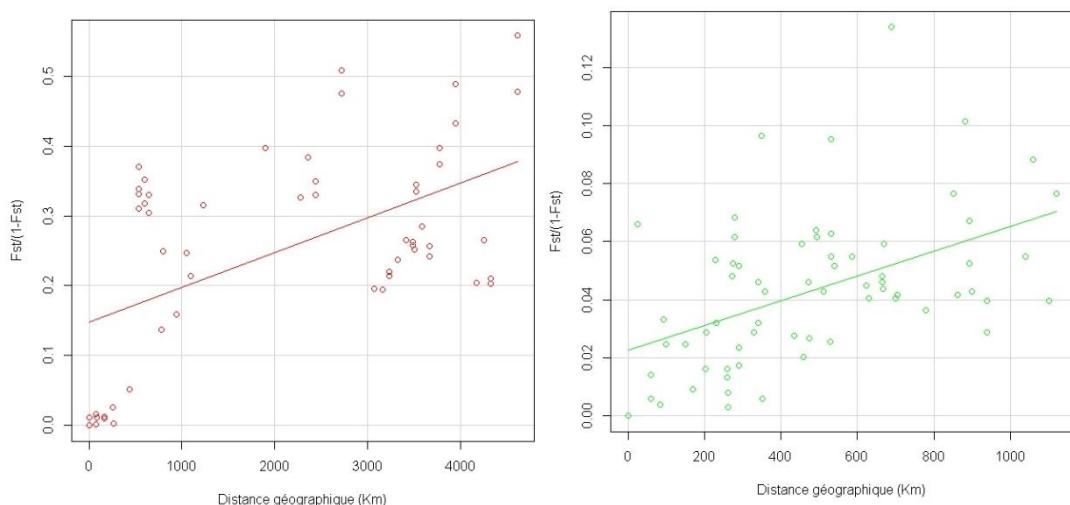


Figure 9 : (a) Isolement par la distance chez *A. fallax*

(b): isolement par la distance chez *A. alosa*

## 1.6 Assignation d'individus capturés en mer à un groupe d'origine et recherche des migrants.

### Assignation d'individus capturés en mer :

Chez *A. alosa* un total de 28 individus pêchés en mer a fait l'objet de tests d'assignations et 17 ont pu être classés dans des groupes avec une probabilité supérieure à 65% (tableau 10). Les 11 autres individus sont assignés à des groupes mais avec de faibles probabilités. (cf Annexe 9).

Tableau 9 : Résultats des tests d'assignations chez *A. alosa* effectués avec le logiciel Geneclass

Site Capture	Groupe d'assignation	Nb individus	Probabilité
Sud Bretagne	Charente-Dordogne-Garonne-Loire	6	69-82%
	Aulne	3	68-95%
	Adour	1	69%
	Nivelle	2	94 - 98%
	Scorff	1	84%
Oléron	Charente	1	94%
Arcachon	Charente	1	97%
	Aulne	1	84%

Chez *A. fallax* un total de 40 individus pêchés en mer a été utilisé dans les tests d'assignations. Sur les 40 individus, 33 ont pu être classés dans des groupes possibles avec une probabilité supérieure à 65% (tableau 11). Les 7 autres individus sont assignés avec des probabilités faibles. (**cf Annexe 9**).

**Tableau 10 : Résultats des tests d'assignations chez *A. fallax* effectués avec le logiciel Geneclass**

<b>Site Capture</b>	<b>Groupe d'assignation</b>	<b>Nb individus</b>	<b>Probabilité</b>
Sud Bretagne	Orne	9	82-100%
	Vilaine	1	100%
	Charente	1	79%
	Loire	1	89%
Mer du Nord	Orne	4	98-100%
	Vilaine	1	100%
Sud Golfe Gascogne	Orne	4	99-100%
	Charente	1	69%
Oléron	Adour	2	67 & 86%
Pertuis Charentais	Vilaine	2	73 & 93%
	Dordogne	3	75 – 89%
	Adour	1	97%
Charente Mer	Charente	2	70 & 80%

### **Recherche de migrants**

Chez *A. alosa* un individu par site échantillonné est détecté comme migrant provenant d'un autre site, excepté sur la Loire où aucun migrant n'est détecté. 11 individus sont donc déclarés comme migrants au seuil  $P<0.001$  soit 3% de migrants. Le listing détaillé est donné **annexe n°10**.

Chez *A. fallax* un total de 10 migrants a été détecté au seuil  $P<0.001$  soit 4% des individus. 2 individus échantillonnés comme migrants sur le Rhône\_V sont assignés au site Rhône\_S. 2 individus du Vidourle proviendraient du Rhône. Dans chaque population de l'Atlantique un individu par site échantillonné est déclaré migrant d'un autre site. Aucun migrant n'est détecté sur l'Aude ni sur l'Ulla. Les détails sont données **annexe n°10**.

## 2. Résultats de la microchimie des otolithes

### 2.1 Fréquentation des habitats par les deux espèces

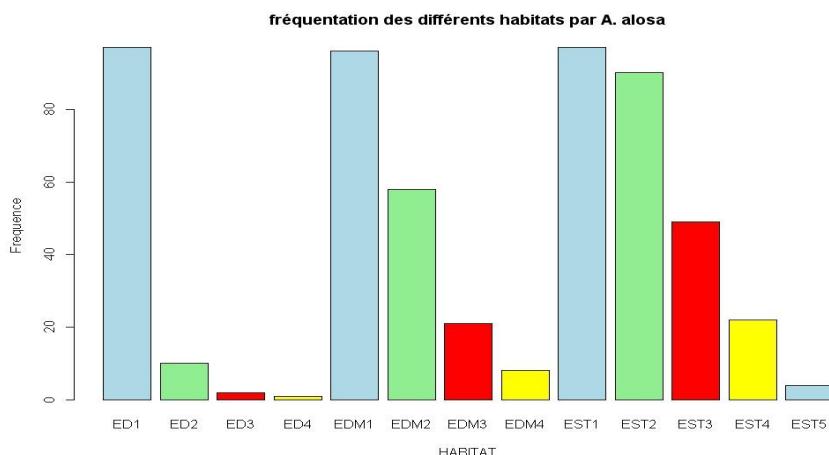


Figure 10 : Fréquence de fréquentations des habitats par *A. alosa*. ED=Eau Douce, Est=Estuaire, EDM=Mer, les chiffres (1 à n) correspondent aux retours dans le milieu ED, EDM, EST

La figure 10 montre que tous les *A. alosa* sont nés en rivière, et possèdent au moins une phase estuarienne et une phase marine. 10% des individus présentent une deuxième phase en eau douce, indiquant un possible retour pour la reproduction. 90% des individus possèdent une seconde phase estuarienne et 50% trois phases estuariennes après des périodes en mer. 55, 20 et 10% des individus possèdent une seconde, troisième et quatrième phase marine respectivement.

La figure 11 montre que la relation Sr/Ca et Ba/Ca chez *A. alosa* ne permet pas de discriminer de manière évidente les individus selon leur origine dulcicole. Toutefois 9 individus de Loire et 1 individu de Sud Bretagne se détachent du groupe. De même certains individus du Sud Bretagne présentent leur propre signature. Enfin, les individus de l'Adour se différencient faiblement par une signature propre, riche en Sr/Ca. Il reste néanmoins difficile de tirer des conclusions à partir de ces résultats.

La figure 12 montre que tous les *A. fallax* sont nés en rivière et ont au moins une phase en estuaire. 80% se rendent en mer une fois et 30% effectuent deux allers-retours en mer. 20% des individus ont une deuxième phase en eau douce marquée et une troisième phase en eau douce est observée chez 2 individus (ALFA116 et ALFA11). Un exemple de graphe est donné figure 14.

La figure 13 montre la difficulté à discriminer les individus selon leur origine à partir des éléments Sr/Ca et Ba/Ca. Seuls les individus de Calais, de Mer Celtique et de Mer du Nord se différencient faiblement des autres individus.

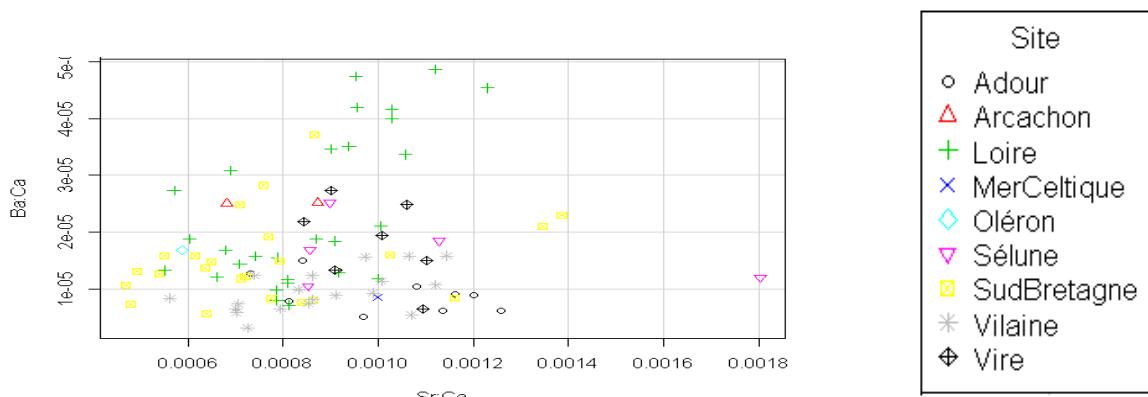


Figure 11 : Graphe des relations Sr/Ca et Ba/Ca pour chaque individu *A. alosa* échantillonnes par site, relation établi uniquement à partir de la signature en Eau Douce

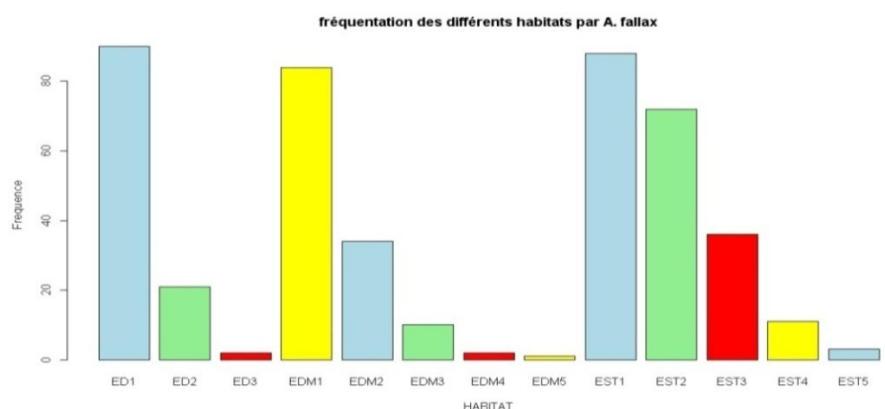


Figure 12 : Fréquence de fréquentations des habitats par *A. fallax*. ED=Eau Douce, Est=Estuaire, EDM=Mer, les chiffres (ex: ED1 à n) correspondent aux retour dans le milieu ED, EDM, EST

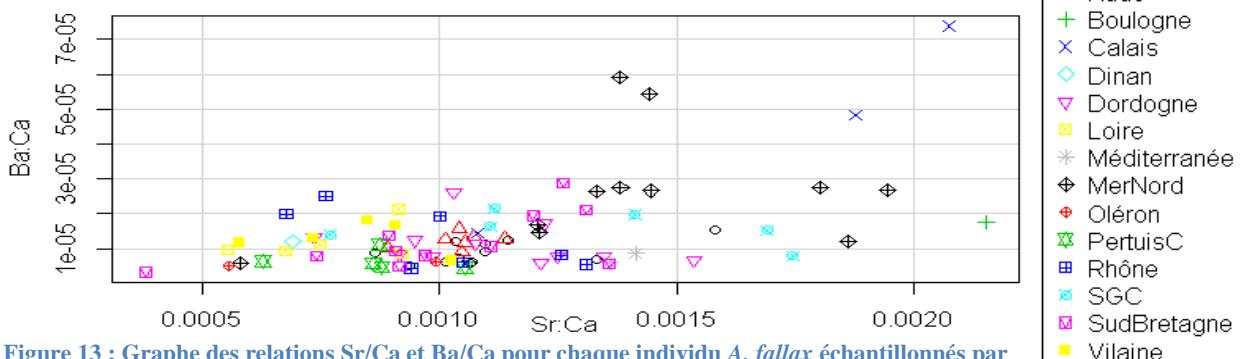


Figure 13 : Graphe des relations Sr/Ca et Ba/Ca pour chaque individu *A. fallax* échantillonnes par site. Relation établie à partir de la signature en Eau Douce uniquement.

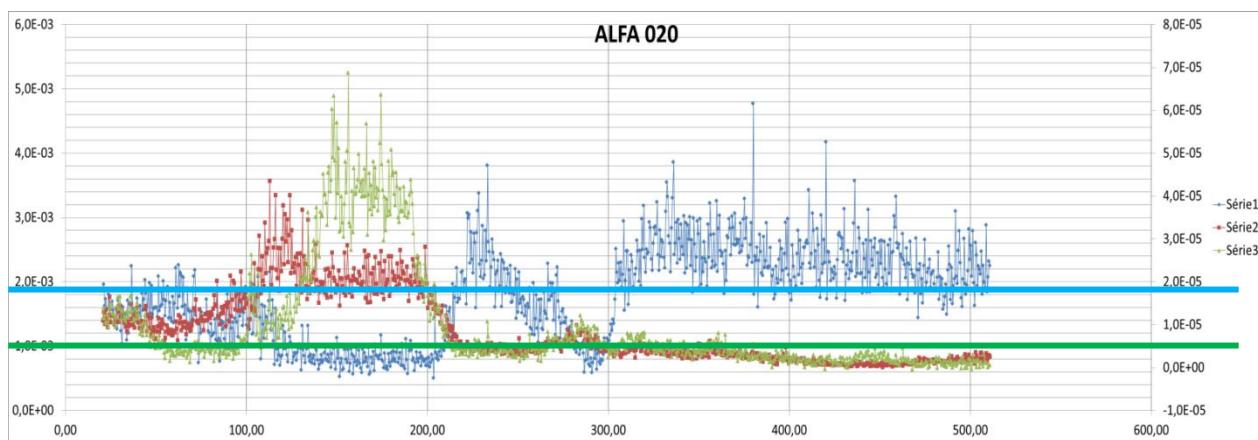


Figure 14 : Individu femelle de 1300 g capturée dans l'estuaire de la Loire. La courbe Bleue représente le Sr/Ca, la courbe Verte correspond au Mn/Ca (le pic localise le nucléus), la courbe Rouge correspond au Ba/Ca, la droite Bleue représente le seuil de sortie de l'estuaire. La droite Verte représente le seuil d'entrée dans l'estuaire

## 2.3 Distinction des espèces par la signature marine

Afin de supprimer la variabilité géographique dans les signatures, seul le site « Sud Bretagne » où les deux espèces étaient en sympatrie a été pris en compte. Les deux espèces se différencient significativement par leur teneur en Mn ( $p=0.0001$ ), Pb ( $p= 0.006$ ), et Cd114 ( $p= 0.04$ ). L'ACP permet de différencier les deux espèces sur le premier plan mais cette différenciation reste faible (Figure 15). Une analyse hiérarchique confirme les résultats obtenus (résultats non montrés).

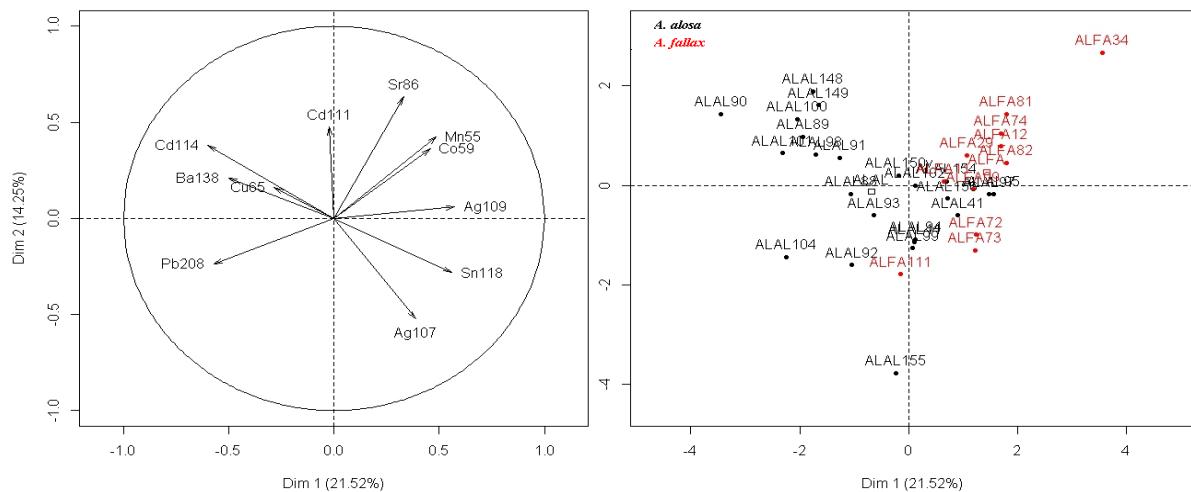


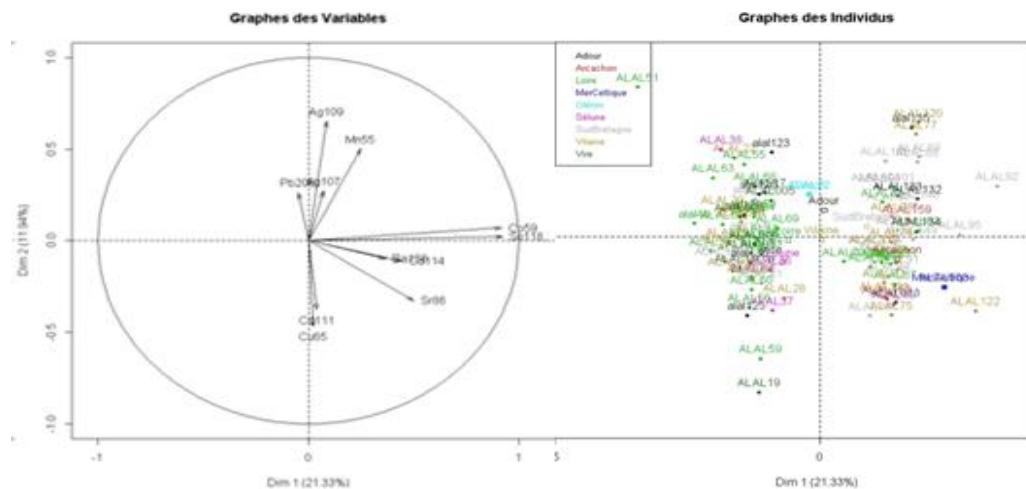
Figure 15 : ACP réalisée à partir de la signature marine des individus capturés en Sud Bretagne. (a): Graphe des variables (b) Graphe des individus

## 2.4 Distinction de groupes à partir des signatures marines

Tous les individus ont été utilisés afin de discriminer des groupes sans a priori de provenance. A chaque fois la dernière signature marine a été utilisée pour la discrimination.

Chez *A. alosa* une ACP (figure 16) montre une séparation en deux groupes, il s'agit en fait de groupes possédant les éléments analysés et de groupes dont la teneur en éléments analysés est en dessous des limites de détection. Une classification hiérarchique ascendante réalisée suite à l'ACP permet une classification en 4 groupes (**Annexe 11<sup>2</sup>**). Le premier groupe se différencie ( $P<0.001$ ) par ses valeurs en Sr/Ca, Cd114/Ca, Pb/Ca, Sn/Ca et Co/Ca. Ce groupe présente un degré de mélange important et regroupe des individus de l'Adour, de la Sélune, de la Vilaine, de la Vire ou encore de la Loire. Le second groupe se différencie par ses valeurs en Pb/Ca, Sn/Ca et Co/Ca. Il est aussi composé d'un mélange d'individus des différents sites échantillonnés. Le troisième groupe se différencie par ses valeurs en Co/Ca, Sn/Ca, Cd114/Ca, Sr/Ca et Mn/Ca. Le quatrième cluster se différencie par ses valeurs en Ba/Ca, Mn/Ca, Co/Ca et Sn/Ca.

<sup>2</sup> Etant donné l'absence de résultats discriminants, les ACP et résultats de classifications qui suivent sont simplement donnés en annexe 11 et 12 à titre illustratif.



**Figure 16 : ACP réalisée chez *A. alosa* à partir de la dernière signature marine. (a): Graphe des variables (b) Graphe des individus.**

Chez *A. fallax*, l'ACP effectuée permet de distinguer les individus de l'Aude du Rhône et de la Corse des individus de la façade Atlantique. La projection des variables sur le premier plan est assez mauvaise et l'inertie totale est de 40%. Une classification hiérarchique ascendante permet une classification en 4 groupes (**cf annexe 11**). Le premier groupe se différencie par ses valeurs en Ba/Ca Sr/Ca, Cd114/Ca, Co/Ca Pb/Ca, Sn/Ca. Il est composé de tous les individus de Mer du Nord, de Calais, Dinan, Boulogne, et de quelques individus de Dordogne et Loire. Le second groupe se différencie par ses valeurs en Cd114/Ca, Mn/Ca Pb/Ca, Ba/Ca Sr/Ca ( $p<0.001$ ). Le troisième groupe se différencie par ses valeurs en Pb/Ca, Co/Ca, Sn/Ca ( $P<0.00001$ ). Il regroupe les individus de l'Aude, du Rhône et de l'Aude à l'exception de 2 individus de l'Aude classés dans un 4<sup>ème</sup> cluster se différenciant par la teneur en Cu/Ca, Mn/Ca, Pb/Ca, Ag/Ca, Sn/Ca.

L'analyse linéaire discriminante n'a pu être effectuée par manque de variabilité entre les groupes aussi bien chez *A. alosa* que chez *A. fallax*. En effet, pour effectuer l'analyse linéaire discriminante, il est nécessaire de pouvoir classer les individus dans des groupes pertinents.

## 2.5 Distinction de groupes à partir des signatures dulcicoles

Comme précédemment tous les individus capturés ont été utilisés pour discriminer des groupes sans a priori de provenance et la première signature eau douce a été utilisée. Il n'était pas pertinent de n'utiliser que les individus capturés en estuaire ou en rivière. En effet, ceux-ci étaient capturés au stade adulte, en migration, mais il n'est pas possible de savoir si les individus avaient pour rivière d'origine leur rivière de capture ou s'il s'agissait de disperseurs. Ceci justifie donc une approche sans construction de groupe à priori.

Chez *A. alosa*, l'ACP montre qu'il n'est pas possible de discriminer des groupes par leur teneur en éléments (**Annexe 12**). La projection des variables est assez mauvaise et l'inertie totale du premier plan est de 35%. La classification hiérarchique propose une séparation optimale en trois groupes. Le troisième cluster est composé de trois individus, l'un de l'Adour, les deux autres

du Sud Bretagne. Ce cluster se distingue par ses valeurs en Cd114/Ca, Ag/Ca, Co/Ca Sn/Ca ( $P<0.001$ ). Les deux autres clusters ne permettent pas de distinguer des groupes géographiques de capture, les individus se mélangeant dans les deux clusters sans logique particulière (Annexe 12). L’analyse linéaire discriminante n’a pas pu être mise en œuvre.

Chez *A.fallax*, l’ACP permet de distinguer faiblement les individus capturés dans le Rhône et l’Aude malgré une projection des variables assez mauvaise sur le premier plan (Annexe 12). Le Rhône se différencie par ses teneurs en barium et magnésium alors que l’Aude se différencie par ses teneurs en argent et cobalt. Il n’est pas possible de distinguer les individus de la façade Atlantique.

La classification hiérarchique propose une coupure optimale pour 3 clusters. Le premier cluster regroupe une majorité d’individus capturés en Mer du Nord, à Calais et Boulogne. Il se différencie par ses valeurs en Co/Ca, Pb/Ca, Sr/Ca, Cd114/Ca, Sn/Ca, Mn/Ba, Ba/Ca ( $P<0.001$ ). Le second cluster regroupe tous les autres individus de la façade Atlantique. Il se différencie par ses valeurs en Ba/Ca, Mn/Ba, Sr/Ca, Sn/Ca, Cd114/Ca, Co/Ca, Ag/Ca ( $P<0.01$ ). Le 3<sup>ème</sup> cluster regroupe les individus capturés dans le Rhône, l’Aude et la mer Méditerranée. Il se différencie par ses valeurs en Sn/Ca, Cd114/Ca, Co/Ca, Pb/Ca (Annexe 12). L’analyse linéaire discriminante n’a encore une fois pas pu être effectuée pour les mêmes raisons que précédemment.

# Discussion

---

## 1. Génétique

L'objectif général de l'étude génétique était de connaître le niveau de structuration des populations d'*Alosa alosa* et d'*Alosa fallax* et de déterminer le nombre de stock au niveau national français et leur diversité génétique. Nos résultats montrent l'existence de plusieurs stocks différenciés et suggèrent un fonctionnement en métapopulation comme nous allons le voir par la suite. L'hybridation a aussi été étudiée car susceptible d'apporter des informations pertinentes sur les impacts humains et peut servir finalement à la gestion des populations.

### 1.1 Diversité et Structuration génétique intra spécifique

#### 1.2.1 Diversité interspécifique

Le tableau 13 montre que le polymorphisme de nos marqueurs est similaire à ceux de Faria *et al.*, (2004). Notons que la diversité observée est inférieure à celle généralement observée chez les espèces anadromes (De Woody et Avise, 2000) et qu'elle est aussi inférieure à celle observée chez *A. sapidissima*.

Nos marqueurs peuvent donc être considérés comme utiles dans l'analyse de structure des populations à venir et pour des études ultérieures.

Tableau 11 : Comparaison des niveaux de diversité observés à l'aide de nos marqueurs avec les niveaux de diversité observés à partir de marqueurs microsatellites chez *A. alosa* (Faria *et al.*, 2004) et *A. sapidissima* (Waters *et al.*, 2000, Julian et Barton, 2007)

	Cette étude		Faria <i>et al.</i> , 2004		Waters <i>et al.</i> , 2000		Julian et Barton, 2007	
	$\mu_A$	$\mu_{Ho}$	$\mu_A$	$\mu_{Ho}$	$\mu_A$	$\mu_{Ho}$	$\mu_A$	$\mu_{Ho}$
<i>A. alosa</i>	0.52	0.59	0.488	0.56	/	/	/	/
<i>A. fallax</i>	5	0.52	4.5	0.445	/	/	/	/
<i>A sapidissima</i>	/	/	/	/	15.8	0.80	15.4	0.811

Une analyse spatiale de la richesse allélique montre que celle-ci varie de manière croissante, selon un gradient géographique Nord-Sud chez les deux espèces à l'exception de l'Orne. On retrouve là l'hypothèse de phylogéographie selon laquelle le Sud de l'Europe aurait servi de refuge lors des dernières glaciations. La colonisation postglaciaire s'étant faite par le sud, cela expliquerait les niveaux de diversité moins importante en direction du Nord. Ces explications sont en accord avec l'hypothèse selon laquelle les populations sources d'*Alosa spp* proviendraient de la région méditerranéenne (Legall, 2000). La diversité moins importante chez les populations de Corse suggère l'isolement de ce groupe. Cette population est isolée, peu alimentée par les migrations externes et vraisemblablement de taille réduite entraînant de fait une perte de diversité sous l'effet de la dérive génétique.

### **1.2.2 Structuration chez *A. alosa***

La mesure des valeurs de Fst suggère une structuration en 4 groupes avec notamment la Nivelle qui se démarque par des Fst forts. On note un groupe Atlantique qui s'étend de l'Adour à la Vilaine. Les 2 autres groupes séparent la Bretagne (Aulne, Scorff, Trieux) et la Normandie (Orne-Vire) mais leur degré de différenciation, tout en étant significatif, reste faible.

L'analyse phylogénétique confirme la singularité de la Nivelle et l'existence d'un groupe Bretagne. Les groupes Atlantique et Normandie semblent aussi se différencier sans certitude.

L'analyse bayésienne en incluant les individus capturés en mer permet d'obtenir un nombre de cluster pertinents égal à 4 avec la Nivelle, la Charente, l'Atlantique et la Bretagne-Normandie.

Finalement, c'est la structuration hiérarchique en **4 groupes** (« Atlantique », « Nivelle », « Charente », « Bretagne-Normandie ») qui est retenue.

Le groupe Atlantique se compose de l'Adour, La Dordogne, La Garonne, la Loire, la Vienne, la Vilaine et des individus capturés en mer (Sud Bretagne, Oléron, Arcachon). Le groupe « Bretagne-Normandie » se compose du Scorff, de l'Aulne, du Trieux, de l'Orne, et de la Vire.

La différence au sein des clusters est faible et les analyses spatiales montrent un isolement par la distance significatif entre populations mais non significatif entre individus suggérant ainsi un **flux génétique important** au sein de ces clusters. Ceci peut être relié à la proximité des sites échantillonnés. Par exemple l'estuaire de la Vilaine est situé à moins de 90 km de celui de la Loire. La distribution spatiale au sein du groupe « Atlantique » comme au sein du groupe « Bretagne-Normandie » est très vaste avec, pour le groupe Bretagne Normandie, une distance maximale de 539 km entre deux sites ce qui suggère que les flux de gènes peuvent se produire même à grande distance chez *A. alosa*.

Les populations de l'Aulne, du Trieux, du Scorff, de l'Orne et de la Vire montrent une certaine diversité mais sont faiblement différenciées ( $Fst=0.006$  à  $0.06$ ) et groupées ensemble. Ceci peut être lié au pouvoir de détection limité des méthodes d'estimation bayésienne lorsque le degré de différenciation génétique est faible (Faubet *et al.*, 2007). Il apparaît surprenant de ne pas obtenir une différence entre Bretagne et Normandie, telle qu'observée chez *Salmo salar* (Perrier *et al.*, 2011b). Il est souhaitable d'augmenter le nombre d'échantillons provenant de la baie du Mont Saint Michel et des régions voisines pour améliorer la précision des résultats. Des événements de colonisation peuvent expliquer cette structuration en un seul groupe. Il est possible que le déplacement des populations vers le nord en réponse au réchauffement climatique engendre la colonisation de nouveaux sites. Par exemple, les populations de l'Orne et de la Vire sont présentes depuis longtemps alors que les populations du Scorff et du Trieux se sont vraisemblablement installées récemment (Baglinière, comm. pers.). Il serait alors intéressant de quantifier l'évolution temporelle de la structure génétique des populations.

En revanche, La Nivelle se différencie fortement des autres groupes. Bien qu'aucun hybride n'ait été détecté avec le logiciel Structure, on ne peut pas exclure la présence d'hybrides F2 ou d'individus issus de backcrossing avec des individus d'*A. fallax* provenant de rivières voisines. Une introgression génétique a pu accroître les différences avec les autres populations de l'Atlantique. De plus, trois hybrides ont été trouvés sur l'Adour, rivière proche. Les connaissances actuelles ne mentionnent pourtant pas de problème d'hybridation sur l'Adour et les frayères décrites concernent essentiellement *A. alosa*. Un chevauchement des zones de frayères est tout de même possible.

La Charente se différencie aussi des 3 groupes précédents alors que tous les hybrides ont été exclus précédemment. Cette population se compose d'individus de 1998. Ceci suggère un changement dans les fréquences alléliques et finalement dans la structure spatiale des populations au cours des 14 dernières années. Il est possible que les dispersions d'individus dans cet intervalle de temps aient modifié la structuration génétique le long de la façade atlantique entraînant ainsi cette singularité. Il n'est pas sûr qu'une analyse intégrant des échantillons de 2011 ou 2012 permette de distinguer la Charente des autres populations.

### **1.2.2 Structuration chez *A. fallax***

Les coefficients de différenciation (Fst) suggèrent une structuration en 5 groupes «Méditerranée», «Corse», «Ulla», «Atlantique», «Orne». **La différenciation entre ces groupes est très importante et bien supérieure à celle observée chez *A. alosa*.**

L'analyse phylogénétique confirme les résultats précédents en différenciant les mêmes groupes avec un niveau de certitude bien supérieur à celui obtenu chez *A. alosa*.

L'analyse bayésienne montre une structure hiérarchique à deux niveaux : Le premier niveau permet de déterminer 3 groupes dont 2 sont considérés comme sous-espèces (*A. fallax fallax* le long de la côte Atlantique, *A. fallax rhodanensis* en Méditerranée), le troisième groupe correspond à *A. fallax rhodanensis* de Corse. Ces résultats suggèrent l'existence de lignées divergentes, comme chez *Salmo trutta*, plutôt que de sous-espèces.

Finalement, c'est le second niveau de structuration qui se compose de **6 groupes pertinents** : «Adour», «Loire-Dordogne», «Orne», «Méditerranée», «Corse», «Ulla». Une analyse avec le logiciel Geneland (Guillot *et al.*, 2005), confirme l'existence de ces six clusters (résultats non montrés). Le degré d'admixture au sein des clusters atlantique (2<sup>ème</sup> niveau hiérarchique) est plus grand que celui déterminé dans le premier niveau hiérarchique. Toutefois à échelle géographique comparable ce degré d'admixture est moins important que chez *A. alosa* montrant ainsi un **plus grand flux génétique chez *A. alosa* que chez *A. fallax***.

Chez *A. fallax* le niveau de structuration entre chaque cluster est très important mais demeure fort au sein de chaque cluster. Ceci suggère un flux génétique plus restreint lié à une

dispersion moins élevée que chez *A. alosa* (bien que des individus semblent tout de même parcourir des distances conséquentes) et peut-être aussi à des populations de tailles (N) plus petites engendrant un flux génétique (Nm) moins important. Cette moindre dispersion est un trait écologique des populations d'aloises feintes qui lors de leur phase marine s'éloignent peu des zones côtières et estuariennes. Les sites échantillonnés au sein des clusters sont généralement proche, en revanche la distance les séparant est supérieure à 250 km montrant que le flux de gènes est restreint à une échelle régionale ou locale.

### 1.2.3. Comparaison interspécifique

Chez *A. alosa* nous avons montré une diversité génétique plus grande que chez *A. fallax* mais une structuration génétique faible à modérée, alors que *A. fallax* montre une structuration génétique forte avec un patron d'isolement par la distance clair aussi bien à l'échelle individuelle que populationnelle. L'étude des individus capturés en mer montre l'importance de la dispersion chez les 2 espèces. Ainsi des individus d'*A. fallax* capturés en Sud Bretagne sont assignés avec une grande certitude à l'Orne, aussi bien à l'aide de Structure que de Geneclass. Au contraire, l'assignation des individus d'*A. alosa* capturés en mer est moins précise, peut-être parce que nous n'avons pas échantillonné l'ensemble des populations sources potentielles. Un échantillonnage plus exhaustif des populations d'*A. alosa* au nord de la Loire permettrait certainement d'augmenter la précision des assignations.

Ces résultats sont en accord avec les observations d'Alexandrino *et al.*, (2006) à l'échelle Européenne et celles de Joly *et al.*, (2011b) en Grande Bretagne. En revanche nos résultats diffèrent de ceux obtenus par Volk *et al.*, (2007) chez les populations danoises d'*A. fallax* soit en raison d'une dispersion plus grande des populations danoises soit en raison de biais d'échantillonnage (Hasselman, 2008). Cette contradiction s'explique certainement par la différence entre l'échelle d'étude de Volk *al.*, (2007) ( $\approx 500$  km) et la nôtre ( $> 4000$  km).

Les **analyses spatiales** montrent que la distance inter-estuaire influence la structure génétique des deux espèces. Ces résultats sont en accord avec ceux de Joly *et al.*, (2011b) pour *A. fallax*. L'IBD mesuré chez *A. alosa* est inférieur à celui mesuré chez *A. fallax* et n'est pas significatif à l'échelle interindividuelle. Cette différence avec *A. fallax* s'explique certainement par la plus grande proximité entre les sites échantillonnés, une dispersion plus grande chez *A. alosa* et donc un **flux génique plus important** tendant à homogénéiser la structure des populations.

## **1.2 Un fonctionnement en métapopulation ?**

Bien que la pertinence des méthodes bayésiennes sous certaines conditions (ex : pattern d'IBD) puisse être remise en question (Franz *et al.*, 2008; Kalinowski, 2010), la comparaison avec les autres méthodes d'investigations permet d'avancer des conclusions importantes pour la gestion des populations. Ainsi la structuration en groupes souvent proches géographiquement, la différenciation moyenne à forte entre les clusters et faible aux seins des clusters, le plus faible taux d'admixture chez *A. fallax*, le flux de gènes restreint (surtout chez *A. fallax*), et le patron d'IBD suggèrent **un fonctionnement en métapopulation** (Hanski, 1999) à une échelle régionale restreinte chez *A. fallax* (<260 km) et plus large chez *A. alosa* (<500km).

Pour *A. alosa*, un modèle en métapopulation paraît pertinent aussi bien pour des clusters composés essentiellement de grands cours d'eau (Loire-Vilaine, système Garonne-Dordogne) que dans le cluster « Bretagne-Normandie » composé de rivières plus petites et où l'on s'attend à une taille efficace des populations plus faibles. Les migrations au sein de ces rivières permettraient un maintien des populations et expliqueraient alors l'existence d'un seul cluster Bretagne-Normandie. Ce modèle ne semble pas s'appliquer pour la Nivelle. Les raisons conduisant à la formation d'un cluster unique pour la Nivelle et la Charente ne sont pas connues actuellement.

Chez *A. fallax* le modèle en métapopulation s'applique particulièrement bien à chaque groupe. Par exemple, la différenciation au sein du groupe Méditerranéen est très faible, suggérant des échanges génétiques relativement importants entre les rivières de ce groupe. Il en est de même pour le groupe de l'Atlantique français. Afin de mieux connaître les relations au sein des *A. fallax* échantillonnées sur l'Orne, il serait intéressant d'obtenir des échantillons provenant de Grande Bretagne (exemple : rivières Tamar, Hastings). De même il serait intéressant d'obtenir des échantillons du Portugal et de l'Espagne afin de vérifier leur relation avec l'Ulla.

L'estimation des taux de migrations à l'aide du logiciel Geneclass a permis de détecter 3 % de migrants chez *A. alosa* et 4% de migrants chez *A. fallax*. Une hypothèse importante est que toutes les populations sources soient bien échantillonnées et que la différenciation entre population soit suffisante pour obtenir une estimation précise. L'estimation ici donne donc un ordre de grandeur sans être complètement fiable. En effet, du fait de la faible différenciation entre certains sites, des individus identifiés statistiquement comme migrants ne le sont pas d'un point de vue biologique. C'est le cas des individus du Rhône par exemple.

A première vue, le degré de structuration supérieur chez *A. fallax* suggère un comportement de homing en direction des bassins versants de naissance plus précis chez cette espèce que chez *A. alosa* comme proposé par le passé (Alexandrino *et al.*, 2006, Jolly *et al.*, 2011b). Toutefois, notre méthode ne permet pas de trancher quand à la réalité du phénomène. En effet, malgré un degré de structuration supérieur chez *A. fallax*, nous avons trouvé un nombre de migrants similaire entre

les deux espèces. Cela suggère que les populations d'*A. alosa* sont de plus grande taille (N) que celles de *A. fallax*, entraînant ainsi un plus grand flux de gènes (Nm) au sein des groupes et expliquant finalement le degré de structuration plus faible observé chez la première espèce. Comme montré chez le saumon, la dispersion en mer peut-être très intense et la structuration génétique faible mais le degré de homing très important (Perrier *et al.*, 2011b). Il n'est donc finalement pas pertinent de trancher sur le homing des deux espèces à partir de la génétique.

### **1.3 Structure génétique interspécifique : Conséquences de l'hybridation?**

L'hybridation peut menacer la survie d'espèces en transformant un complexe d'espèce en un unique groupe d'hybride « hybride swarm » suite à une perte d'hétérogénéité dans l'habitat ou à la réduction des densités de populations (Seehausen *et al.*, 2008 Joyce *et al.*, 2011). Au contraire, l'hybridation peut augmenter la diversité spécifique par radiation adaptative lors de la colonisation de nouvelles zones (Seehausen, 2004). L'hybride peut être également plus tolérant et moins sensible à la modification du milieu à la différence des espèces parentales

31 individus hybrides ont été identifiés dont 17 initialement classés comme *A. alosa* et 14 classés comme *A. fallax* montrant ainsi la proximité phylogénétique et le faible isolement reproducteur des deux espèces.

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus chez *Alosa spp.* sur les rivières irlandaises (Coscia *et al.*, 2010) et sur les rivières de Grande Bretagne (Jolly *et al.*, 2011a) avec des taux d'hybridation similaires au notre sur les rivières anglaises (7 à 16%, Jolly *et al.*, 2011a) mais inférieurs à ceux obtenus sur les rivières portugaises (17.8% et 32.5%, Alexandrino *et al.*, 2006) et irlandaises (16% en moyenne).

Cette hybridation refléterait les impacts humains sur l'habitat piscicole et notamment la présence d'obstacles réduisant l'accès aux zones de reproductions. Ainsi, *A. alosa* qui se reproduit habituellement assez haut dans les cours d'eau pourrait ne plus accéder à ses frayères habituelles et être contraint à partager les zones de frayères d'*A. fallax*, augmentant ainsi leurs probabilités d'hybridation. Il est généralement admis que l'hybridation entre deux taxons n'est pas révélatrice de la systématique, mais de l'environnement car ce phénomène reflète un stress environnemental ou d'introduction (naturelle ou anthropique) (Hubbs, 1955 in Le Corre, 1999).

Toutefois il peut s'agir d'un processus naturel tant qu'un certain niveau de différenciation spécifique entre les deux espèces parentales n'est pas atteint. Il serait intéressant de savoir si les individus hybrides sont contre sélectionnés dans la nature, à quel stade et, dans le cas contraire, de déterminer leur potentiel d'adaptation locale.

En terme de gestion, ces résultats montrent aussi l'importance de connaître le poids relatif des perturbations anthropiques et naturelles dans le processus d'hybridation afin de mettre en œuvre des mesures de conservation pertinentes.

## 1.4 Quel statut pour *A. fallax* en Méditerranée ?

Les différences importantes en termes de structuration chez *A. fallax* entre Méditerranée et Corse suggèrent l'existence de **deux lignées divergentes au sein d'*A. fallax rhodanensis***. La divergence entre la population Corse et la lignée Atlantique est supérieure à la divergence entre lignée Atlantique et Méditerranéenne. La population de Corse possède la plus faible richesse allélique parmi toutes les populations, mais est à l'équilibre de Hardy Weinberg. Ceci suggère l'absence de bottleneck récent (vérifié à l'aide de Bottleneck (Cornuet et Luickart, 1996)), mais montre plutôt que le niveau de diversité observé s'est établi lors du processus de colonisation de la Corse. Cette population diffère autant de la lignée Méditerranéenne que de la lignée Atlantique suggérant une absence d'échange entre les populations. Ceci peut s'expliquer par l'existence du courant marin liguro-provençal, qui serait infranchissable pour les alooses (Millot, 1990) et exercerait un rôle de barrière à la reproduction.

Il serait intéressant de pousser l'analyse en récoltant des individus de Sardaigne, Italie et de l'Oued Sebou (Maroc) afin de savoir si cette population Corse s'en différencie ou non.

## **2 Microchimie des Otolithes**

### 2.1 Qualité de l'échantillonnage

Au total 95 et 88 otolithes d'individus d'*A. alosa* et d'*A. fallax* ont été analysés. Cet échantillon souffre d'une sur/sous-représentation de certains sites de capture ce qui a limité la faisabilité ou la pertinence des analyses ultérieures. Pour *A. alosa* on note une surreprésentation des individus de la Loire (28), du Sud Bretagne (23) et de la Vilaine (19) les autres sites sont au contraire représentés par moins de 10 individus. Néanmoins, les individus collectés sur un même site de capture n'appartiennent pas obligatoirement au même groupe de migrants ou au même groupe de lieu de naissance. Il était donc impossible, au moment de la collecte des individus, de connaître la taille des groupes composés d'individus ayant fréquenté les mêmes habitats par le passé.

### 2.2 Pertinence des seuils utilisés

Dans cette étude les seuils d'entrée en estuaire (fin de la phase dulcicole) et de sortie de l'estuaire (entrée en mer) déterminés par Lochet (2006) en Gironde ont été appliqués à l'intégralité des alooses capturées. Dans certain cas (Mer du Nord en particulier), ces seuils ne semblent pas adaptés. L'application de ce seuil à certains individus impliquerait une vie entièrement marine alors que les cinétiques d'incorporation du Sr et du Ba, témoins des changements de salinité et donc des habitats d'intérêt pour cette étude, indiquent clairement le contraire. Il a donc fallu parfois adapter ces seuils et des ajustements restent nécessaires. Pour un individu de Dordogne ce seuil ne semblait pas adapté remettant en cause la pertinence des seuils

déterminés par Lochet (2006). La pertinence des seuils pose d'autant plus questions que 20/28 individus d'*A. alosa* et 22/42 individus d'*A. fallax* capturés en mer présentent des signatures estuariennes. Enfin, une LDA réalisée à partir de la signature du dernier habitat enregistré dans l'otolithe montre que la discrimination des trois habitats n'est pas bonne confirmant que les seuils fixés sont à revoir (résultats non montrés). La déviation ainsi constatée entre les valeurs déterminées par Lochet (2006) et les incompatibilités observées dans cette étude pourrait être liée à une variation interannuelle et spatiale des valeurs seuils (Swearer *et al.*, 2003 ; Walther et Thorrold, 2009). Cette hypothèse doit être testée pour caractériser le degré de certitude de détermination de nouveaux seuils. La solution la plus pertinente, en l'état actuel des connaissances, serait d'appliquer un seuil par individu en se basant sur une analyse des courbes d'évolution des teneurs en Sr/Ca et Ba/Ca. Cette méthode a l'inconvénient d'être basée sur une expertise *a priori* et d'être chronophage pour le lecteur. Une autre solution serait d'utiliser la méthode bayésienne proposée par Fablet *et al.*, (2007) qui ne nécessite pas de connaissance *a priori* mais qui est techniquement difficile à mettre en œuvre.

### **2.3 Fréquentation des habitats par les deux espèces**

Chez *A. alosa* nos résultats montrent un très faible taux de retour en eau douce. On peut supposer que la plupart des individus ont été capturés avant leur unique reproduction puisque les individus sont répertoriés comme semelpares (Mennesson-Boisneau *et al.*, 2000). En effet la majorité des individus ont été capturés soit en mer soit en estuaire soit dans la partie aval des cours d'eau. Il est aussi possible que la phase en eau douce lors de la remontée migratoire soit trop courte pour être intégrée dans l'otolithe. L'arrêt de l'alimentation peut aussi diminuer considérablement le dépôt d'éléments dans l'otolithe. Néanmoins, les résultats indiquent aussi de possibles allers retours, à fréquence non négligeable, en estuaire chez *A. alosa* suggérant une dispersion par éloignement des côtes assez peu importante comme le suggèrent les connaissances actuelles en la matière chez les jeunes alooses qui peuvent ainsi transiter entre estuaire et mer jusqu'à l'âge de deux ans voire plus avant de partir définitivement en mer pour 3 à 4 ans (Baglinière et Sabatié, 2011).

Chez *A. fallax* les résultats montrent une fréquence de premier retour en eau douce de 20%. La fréquence du troisième retour est de 3.40%. On aurait pu s'attendre à la fois à un plus grand nombre de retours et à plus grande fréquence en conformité avec le comportement itéropare de *A. fallax* (Mennesson-Boisneau *et al.*, 2000). Par ailleurs les résultats mettent en évidence l'importance des phases estuariennes par rapport aux phases marines et suggèrent une faible dispersion chez cette espèce qui resterait à proximité de son estuaire de naissance. Ces résultats ne sont pas en accord avec nos résultats génétiques qui suggèrent une grande dispersion en mer.

Là encore nos résultats sont à considérer avec précaution en raison des seuils utilisés.

## **2.4 Discrimination des espèces**

L'ACP réalisée montre qu'il est possible de distinguer les deux espèces à partir des valeurs des rapports Ba/Ca et du Sr/Ca de leur signature marine. Toutefois les capacités discriminatoires sont faibles (36% sur le premier plan). Les autres axes de l'ACP ne permettent plus de discriminer les espèces. Là encore le fait d'appliquer le même seuil aux deux espèces, tel que l'a préconisé Lochet (2006) peut diminuer les capacités de discrimination. Peut-être qu'en appliquant deux seuils différents aux deux espèces les capacités de discrimination auraient été meilleures. La classification hiérarchique distingue les deux espèces à partir du Mn, du Cd et du Pb qui ne sont peut-être pas les éléments discriminants les plus pertinents. Par exemple les variations de teneur en Mn sont connues pour refléter des effets ontogéniques liés aux processus physiologiques qui en nécessitent la métabolisation. Le Pb et le Cd peuvent peut-être refléter de la pollution sur les sites fréquentés par les individus comme c'est le cas chez les anguilles, notamment dans l'estuaire de la Gironde ou le bassin de l'Adour (Tabouret, 2009).

## **2.5 Discrimination par la signature marine**

Il n'a quasiment pas été possible de discriminer des individus capturés en mer à partir de leur signature marine.

Chez *A. alosa* il n'a pas été possible d'identifier des groupes présentant une structuration géographique précise. Tous les individus apparaissent « mélangés » au sein de 3 clusters sans pertinence géographique du lieu de capture. Ces résultats suggèrent que les *A. alosa* se mélangent fortement en mer même si ces résultats sont plutôt en contradiction avec les connaissances actuelles et nos résultats de génétique. Toutefois, notre faible capacité de discrimination provient certainement des seuils utilisés.

Chez *A. fallax*, les individus se caractérisant par une signature différente sont ceux de Mer du Nord et dans une moindre mesure les individus du Rhône et de l'Aude. Des seuils différents de ceux déterminés par Lochet (2006) ont été utilisés, expliquant certainement une plus grande capacité de discrimination. Des seuils évolutifs, pour chaque individu ont été appliqués en identifiant les changements de milieu sur les courbes de Sr/Ca et Ba/Ca (Figure 7 du Matériel et Méthode).

Il n'est donc pas possible à partir des méthodes employées de savoir s'il existe un ou plusieurs stocks marins d'*A. fallax* et d'*A. alosa*. En conséquence, il n'a pas été possible d'assigner des individus capturés en rivière à une zone géographique marine probable. En considérant les résultats de génétique des populations il est possible qu'il existe plusieurs stocks différenciés d'*A. fallax* en mer de par le fort niveau de structuration observé. L'existence d'un seul stock marin à fort degré de mélange n'est cependant pas à exclure étant donné les capacités de dispersion probablement importantes des individus.

## **2.6 Discrimination par la signature juvénile**

Les résultats obtenus montrent qu'il n'a pas été possible de discriminer les individus à partir de leur signature en eau douce lorsqu'aucun groupe *a priori* n'est considéré. Seule une ACP et une classification hiérarchique réalisée chez *A. fallax* permettent de discriminer les individus du Rhône et de l'Aude entre eux et par rapport aux autres individus. Cette discrimination est limitée car les analyses ont été effectuées à partir d'adultes, capturés lors de leur remontée en rivière. Là encore, comme aucun groupe précis ne se distingue, il n'est pas paru pertinent d'effectuer un test de discrimination.

L'utilisation des groupes *a priori* suggère tout de même que certains sites (ex : Loire, Adour, Sud Bretagne) se distinguent par leur signature chimique à partir du Sr et Ba qui sont les deux éléments les plus pertinents pour discriminer des groupes (Campana, 1999). Sur la Loire il est possible de distinguer deux signatures différentes, l'une présentant des teneurs en Ba supérieures à  $3.10^{-5}$  et des teneurs Sr avoisinant 0.001. L'autre signature se caractérise par des teneurs en Ba inférieures à  $2.10^{-5}$  et des teneurs en Sr inférieures à 0.001. Ces signatures différentes suggèrent alors du homing chez des individus nés dans la Loire ou des affluents. Les individus du sud Bretagne présentent des signatures de naissances similaires à celle de la Loire, suggérant une origine commune pour ces individus. En réévaluant les seuils il est certainement possible d'améliorer les capacités de discriminations pour tous les sites.

Afin de réaliser des discriminations pertinentes, il serait intéressant de capturer des individus juvéniles (alosons) dans leur rivière de naissance, avant migration de dévalaison et donc dispersion en mer. Cela permettrait d'établir une « banque de signatures » pour discriminer les rivières. Les individus adultes pourraient ensuite être réassignés à leur rivière d'origine par comparaison des signatures de naissances des adultes et des signatures des juvéniles. Cette méthode a été utilisée avec succès par Walther et Thorrold (2008b). La principale difficulté de cette méthode consiste en l'échantillonnage d'alosons.

## **2.7 Limites de l'étude microchimique**

L'étude de la microchimie des otolithes souffre de nombreuses limitations. Préalablement à l'analyse directe des individus dans un but de discrimination, il serait nécessaire de déterminer les coefficients de partitionnement des éléments de l'eau vers l'otolithe. Cette étude préliminaire apparaît fondamentale pour savoir si les éléments étudiés sont effectivement incorporés dans les otolithes d'*Alosa spp*, en quelle quantité, et savoir s'il existe une simple relation linéaire ou non lors de l'incorporation de ces éléments. Des prélèvements d'eau ont été effectués récemment et seront utilisés ultérieurement. Les études réalisées chez l'espèce voisine *A. sapidissima* (ex : Limburg, 1995, Walther et Thorrold, 2008a, 2010) ont montré la pertinence de l'utilisation du

Sr/Ca pour discriminer des juvéniles et réassigner des adultes. On peut donc s'attendre à ce qu'un minimum de discrimination soit possible chez les aloes européennes.

Par ailleurs, les prélèvements d'eau effectués, permettront de savoir s'il existe ou non une variabilité spatiale dans la teneur en éléments chimiques. Il est important de valider cette hypothèse avant de tenter de discriminer des individus par site.

Dans un second temps, il apparaît important de réadapter les seuils d'entrée et sortie en estuaire proposés par Lochet (2006). Là encore l'analyse des prélèvements d'eau apportera des informations utiles pour estimer des seuils plus pertinents.

Finalement plusieurs hypothèses ne sont pas vérifiées et il n'a pas été possible de répondre aux objectifs de départ concernant l'importance de la phase marine dans le cycle de vie des aloes et son rôle dans la dispersion géographique. Il n'a pas été possible de discriminer les individus sur la base de leur signature de naissance. Toutefois, une analyse des prélèvements d'eau et un traitement des données plus adapté devraient permettre d'améliorer la précision des résultats.

### **3. Implication pour la gestion**

Nos résultats suggèrent une structuration à l'échelle régionale avec un fonctionnement en métapopulation. Cette structuration est nettement supérieure chez *A. fallax*. En conséquence une gestion appropriée des populations et stocks doit être mise en œuvre. Chez *A. alosa* une gestion régionale devrait suffire alors que chez *A. fallax* une gestion allant de l'échelle locale (rivière) à l'échelle régionale devrait assurer le bon fonctionnement du système.

La structuration génétique importante chez *A. fallax* suggère une adaptation locale possible. Les variations dans les traits d'histoire de vie, dans les caractéristiques morphologiques et méristiques ont déjà été démontrées au sein des aloes en Europe (Aprahamian *et al.*, 2003, Lassale *et al.*, 2008) et sont d'autres signes d'adaptation locale. Ce phénomène a été démontré chez les salmonidés (Ciborowski *et al.*, 2007, Garcia de Leaniz *et al.*, 2007) et il s'avère que les programmes de réintroduction chez ces espèces s'est souvent soldé par un échec en raison de mal-adaptation des populations introduites aux conditions locales. Il est donc important de connaître l'étendue de l'adaptation locale au sein des *Alosa* avant d'envisager la mise en place de programmes d'introduction. Des méthodes de « génome scan » et de génétique quantitative doivent permettre de répondre à cette question. Cela suggère aussi la nécessité de faire des efforts pour maintenir et restaurer la qualité des habitats essentiels au bon déroulement du cycle de vie des *Alosa*. Concernant l'hybridation, il est nécessaire de poursuivre les investigations afin de savoir si ce phénomène résulte uniquement des pressions anthropiques ou d'un processus naturel. Enfin, il serait intéressant, chez *A. alosa*, d'étendre l'échelle spatiale d'étude en incluant des échantillons d'Espagne, du Portugal et du Nord de la Loire.

# Conclusion et perspectives

---

Cette étude débouche sur une première structuration génétique des populations d'*A. alosa* et d'*A. fallax* en France. Par ailleurs, elle met en avant un degré de structuration beaucoup plus important chez *A. fallax* que chez *A. alosa*. Ainsi une structuration génétique en 4 grands groupes géographiques a été identifiée chez *A. alosa* avec une différenciation importante de la Nivelle suggérant un fonctionnement particulier de cette population. Chez *A. fallax* une structuration hiérarchique en 6 groupes a été établie en faisant ressortir l'originalité de la population du Tavignano qui se différencie aussi fortement des populations méditerranéennes que des populations atlantiques. De même la population de l'Ulla se distingue fortement de toutes les autres populations de l'Atlantique. Notre étude, en confirmant l'existence d'une lignée Atlantique et d'une lignée Méditerranéenne suggère l'existence d'une troisième lignée Corse. Il serait intéressant d'échantillonner d'autres populations (Espagne, Italie, Maroc...) pour valider l'indépendance de la population Corse et mieux comprendre les relations entre l'Ulla et les populations françaises.

Notre étude confirme la tendance à l'hybridation des deux taxons lorsqu'ils sont en sympatrie. Une étude approfondie de ce phénomène est nécessaire afin de (i) déterminer la capacité de survie des hybrides et leur potentiel d'adaptation locale et (ii) évaluer quels facteurs (naturels versus anthropiques) sont responsables de l'hybridation.

Le homing demeure possible mais à partir de nos résultats, il n'est pas pertinent de conclure quant à son degré de précision chez *A. fallax* et chez *A. alosa*. Ce facteur ne suffit pas à expliquer une structuration plus grande chez *A. fallax* malgré des niveaux de dispersion en mer similaires. Il est plus probable que la taille des populations d'*A. alosa* soit largement supérieure à celle d'*A. fallax*, expliquant une structuration inférieure avec un taux de dispersion similaire sans que le degré de homing ne soit nécessairement différent.

Il n'a pas été possible de répondre directement aux questions posées à l'aide de la microchimie des otolithes. Toutefois l'étude confirme l'importance de la fréquentation des estuaires mais aussi de la mer chez *A. fallax* comme chez *A. alosa*. Une nouvelle analyse des données de microchimie des otolithes est nécessaire en revisitant les seuils d'entrée/sortie dans les trois habitats et devrait apporter des éléments de réponses, complémentaires aux résultats de génétiques mais également de nouvelles connaissances sur l'écologie de ces espèces. Nos résultats ont des implications importantes en termes de gestion et démontrent l'importance du réseau Natura 2000 en mer. Chez *A. alosa*, la structuration modérée implique une gestion à l'échelle régionale pour permettre des échanges entre populations. Chez *A. fallax* malgré des flux à grande échelle la forte structuration implique une gestion de l'échelle de la rivière à l'échelle

régionale pour favoriser le fonctionnement en métapopulation. Un fort potentiel d'adaptation locale est possible chez *A. fallax*, il est donc souhaitable de maintenir et d'améliorer la conservation des habitats afin de favoriser le bon déroulement du cycle de vie de l'espèce. Enfin, les différents compartiments halins jouent un rôle clé pour les deux espèces. L'ensemble des résultats suggèrent donc que le réseau Natura 2000 est important pour favoriser les déplacements à courte distance et pour les migrations longues distances. Il est aussi important de mettre en place une gestion appropriée sur chaque zone Natura 2000 en fonction des tailles effectives des populations.

Finalement, il paraît difficile d'espérer favoriser le bon fonctionnement des métapopulations en ne préservant qu'une seule zone, pouvant bénéficier à toutes. Il est plus pertinent d'assurer une gestion à l'échelle régionale pour assurer le maintien des sous unités des métapopulations.

# Bibliographie

---

- Alexandrino PJ., & Boisneau P. (2000) Diversité Génétique In : Les aloses (*Alosa alosa* et *Alosa fallax* spp.) : écobiologie et variabilité des populations. Bagliniere JL., & Elie P. Paris, Cemagref, Inra Éditions. pp179-197
- Alexandrino PJ., Faria R., Linhares D., Castro F., Le Corre M., Sabatié MR., Baglinière JL., Weiss S. (2006) Interspecific differentiation and intraspecific substructure in two closely related clupeids with extensive hybridization, *Alosa alosa* and *Alosa fallax*. *J Fish Biol* **69**, 242–259
- Aprahamian MW., Bagliniere JL., Sabatie M.R., Alexandrino P., Thiel R., & Aprahamian CD. (2003) Biology, status, and conservation of the anadromous Atlantic twaite shad *Alosa fallax fallax* Am. Fish Soc **35**, 103-124.
- Baglinière J.L., (2000) Le genre *Alosa* sp. In " Les aloses (*Alosa alosa* et *Alosa fallax* spp.) : Ecobiologie et variabilité des populations. J.L. Baglinière et P. Elie (Eds), INRA-CEMAGREF, Paris, pp. 3-30.
- Bagliniere J.L., & Elie P. (2000). Les aloses (*Alosa alosa* et *Alosa fallax* spp.) : écobiologie et variabilité des populations. Paris, Cemagref, Inra Éditions.
- Barats A., Péchéyran C., Amouroux D., Dubascoux S., Chauvaud L. & Donard O. (2007) Matrix-matched quantitative analysis of trace-elements in calcium carbonate shells by laser-ablation ICP-MS: application to the determination of daily scale profiles in scallop shell (*Pecten maximus*). *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **387**, 1131–1140.
- Barnett-Johnson R., Teel DJ., and Casillas E. (2010) Genetic and otolith isotopic markers identify salmon populations in the Columbia River at broad and fine geographic scales. *Environmental Biology of Fishes* **89**, 533-546.
- Belkhir K., Borsa P., Chikhi L., Raufaste N., Bonhomme, F. (1996-2004) GENETIX 4.05, logiciel sous windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions CNRS UMR 5000. Université de Montpellier II, Montpellier (France).
- Benjamini Y; Hochberg Y., (1995) Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal Statistical Society, Series B (Methodological)* **57**, 289–300.
- Bentzen P., Leggett W.C., & Brown G.G. (1993) Genetic relationships among the shads (*Alosa*) revealed by mitochondrial DNA analysis. *Journal of Fish Biology*, **43**, 909-901.
- Bradbury IR., Campana SE., Bentzen P. (2008) Estimating contemporary early life-history dispersal in an estuarine fish: Integrating molecular and otolith elemental approaches. *Molecular Ecology* **17**, 1438-1450.
- Campana S.E. & Neilson JD. (1985) Microstructure of fish otoliths. *Canadian Journal of Fisheries and aquatic Sciences*, **42**, 1014-1032.
- Campana S.E. (1999) Chemistry and composition of fish otoliths : pathways, mechanisms and applications. *Marine Ecology Progress Series*, **188**, 263-297.
- Campana S.E., Chouinard G.A., Hanson J.M., Fréchet A., Brattey J. (2000) Otolith elemental fingerprints as biological tracers of fish stocks. *Fish. Res.* **46**, 343-357.
- Campana S.E., Thorrold S.R. (2001) Otoliths, increments, and elements: keys to a comprehensive understanding of fish populations? *Can J Fish Aquat Sci* **58**, 30–38.
- Cavalli-Sforza LL., and Edwards A. (1967) Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. *American Journal of Human Genetics* **19**, 233–257.
- Chistiakov, DA., Hellemans, B. & Volckaert, FAM. (2006) Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: A review with special reference to fish genetics. *Aquaculture* **255**, 1-29.
- Ciborowski KL., Consuegra S., Garcia de Leaniz C., Wang J., Beaumont M., Jordan WC. (2007) Stocking may increase mitochondrial DNA diversity but fails to halt the decline of endangered Atlantic salmon populations. *Cons Biol* **8**, 1355–1367.
- Claverie F., Péchéyran C., Mounicou S., Ballihaut G., Fernandez B., Alexis J., Lobinski R., Donard OFX. (2009) Characterization of the aerosol produced by infrared femtosecond laser ablation of polyacrylamide gels for the sensitive inductively coupled plasma mass spectrometry detection of selenoproteins, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, **64**, 649-658.
- Cornuet J.M. and Luikart G., (1996) Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* **144**, 2001-2014.

Coscia I., Rountree V., King JJ., Roche WK., Mariani S., (2010) A highly permeable boundary between two anadromous fishes, *J. Fish. Biol.* **77**, 1149.

Daverat F., Tomas J., Lahaye M., Palmer M., & Elie P. (2005) Tracking continental habitat shifts of eels using Sr/Ca ratios: validation and application to the coastal, estuarine and riverine eels of the Gironde-Garonne-Dordogne watershed. *Marine and Freshwater Research*, **56**, 619-627.

Daverat F., Tapie N., Quiniou L., Maury Brachet R., Riso R., Eon M., Laroche J., Budzinski H., (2011a) Otolith microchemistry interrogation of comparative contamination by Cd, Cu and PCBs of eel and flounder, in a large SW France catchment, *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **92**, 332-338.

Daverat F., Martin J., Fablet R., Pechevran C., (2011b) Colonisation tactics of three temperate catadromous species, Eel *Anguilla anguilla*, mullet *Liza ramada* and flounder *Platyichthys flesus*, revealed by Bayesian multielemental otolith microchemistry approach. *Ecology of Freshwater Fish* **20**, 42-51.

De Woody JA., Avise JA., (2000) Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals, *Journal of fish biology* **56**, 461-473.

Dieringer D., Schlötterer C., (2003) Microsatellite analyser (MSA): a platform independent analysis tool for large microsatellite data sets. *Mol. Ecol. Notes* **3**, 167-169.

Earl, DA., von Holdt, BM. (2012) STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*, **4**, 359-361

Elie P., Taverny C., Mennesson-Boisneau C., Sabatié M.R., (2000) L'exploitation halieutique. In " Les aloses (Alosa alosa et Alosa fallax spp.) : Ecobiologie et variabilité des populations. J.L. Baglinière et P. Elie (Eds), INRA-CEMAGREF, Paris, pp. 199-226.

El Mousadik A., Petit J.R. (1996) High level of genetic differentiation for allelic richness among populations of the argan tree *Argania spinosa* (L.) Skeels endemic to Morocco. *Theoretical and Applied Genetics* **92**, 832-839.

Ellegren H. (2000) Microsatellite mutations in the germline: implications for evolutionary inference. *Trends in Genetics* **16**, 551-558.

Estoup A., Largiader CR., Perrot E., Chourrout D. (1996) Rapid one-tube DNA extraction for reliable PCR detection of fish polymorphic markers and transgenes. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* **5**, 295-298.

Evanno G., Regnaut S., Goudet J. (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology* **14**, 2611-2620.

Fablet R., Daverat F. & De Pontual H. (2007) Unsupervised Bayesian reconstruction of individual life histories from otolith signatures: case study of Sr:Ca transects of European eel (*Anguilla anguilla*) otoliths. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **64**, 152-165.

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.

Faria R., Wallner B., Weiss S. Alexandrino P. (2004) Isolation and characterization of eight dinucleotide microsatellite loci from two closely related clupeid species (*Alosa alosa* and *A. fallax*). *Molecular Ecology Notes* **4**, 586-588.

Felsenstein J. (1995) PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.6. Seattle, WA: Department of Genome Sciences, University of Washington.

Frantz AC., Cellina S., Krier A., Schley L., Burke T. (2009) Using spatial bayesian methods to determine the genetic structure of a continuously distributed population: Clusters or isolation by distance? *Journal of Applied Ecology* **46**, 493-505.

Garcia de Leaniz C., Fleming IA., Einum S., Verspoor E., Jordan WC, Consuegra S., Aubin-Horth N., Lajus D., Letcher BH., Youngson AF., Webb JH., Vøllestad LA., Villanueva B., Ferguson A., Quinn TP. (2007) A critical review of adaptive genetic variation in Atlantic salmon: implications for conservation. *Biol Rev* **82**, 173-211.

Gillanders BM. (2002) Temporal and spatial variability in elemental composition of otoliths: implications for determining stock identity and connectivity of populations, *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **59**, 669-679.

Guillot G., Mortier F., Estoup A (2005) GENELAND: a computer package for landscape genetics. *Mol Ecol Notes*, **5**, 712-715.

Goudet, J. (2002) FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Disponible sur le site <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>.

Hanski I. (1999) Metapopulation ecology. Oxford University Press, New York.

- Hasselman DJ. (2008) Comments on 'Weak population differentiation in northern European populations of the endangered anadromous clupeid *Alosa fallax*. J Fish Biol **73**, 1096–1098.
- Jakobsson M. & Rosenberg NA. (2007) CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics* **23**, 1801–1806.
- Jolly MT, Maitland PS., Genner MJ. (2011a) Genetic monitoring of two decades of hybridisation between allis shad (*Alosa alosa*) and twaite shad (*Alosa fallax*). *Conserv Genet* **12**, 1087–1100.
- Jolly MT., Aprahamian MW. and Hawkins SJ. et al. (2011b) Population genetic structure of protected allis shad (*Alosa alosa*) and twaite shad (*Alosa fallax*). *Marine Biology*, **159**, 675–687.
- Jonsson, BRS. Waples et KD. Friedland (1999) Extinction considerations for diadromous fishes. ICES Journal of Marine Science **56**, 405-409.
- Joyce DA., Lunt DH., Genner JM., Turner FG., Bills R., Seehausen O. (2011) Repeated colonization and hybridization in Lake Malawi cichlids, *Current Biology*, **21**, 108–109.
- Julian SE., Barton ML. (2007) Microsatellite DNA markers for American shad (*Alosa sapidissima*) and cross-species amplification within the family Clupeidae. *Mol Ecol Notes* **7**, 805–807.
- Kalinowski ST. (2010) The computer program STRUCTURE does not reliably identify the main genetic clusters within species: simulation and implication for human population structure. *Heredity*, **106**, 625–632
- Lecomte-Finiger R. (1999) L'otolith: la boîte « noire » des Téléostéen, *Année Biol*, **38**, 107–122.
- Lecorre, M. (1999) Eco-biologie et génétique des populations d'aloises (*Alosa fallax spp*) de la Méditerranée française. Thèse de doctorat, ENSA Rennes, 189 p.
- Lecorre M., Alexandrino P., Sabatié MR., Aprahamian M., & Bagliniere JL. (2005) Genetic characterisation of the Rhodian twaite shad, *Alosa fallax rhodanensis*. *Fisheries Management and Ecology*, **12**, 275–282.
- Legall O., 2000. Origine et histoire des aloises. In " Les aloises (*Alosa alosa* et *Alosa fallax* spp.) : Ecobiologie et variabilité des populations. J.L. Baglinière et P. Elie (Eds), INRA-CEMAGREF, Paris, pp. 127–136.
- Limburg KE. (1995) Otolith strontium traces environmental history of subyearling American shad *Alosa sapidissima*. *Mar Ecol Prog Ser* **119**, 25–
- Limburg KE, Waldman JR (2009) Dramatic declines in North Atlantic diadromous fishes. *Bioscience*, **59**, 955–996.
- Lochet, A., (2006) Dévalaison des juvéniles et tactiques gagnantes chez la grande alose *Alosa alosa* et l'aloise feinte *Alosa fallax*: apports de la microchimie et de la microstructure des otolithes, Ecole Doctorale Sciences du Vivant - Geosciences - Sciences de l'Environnement. Université Bordeaux I, Bordeaux, pp. 220.
- Lochet A., Maury-Brachet R., Poirier C., Tomas J., Lahaye M., Aprahamian MW., Rochard E., (2008) Mercury contamination and life history traits of Allis shad *Alosa alosa* (Linnaeus, 1758) and Twaite shad *Alosa fallax* (Lacépède, 1803) in the Gironde estuary (South West France). *Hydrobiologia* **602**, 99–109.
- Lochet A., Boutry S., Rochard E. (2009) *Estuarine phase during seaward migration for allis shad *Alosa alosa* and twaite shad *Alosa fallax* future spawners*. *Ecology of Freshwater Fish*, **18**, 323 – 335.
- Liu K., and S. Muse (2005) PowerMarker: An integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics* **21**, 2128–2129.
- Malusa T., et al. (2011) High-throughput microsatellite isolation through 454 GS-FLX Titanium pyrosequencing of enriched DNA libraries. *Molecular Ecology Resources*, Online First.
- Mennesson-Boisneau C., Aprahamian MW., Sabatié MR., & Cassou-Leins JJ. (2000) Remontée migratoire des adultes. In : Les aloises (*Alosa alosa* et *Alosa fallax* spp.) : écobiologie et variabilité des populations. Bagliniere JL., & Elie P. Paris, Cemagref, Inra Éditions. pp. 55–72.
- Mercier L., Darnaude AM., Bruguier O., Vasconcelos RP, Cabral HN, Costa MJ, Lara M, Jones DL, Mouillot D. (2011) Selecting statistical models and variable combinations for optimal classification using otolith microchemistry. *Ecol. Appl.* **21**, 1352–64.
- Millot C. (1990) The Gulf of Lions' hydrodynamics *Continental Shelf Research* **10** 885–894.
- Narum SR (2006) Beyond Bonferroni: less conservative analyses for conservation genetics. *Conservation Genetics*, **7**, 783–787.
- Ohara K, Hotta M, Takahashi D, et al. (2009) Use of microsatellite DNA and otolith sr:Ca ratios to infer genetic relationships and migration history of four morphotypes of rhinogobius sp or. *Ichthyological Research* **56**, 373–379.

Oosterhout, CV., Hutchinson WF., and Willis DPM., (2004) MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes* **4**, 535–565.

Paetkau D., Slade R., Burden M., Estoup A. (2004) Direct, real-time estimation of migration rate using assignment methods: a simulation-based exploration of accuracy and power. *Molecular Ecology* **13**, 55-65.

Page RDM. (1996) TREEVIEW: an application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computer Applications in the Biosciences* **12**, 357–358.

Parrish DL., Behnke RJ., Gephard S.R., McCormick, SD. and Reeves GH. (1998), Why aren't there more Atlantic salmon (*Salmo salar*)?, *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **55**, 281-287.

Perrier C., Daverat F., Evanno G., Pécheyran C., Baglinière J-L., Roussel J-M., (2011a) Coupling genetic and otolith microchemistry analyses to identify river-born fish with hatchery pedigrees in stocked Atlantic salmon populations. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **68**, 977-987.

Perrier C., Guyomard R., Baglinière JL., Le Gentil J., Evanno G., (2011b), Determinants of hierarchical genetic structure in Atlantic salmon populations: environmental factors *versus* anthropogenic influences, *Molecular Ecology*, **20**, 4231-4245

Pritchard, J.K., Stephens, P., Donnelly, P. (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* **155**, 945-959.

Piry S, Alapetite A, Cornuet, J.-M., Paetkau D, Baudouin, L., Estoup, A. (2004) GeneClass2: A Software for Genetic Assignment and First-Generation Migrant Detection. *Journal of Heredity* **95**, 536-539.

R Development Core Team (2010) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.

Rice, WR. (1989) Analyzing tables of statistical tests. *Evolution* **43**, 223–225.

Rosenberg NA. (2004) Distruct: a program for the graphical display of population structure. *Molecular Ecology Notes* **4**: 137-138.

Rousset F. (1997) Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-Statistics under isolation by distance. *Genetics* **145**, 1219-1228.

Rousset F(2000) Genetic differentiation between individuals. *J Evol Biol* **13**, 58-62.

Rousset F (2008) Genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Mol Ecol Resour* **8**, 103–106.

Saitou N. Nei, M. (1987) The Neighbour-joining Method: A New Method for Reconstructing Phylogenetic Trees. *Mol. Biol. Evol.*, **4**, 406-425.

Schuelke M. (2000) An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. *Nature Biotechnology* **18**, 233-234.

Sabatié M.R., Boisneau P., Alexandrino P., (2000) Varaibilité morphologique. In " Les aloses (*Alosa alosa* et *Alosa fallax* spp.) : Ecobiologie et variabilité des populations. J.L. Baglinière et P. Elie (Eds), INRA-CEMAGREF, Paris, pp. 137-178.

Secor DH., Rooker JR., Zlokowitz E., Zdanowicz VS. (2001) Identification of riverine, estuarine, and coastal contingents of Hudson River striped bass based upon otolith elemental fingerprints. *Marine Ecology-Progress Series* **211**, 245-253.

Seehausen, O. (2004) Hybridization and adaptive radiation. *Trends in Ecology & Evolution* **19**, 198–207.

Seehausen O., Takimoto G., Roy D. & Jokela J. (2008) Speciation reversal and biodiversity dynamics with hybridization in changing environments. *Molecular Ecology* **17**, 30–44.

Smith SJ., Campana SE. (2010) Integrated stock mixture analysis for continuous and categorical data, with application to genetic-otolith combinations. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **67**, 1533-1567.

Swearer SE., Forrester GE., Steele MA., Brooks AJ., Lea DW. (2003) Spatio-temporal and interspecific variation in otolith trace-elemental fingerprints in a temperate estuarine fish assemblage. *Estuarine and Coastal Shelf Science* **56**, 1111-1123.

Szpiech, ZA., Jakobsson, M., Rosenberg, NA. (2008) ADZE: a rarefaction approach for counting alleles private to combinations of populations. *Bioinformatics* **24**, 2498-2504.

Tabouret H (2009) Recherche des marqueurs d'exposition aux contaminants et de fréquentation des habitats chez l'anguille *anguilla anguilla* de l'estuaire de l'Adour : de la réponse moléculaire à la microchimie de l'otolith. Thèse de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour. 334p

Takezaki N., Nei M.. (1996) Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. *Genetics* **144**, 389–399.

Taverny C. Belaud A., Elie P., Sabatié M.R., (2000) Influence des activités humaines. In "Les aloses (*Alosa alosa* et *Alosa fallax* spp.) : Ecobiologie et variabilité des populations. J.L. Baglinière et P. Elie (Eds), INRA-CEMAGREF, Paris, pp. 227-248.

Tomas J., Augagneur S., & Rochard E. (2005) Discrimination of the natal origin of young-of-the-year Allis shad (*Alosa alosa*) in the Garonne-Dordogne basin (south-west France) using otolith chemistry. *Ecology of Freshwater Fish*, **14**, 185-190.

Thorrold SR., Jones CM., Campana SE., McLaren JW., and Lam JWH. (1998a) Trace element signatures in otoliths record natal river of juvenile American shad (*Alosa sapidissima*). *Limnol. Oceanogr.* **43**, 1826–1835.

Thorrold SR., Jones CM., Swart PK. & Targett TE. (1998b) Accurate classification of juvenile weakfish *Cynoscion regalis* to estuarine nursery areas based on chemical signatures in otoliths. *Marine Ecology Progress Series* **173**, 253–265.

Veinott G., Porter R. (2005) Using otolith microchemistry to distinguish Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr from different natal streams. *Fisheries Research* **71**, 349-355.

Volk J., Bekkevold D., Loeschke V. (2007) Weak population differentiation in northern European populations of the endangered anadromous clupeid *Alosa fallax*. *J Fish Biol* **71**, 461–469.

Walther BD., Thorrold SR. (2008a) Geochemical signature in otolith record natal origins of American shad, *Trans. Am. Fish. Soc.* **137**, 57-69.

Walther BD., Thorrold SR. (2008b) Continental-scale variation in otolith geochemistry of juvenile American shad (*Alosa sapidissima*). *Can J Fish Aquat Sci* **65**, 2623–2635.

Walther BD., and Thorrold SR. (2009) Inter-annual variability in isotope and elemental ratios recorded in otoliths of an anadromous fish. *Journal of Geochemical Exploration*. **102**, 181-186.

Walther BD., and Thorrold SR. (2010) Limited diversity in natal origins of immature anadromous fish during ocean residency. *CJFAS*, **67**, 1699-1707.

Waters JM., Epifanio JM., Gunter T., Brown BL., (2000) Homing behaviour facilitates subtle genetic differentiation among river populations of *Alosa sapidissima*: microsatellites and mtDNA. *J Fish Biol* **56**, 622–636.

Weir BS., Cockerham CC., (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* **38**, 1358–1370.

Whitehead PJP. (1985) FAO species catalogue 7: Clupeoid fishes of the world (Suborder *Clupeoidei*). An annotated and illustrated catalogue of the Herrings, Sardines, Pilchards Sprats, Anchovies and Worlf-Herrigs. Part 1: *Chironcentridae*, *Clupeidae* and *Pristigasteridae*. FAO Fisheries Synopsis, n°125 vol. 7, part1, 303p.

Wright S. (1943) Isolation by distance. *Genetics* **28**, 114-138.

Wright PJ., Panfili J., Morales-Nin B., & Geffen AJ. (2002) Différents types de pièces calcifiées. A/ les otolithes. In *Manuel de sclérochronologie des poissons* (eds J. Panfili, HD. Pontual, H. Troadec & PJ. Wright), pp. 31-57. Coédition Ifremer-IRD.

Yoshinaga J., Nakama A., Morita M., Edmonds J.S., (2000) Fish otolith reference material for quality assurance of chemical analyses. *Marine Chemistry* **69**, 91-97.

## Références Webographiques

UICN, 2012, (page consultée le 20/04/2012), summary statistics of threatened species, disponible sur: [http://www.iucnredlist.org/about/summary-statistics#Tables\\_1\\_2](http://www.iucnredlist.org/about/summary-statistics#Tables_1_2)

FAO, 2009, (page consultée le 20/04/2012), la situation mondiale des pêches et de l'aquaculture 2008 Rapport disponible sur <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/011/i0250f/i0250f.pdf>

# Annexes

---

<b>Annexe 1 : liste des individus d’Aloses capturés en Mer.....</b>	<b>1</b>
<b>Annexe 2 : Caractérisation des 15 marqueurs microsatellites utilisés chez les <i>Alosa</i>.....</b>	<b>1</b>
<b>Annexe 3 : Protocole M13.....</b>	<b>2</b>
<b>Annexe 4 : Composition des 4 Multiplex utilisés.....</b>	<b>3</b>
<b>Annexe 5 : Exemple d’électrophorégramme pour un marqueur chez un individu.....</b>	<b>3</b>
<b>Annexe 6 : Détails des résultats de génétique pour chaque marqueur par population.....</b>	<b>4</b>
<b>Annexe 7 : Identification des hybrides à partir de la Q-Value .....</b>	<b>8</b>
<b>Annexe 8 : Résultats de Structure pour chaque espèce.....</b>	<b>9</b>
<b>Annexe n°9 : Résultats de l’assignation obtenus avec Geneclass.....</b>	<b>13</b>
<b>Annexe 10 : recherche de migrants.....</b>	<b>16</b>
<b>Annexe 11 : Discriminations d’individus à partir de la dernière signature marine.....</b>	<b>17</b>
<b>Annexe 12 : Discrimination d’individus à partir des signatures de naissance.....</b>	<b>21</b>

## Annexe 1 : liste des individus d'Aloses capturés en Mer

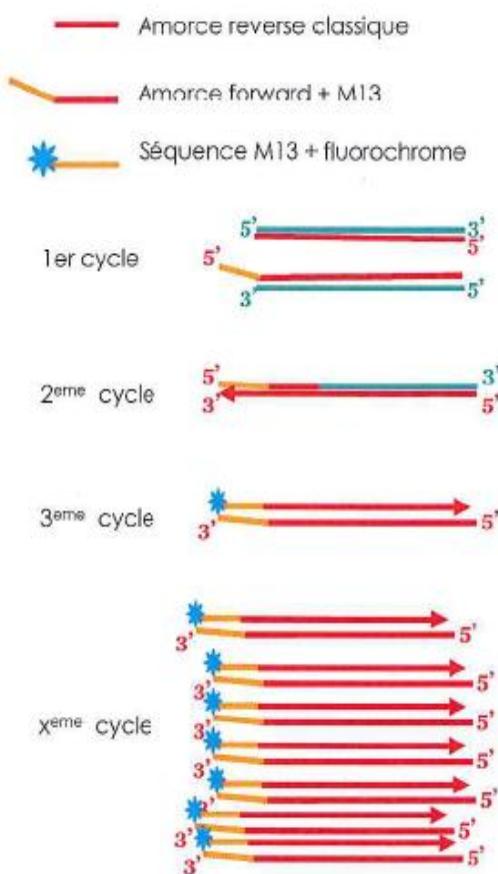
<b>Site en mer</b>	<b>Année</b>	<b><i>A. fallax</i></b>		<b><i>A. alosa</i></b>	<b>Echantillon</b>
<b>Arcachon</b>	2011			2	Nageoire
<b>Charente</b>	2011			6	Nageoire
<b>Dinan</b>	2011	1			Nageoire
<b>Méditerranée</b>	2011	2		0	
<b>Mer Celtique</b>	2011	1			Nageoire
<b>Mer du Nord</b>	2012	10	Nageoire		Nageoire
<b>Oléron</b>	2011	2	Nageoire	1	Nageoire
<b>Pertuis charentais</b>	2010-2011	12	Nageoire	0	Nageoire
<b>Sud Bretagne</b>	2010-2011	21	Nageoire	22	Nageoire
<b>Sud Golfe Gascogne</b>	2010-2011	5	Nageoire	0	Nageoire
<b>Calais</b>	2010	4		0	Nageoire

## Annexe 2 : Caractérisation des 15 marqueurs microsatellites utilisés chez les *Alosa*

<b>Nom du marqueur</b>	<b>Taille minimale du produit PCR</b>	<b>Taille du produit PCR</b>	<b>Type de répétition</b>	<b>Nb répétition</b>
Alo1	90	107	ca	17
Alo6	90	116	ac	17
Alo7	90	116	ac	15
Alo9	90	125	aac	20
Alo16	90	138	ca	13
Alo17	140	142	ca	14
Alo26	140	169	ag	17
Alo29	140	186	ac	13
Alo32	190	198	tgat	12
Alo33	190	201	atct	16
Alo43	240	253	gata	12
Alo45	240	270	ac	14
Alo15	90	137	ac	17

### Annexe 3 : Protocole M13

le protocole « M13 » utilise une amorce supplémentaire par rapport au protocole classique. Cette amorce, notée M13 est marquée par fluorescence. Elle nécessite l'ajout d'une séquence nommée M13 rajoutée à l'extrémité 5' de l'amorce forward. On se retrouve donc avec trois amorces : l'amorce forward rallongée d'une séquence M13, l'amorce M13 fluorescente et l'amorce reverse classique complémentaire de l'amorce forward. La suite de la PCR à lieu de manière classique:



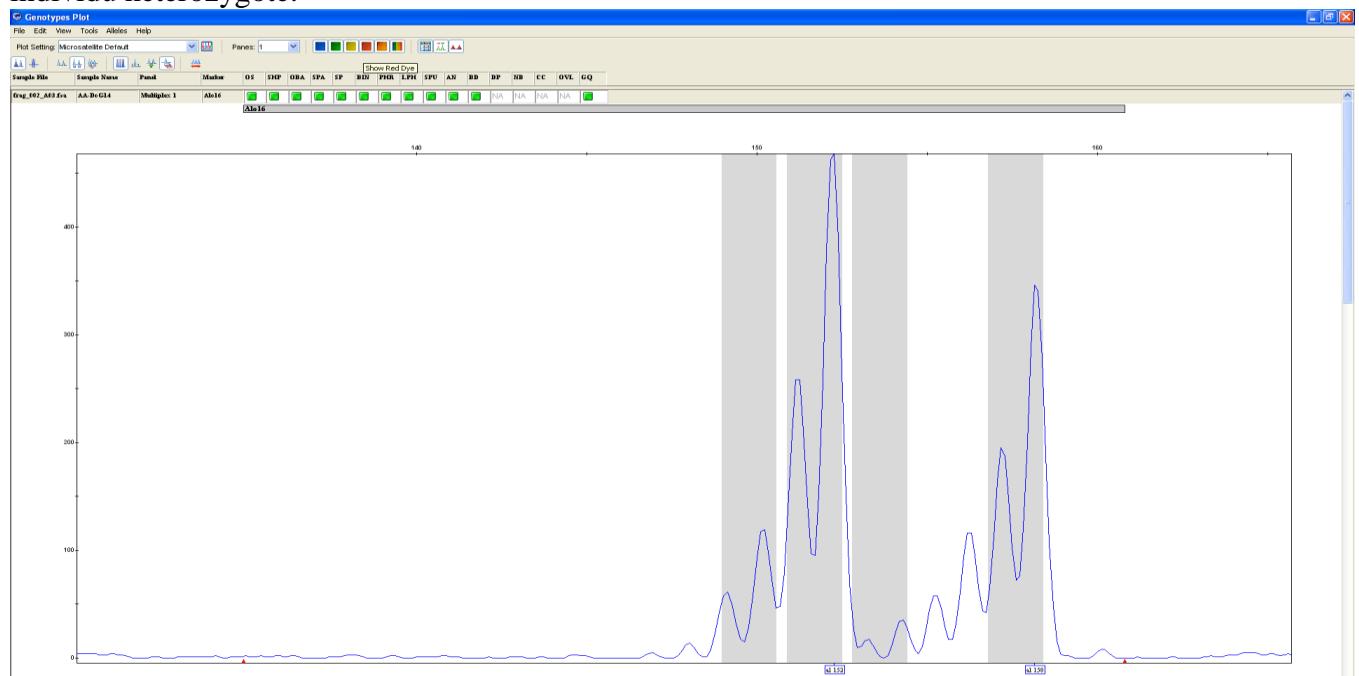
- **1<sup>er</sup> Cycle :** Après dénaturation de l'ADN, les amores droite et gauche se fixent. Celles-ci ne sont pas marquées. Dans cette technique, l'amorce droite est complémentaire de la séquence à amplifier. La séquence de l'amorce gauche non marquée est composée d'une partie complémentaire de la séquence à amplifier et d'une partie de la séquence du virus M13.
- **2<sup>ème</sup> cycle :** Après élongation de l'amorce droite, le fragment d'ADN ainsi généré sera allongé d'une séquence correspondant à l'amorce M13.
- **3<sup>ème</sup> cycle :** Cette séquence sera reconnue par une autre amorce gauche composée d'une séquence M13 marquée par un fluorochrome.
- **X<sup>ème</sup> cycle :** Après plusieurs cycles, une quantité importante de séquences fluorescentes est ainsi générée et sera visualisable par migration sur séquenceur capillaire.

#### Annexe 4 : Composition des 4 Multiplex utilisés

	Marqueur	Fluorochrome
Multiplex 1	Alo29	Jaune (NED)
	Alo26	Rouge (PET)
	Alo09	Jaune (NED)
	Alo17	Bleu (FAM)
Multiplex 2	Alo16	Bleu (FAM)
	Alo43	Vert (VIC)
	Alo33	Jaune (NED)
	Alo07	Vert (VIC)
Multiplex 3	Alo01	Jaune (NED)
	Alo15	Vert (VIC)
	Alo45	Jaune (NED)
Multiplex 4	Alo32	Vert (VIC)
	Alo06	Rouge (PET)

#### Annexe 5 : Exemple d'électrophorégramme pour un marqueur chez un individu.

On observe ici un profil type d'individu hétérozygote à ce locus : les deux bandes correspondent à deux allèles de tailles différentes. On en déduit donc qu'il s'agit d'un individu hétérozygote.



## Annexe 6 : Détails pour chaque marqueur par pop.

		Alo01	Alo06	Alo07	Alo09	Alo15	Alo16	Alo17	Alo26	Alo29	Alo32	Alo33	Alo43	Alo45
Adour	N	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
	A	7	4	3	7	3	2	3	5	6	5	6	5	7
	Ar	5.647	3.231	2.569	5.892	2.615	1.986	2.615	4.555	5.204	4.463	5.702	4.696	6.091
	Ho	0.692	0.539	0.308	0.667	0.692	0.308	0.539	0.539	0.750	0.539	0.700	0.750	0.909
	He	0.689	0.582	0.280	0.797	0.551	0.271	0.495	0.739	0.746	0.711	0.732	0.725	0.732
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Fis	0.005	0.077	0.103	0.170	0.271	0.143	0.091	0.279	-0.005	0.250	0.045	0.037	0.258
	HWE	0.676	0.490	1.000	0.209	0.904	1.000	0.789	0.023	0.429	0.197	0.275	0.703	0.997
	Null	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Allele	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non
Aulne	N	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14
	A	6	5	4	7	4	2	2	3	8	3	5	5	4
	Ar	4.800	3.960	2.714	5.797	3.930	2.000	1.935	2.758	6.225	2.972	4.667	4.587	3.143
	Ho	0.615	0.571	0.214	0.833	0.500	0.539	0.000	0.286	0.417	0.667	0.444	0.769	0.571
	He	0.686	0.519	0.206	0.761	0.733	0.508	0.173	0.320	0.692	0.627	0.667	0.760	0.521
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Fis	0.107	0.106	0.040	-0.100	0.326	0.063	1.000	0.111	0.409	0.067	0.347	0.013	0.101
	HWE	0.263	0.853	1.000	0.813	0.061	0.790	0.048	0.348	0.049	0.695	0.107	0.505	0.753
	Null	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Allele	non	non	non	non	non	non	non	oui	non	non	non	non	non
Charente	N	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41
	A	15	9	11	10	7	3	5	5	14	8	9	9	6
	Ar	7.754	5.381	4.940	6.149	4.529	2.840	3.173	4.031	7.610	4.931	5.911	5.185	5.072
	Ho	0.833	0.639	0.400	0.788	0.631	0.371	0.343	0.472	0.706	0.639	0.615	0.657	0.667
	He	0.822	0.771	0.419	0.766	0.631	0.442	0.380	0.601	0.839	0.603	0.709	0.686	0.775
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Fis	0.015	0.174	0.046	-0.030	0.032	0.161	0.098	0.217	0.161	0.060	0.134	0.042	0.142
	HWE	0.349	0.018	0.017	0.766	0.524	0.198	0.300	0.025	0.047	0.569	0.184	0.207	0.118
	Null	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Allele	non	oui	non	non	non	oui	non	oui	non	non	non	non	non
Dordogne	N	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26
	A	12	7	7	10	5	3	2	4	12	5	7	7	6
	Ar	7.690	5.050	4.591	6.512	3.292	2.348	1.999	3.581	7.761	3.652	5.482	4.999	4.641
	Ho	0.885	0.692	0.520	0.808	0.500	0.435	0.385	0.654	0.720	0.615	0.682	0.652	0.577
	He	0.869	0.741	0.549	0.821	0.567	0.478	0.434	0.654	0.847	0.531	0.729	0.707	0.713
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Fis	0.019	0.067	0.053	0.017	0.120	0.093	0.117	0.000	0.152	0.163	0.067	0.079	0.194
	HWE	0.731	0.468	0.180	0.538	0.256	0.428	0.436	0.634	0.072	0.770	0.085	0.076	0.083
	Null	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Allele	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non
Garonne	N	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
	A	12	6	6	9	5	2	2	5	10	4	9	7	7
	Ar	7.702	3.654	3.759	6.049	3.335	1.995	1.979	3.987	6.608	3.489	6.493	5.596	5.342
	Ho	0.920	0.440	0.500	0.720	0.600	0.400	0.280	0.640	0.600	0.720	0.720	0.800	0.760
	He	0.871	0.600	0.476	0.737	0.593	0.372	0.301	0.674	0.794	0.559	0.772	0.780	0.800
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Fis	0.057	0.271	0.051	0.024	0.013	0.076	0.072	0.051	0.248	0.295	0.069	0.027	0.051
	HWE	0.545	0.093	0.754	0.473	0.628	0.825	0.583	0.152	0.051	0.997	0.399	0.735	0.288
	Null	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Allele	non	non	non	non	non	non	non	oui	non	non	non	non	non
Loire	N	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37
	A	14	7	11	10	7	4	5	5	10	5	9	10	8
	Ar	7.157	4.868	4.845	6.800	4.364	2.620	2.806	3.949	4.826	4.022	6.002	6.405	5.677
	Ho	0.757	0.703	0.460	0.771	0.639	0.500	0.417	0.600	0.389	0.556	0.727	0.649	0.833
	He	0.836	0.717	0.516	0.812	0.689	0.525	0.371	0.639	0.583	0.599	0.787	0.745	0.776
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Fis	0.096	0.020	0.111	0.051	0.073	0.049	0.124	0.062	0.336	0.073	0.076	0.131	0.075
	HWE	0.050	0.542	0.056	0.075	0.022	0.443	0.886	0.008	0.002	0.351	0.325	0.039	0.909
	Null	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Allele	non	non	non	non	non	non	non	oui	non	non	non	non	non
Nivelle	N	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
	A	6	4	4	10	6	2	2	4	4	6	6	7	5
	Ar	4.563	3.836	3.411	7.119	3.612	1.998	2.000	3.518	2.533	5.211	3.966	5.418	4.109

	Ho	0.667	0.667	0.483	0.800	0.700	0.433	0.533	0.467	0.267	0.767	0.667	0.800	0.667
	He	0.729	0.710	0.455	0.869	0.615	0.413	0.509	0.576	0.245	0.801	0.558	0.802	0.725
	Fis	0.087	0.062	0.062	0.081	0.142	0.050	0.050	0.192	-0.092	0.044	0.198	0.002	0.082
	HWE	0.431	0.508	0.786	0.040	0.872	0.763	0.739	0.256	1.000	0.442	0.974	0.377	0.132
	Null Allele	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non
Orne	N	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	A	4	4	4	4	5	2	3	4	4	3	5	6	4
	Ar	4	4	4	4	5	2	3	4	4	3	5	6	4
	Ho	0.375	0.375	0.625	0.500	0.750	0.375	0.375	0.750	0.375	0.625	1.000	0.750	0.375
	He	0.675	0.350	0.650	0.725	0.667	0.325	0.425	0.742	0.592	0.492	0.800	0.617	0.692
	Fis	0.462	0.077	0.041	0.325	0.135	0.167	0.125	0.012	0.382	0.296	0.273	0.235	0.475
	HWE	0.077	1.000	0.575	0.061	0.911	1.000	0.385	0.442	0.029	1.000	1.000	1.000	0.086
	Null Allele	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non
Scorff	N	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33
	A	8.000	6.000	8.000	10.000	5.000	3.000	4.000	5.000	10.000	6.000	6.000	8.000	4.000
	Ar	4.730	4.044	4.423	6.265	4.240	2.242	2.578	3.830	4.939	3.877	4.024	5.475	3.443
	Ho	0.727	0.625	0.485	0.938	0.636	0.485	0.303	0.576	0.485	0.546	0.563	0.788	0.485
	He	0.638	0.647	0.484	0.803	0.680	0.523	0.294	0.654	0.527	0.633	0.679	0.748	0.519
	Fis	0.142	0.035	0.001	-0.171	0.065	0.073	0.031	0.121	0.081	0.140	0.173	0.054	0.067
	HWE	0.886	0.581	0.630	0.732	0.455	0.396	0.631	0.133	0.410	0.217	0.064	0.839	0.360
	Null Allele	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non
Trieux	N	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16
	A	4	6	3	6	4	2	3	4	8	4	4	7	5
	Ar	3.636	4.771	2.707	5.795	3.523	2.000	2.777	3.336	5.274	3.836	3.778	5.722	4.013
	Ho	0.688	0.500	0.375	1.000	0.533	0.438	0.467	0.250	0.438	0.688	0.667	0.875	0.625
	He	0.538	0.643	0.331	0.846	0.618	0.466	0.393	0.425	0.528	0.667	0.628	0.786	0.571
	Fis	0.289	0.228	0.139	-0.190	0.142	0.063	0.195	0.420	0.176	0.031	0.067	0.117	0.099
	HWE	1.000	0.144	1.000	1.000	0.230	0.613	1.000	0.020	0.175	0.694	0.745	0.824	0.827
	Null Allele	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non
Vilaine	N	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
	A	11	5	5	7	6	2	3	6	5	4	7	7	7
	Ar	6.540	3.789	3.591	5.411	4.542	1.993	2.450	4.397	3.483	3.731	5.217	5.288	5.207
	Ho	0.767	0.767	0.333	0.821	0.759	0.200	0.267	0.621	0.517	0.633	0.923	0.724	0.724
	He	0.751	0.650	0.425	0.800	0.672	0.364	0.377	0.646	0.523	0.607	0.792	0.709	0.725
	Fis	0.021	0.184	0.219	-0.027	0.132	0.455	0.297	0.040	0.012	0.045	0.170	0.022	0.002
	HWE	0.815	0.957	0.092	0.049	0.267	0.025	0.082	0.404	0.598	0.523	0.974	0.822	0.806
	Null Allele	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non
Vire	N	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29
	A	6	4	4	7	5	2	2	6	5	5	6	8	5
	Ar	4.835	3.349	3.126	4.596	3.399	1.992	1.814	4.101	2.862	4.165	4.955	5.860	3.617
	Ho	0.828	0.517	0.448	0.692	0.429	0.310	0.172	0.552	0.138	0.655	0.759	0.828	0.690
	He	0.769	0.598	0.384	0.649	0.462	0.354	0.160	0.626	0.256	0.664	0.765	0.788	0.562
	Fis	0.078	0.137	0.170	-0.069	0.073	0.125	0.077	0.121	0.465	0.013	0.008	0.051	0.232
	HWE	0.829	0.334	1.000	0.890	0.061	0.420	1.000	0.009	0.002	0.702	0.062	0.820	0.915
	Null Allele	non	non	non	non	non	non	non	non	oui	non	non	non	non
Overall	N	302	302	302	302	302	302	302	302	302	302	302	302	302
	A	20	10	16	14	14	4	7	8	19	8	9	11	9
	Ar	6.630	4.479	4.338	6.967	4.299	2.317	2.474	4.022	5.791	4.454	5.621	5.853	4.847
	Ho	0.764	0.658	0.452	0.814	0.670	0.438	0.385	0.649	0.654	0.645	0.764	0.758	0.699
	Fis													

Site	Paramètres	Alo01	Alo06	Alo07	Alo09	Alo15	Alo16	Alo17	Alo26	Alo29	Alo32	Alo33	Alo43	Alo45
Adour	N	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16
	A	7	6	7	6	6	3	3	6	4	6	5	4	2
	Ar	5.145	5.378	6.041	4.507	4.706	2.449	2.949	5.086	3.533	4.833	4.232	3.222	1.500
	Ho	0.750	0.563	0.688	0.625	0.438	0.063	0.438	0.429	0.600	0.750	0.583	0.071	0.063
	He	0.724	0.770	0.815	0.583	0.688	0.280	0.621	0.735	0.710	0.698	0.656	0.325	0.063
	Fis	-0.037	0.276	0.160	-0.075	0.371	0.783	0.302	0.426	0.160	-0.078	0.115	0.787	0.000
	HWE	0.849	0.074	0.381	1.000	0.108	0.003	0.295	0.013	0.507	0.623	0.935	0.002	No info
	Null Allele	non	non	non	non	oui	non							
Aude	N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
	A	4	6	5	8	5	2	5	5	5	2	4	7	4
	Ar	3.987	5.025	4.393	6.370	4.052	1.999	3.768	3.595	4.394	2.000	3.569	5.880	3.234
	Ho	0.500	0.600	0.533	0.800	0.400	0.400	0.400	0.533	0.786	0.467	0.786	0.800	0.400
	He	0.749	0.733	0.644	0.798	0.685	0.405	0.409	0.483	0.738	0.481	0.696	0.821	0.356
	Fis	0.341	0.187	0.176	-0.003	0.425	0.012	0.023	-0.109	-0.067	0.030	-0.135	0.026	-0.128
	HWE	0.148	0.313	0.099	0.957	0.023	1.000	0.596	0.627	0.899	1.000	0.209	0.993	1.000
	Null Allele	non	non	non	non	oui	non							
Dordogne	N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
	A	5	5	6	6	4	2	4	4	7	5	5	4	1
	Ar	4.543	4.025	4.842	5.346	3.565	1.999	3.847	3.514	5.182	4.234	4.095	2.600	1.000
	Ho	0.733	0.333	0.667	0.643	0.385	0.214	0.769	0.467	0.667	0.267	0.643	0.133	0.000
	He	0.692	0.458	0.717	0.780	0.542	0.389	0.702	0.591	0.717	0.678	0.564	0.193	0.000
	Fis	-0.062	0.278	0.073	0.182	0.298	0.458	-0.101	0.216	0.073	0.615	-0.147	0.317	NA No info
	HWE	0.757	0.108	0.166	0.395	0.256	0.142	0.707	0.709	0.024	0.002	0.658	0.103	info
	Null Allele	non												
Orne	N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
	A	4	4	2	5	8	2	4	6	4	3	4	4	3
	Ar	3.460	3.234	1.791	3.821	5.829	1.963	3.514	4.975	3.067	2.791	3.569	3.895	2.067
	Ho	0.600	0.267	0.133	0.400	0.867	0.133	0.600	0.667	0.467	0.533	0.615	0.533	0.133
	He (nb)	0.490	0.356	0.129	0.453	0.715	0.239	0.591	0.777	0.545	0.559	0.603	0.681	0.131
	Fis	-0.235	0.258	-0.037	0.120	-0.221	0.451	-0.016	0.146	0.148	0.047	-0.021	0.222	-0.018
	HWE	0.795	0.299	1.000	0.578	0.963	0.203	1.000	0.010	0.515	1.000	0.371	0.156	1.000
	Null Allele	non												
Rhône_V	N	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
	A	9	9	7	12	8	3	6	7	6	5	6	9	4
	Ar	5.038	6.015	4.391	8.455	4.308	2.068	3.859	4.372	3.907	3.493	4.360	6.470	2.533
	Ho	0.733	0.733	0.500	0.704	0.800	0.200	0.467	0.367	0.444	0.733	0.759	0.967	0.267
	He	0.752	0.720	0.499	0.888	0.688	0.186	0.450	0.537	0.572	0.608	0.719	0.844	0.245
	Fis	0.025	-0.019	-0.002	0.210	-0.167	-0.077	-0.038	0.321	0.227	-0.211	-0.056	-0.148	-0.092
	HWE	0.654	0.314	0.592	0.031	0.391	1.000	0.772	0.018	0.036	0.109	0.887	0.384	1.000
	Null Allele	non	oui	non	non	non	non	non						
Rhône_S	N	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37
	A	10	9	6	13	6	4	6	7	6	4	7	8	5
	Ar	5.118	5.743	3.803	7.637	3.982	2.492	3.556	4.432	3.701	3.047	4.685	6.005	3.251
	Ho	0.595	0.649	0.432	0.743	0.571	0.243	0.382	0.611	0.500	0.595	0.611	0.838	0.444

	He	0.722	0.740	0.419	0.846	0.616	0.226	0.385	0.655	0.601	0.545	0.745	0.794	0.467
	Fis	0.178	0.125	-0.032	0.123	0.073	-0.080	0.008	0.067	0.170	-0.092	0.182	-0.056	0.049
	HWE	0.276	0.159	0.762	0.295	0.329	1.000	0.305	0.471	0.243	0.381	0.057	0.997	0.623
	Null Allele	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non
Tavignano	N	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	A	5	6	6	7	7	2	4	5	2	3	6	3	4
	Ar	3.331	3.869	5.032	4.889	3.724	1.965	3.168	4.388	1.160	2.975	3.838	2.821	3.564
	Ho	0.540	0.510	0.820	0.511	0.449	0.306	0.652	0.776	0.020	0.580	0.640	0.440	0.660
	He	0.546	0.546	0.772	0.711	0.519	0.290	0.664	0.739	0.020	0.640	0.653	0.434	0.676
	Fis	0.011	0.065	-0.062	0.284	0.136	-0.057	0.019	-0.050	0.000	0.094	0.019	-0.015	0.024
	HWE	0.664	0.273	0.096	0.006	0.213	1.000	0.477	0.828	No info	0.442	0.190	0.819	0.497
	Null Allele	non	non	non	oui	non	non	non	non	non	non	non	non	non
Tavignano_BC	N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
	A	3	4	5	6	6	2	3	4	2	4	5	3	4
	Ar	2.958	3.288	4.198	5.144	5.108	1.999	2.986	3.926	1.533	3.514	4.321	2.444	3.497
	Ho	0.600	0.467	0.467	0.600	0.733	0.533	0.667	0.867	0.067	0.600	0.667	0.267	0.533
	He	0.515	0.402	0.540	0.740	0.658	0.405	0.618	0.699	0.067	0.591	0.722	0.246	0.655
	Fis	-0.172	-0.167	0.140	0.195	-0.120	-0.333	-0.081	-0.251	0.000	-0.016	0.079	-0.087	0.191
	HWE	1.000	1.000	0.215	0.330	0.676	0.507	1.000	0.423	No info	0.346	0.382	1.000	0.049
	Null Allele	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non
Ulla	N	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32
	A	8	4	6	8	5	2	4	5	5	4	5	3	3
	Ar	4.169	2.131	3.464	4.559	3.194	1.915	2.762	4.099	4.153	2.839	3.434	1.500	2.436
	Ho	0.719	0.094	0.438	0.613	0.656	0.250	0.281	0.645	0.710	0.516	0.560	0.063	0.281
	He	0.625	0.150	0.421	0.561	0.592	0.222	0.305	0.678	0.676	0.416	0.536	0.062	0.427
	Fis	-0.154	0.380	-0.041	-0.094	-0.110	-0.127	0.079	0.049	-0.050	-0.245	-0.045	-0.008	0.344
	HWE	0.892	0.034	0.375	0.930	0.890	1.000	0.080	0.258	0.070	0.541	0.093	1.000	0.059
	Null Allele	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non	oui	non
Vidourle	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	A	8	8	8	6	3	3	6	4	4	3	4	6	4
	Ar	6.800	7.336	6.796	5.771	2.889	2.768	5.365	3.765	3.600	2.968	3.937	5.593	3.568
	Ho	1.000	0.700	0.600	0.667	0.556	0.300	0.700	0.200	0.800	0.600	0.500	0.800	0.300
	He	0.774	0.874	0.695	0.797	0.451	0.279	0.632	0.500	0.621	0.484	0.647	0.790	0.363
	Fis	-0.314	0.208	0.143	0.172	-0.250	-0.080	-0.115	0.613	-0.309	-0.256	0.237	-0.014	0.182
	HWE	0.007	0.150	0.215	0.561	1.000	1.000	1.000	0.029	0.354	1.000	0.266	0.148	0.307
	Null Allele	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non	non
Loire	N	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	A	5.000	5.000	6.000	4.000	4.000	2.000	4.000	5.000	4.000	4.000	3.000	3.000	1.000
	Ar	5.000	4.200	5.537	3.987	3.600	1.800	3.600	4.537	3.765	3.600	2.993	2.796	1.000
	Ho	1.000	0.300	0.700	0.556	0.300	0.100	0.600	0.600	0.400	0.600	0.667	0.300	0.000
	He	0.758	0.368	0.721	0.608	0.537	0.100	0.621	0.511	0.500	0.621	0.523	0.353	0.000
	Fis	-0.349	0.194	0.031	0.091	0.455	0.000	0.036	-0.187	0.209	0.036	-0.297	0.156	NA
	HWE	0.760	0.313	0.160	0.469	0.108	No info	0.127	1.000	0.168	1.000	1.000	0.307	No info
	Null Allele	non	non	oui	non	oui	non	non	non	non	non	oui	non	non
Overall	N	243	243	243	243	243	243	243	243	243	243	243	243	243

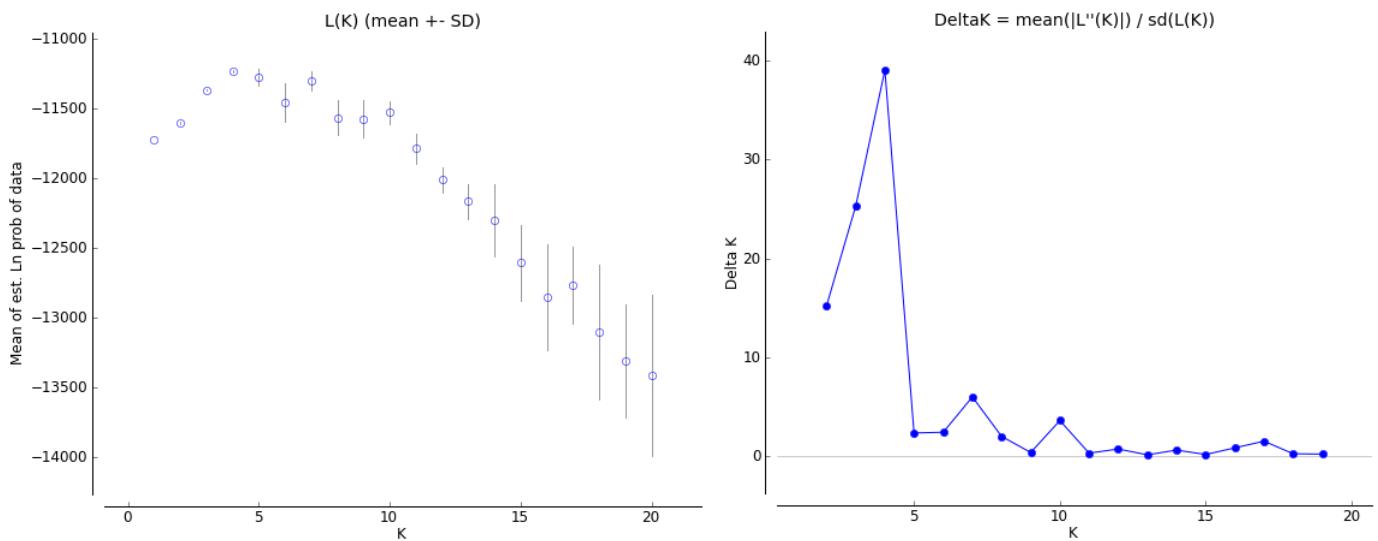
	A	17	12	12	14	16	4	8	10	12	8	9	9	8
	Ar	5.611	5.866	6.033	7.316	7.295	2.139	4.305	5.731	4.638	4.023	4.942	5.006	3.2
	Ho													

### Annexe 7 : Identification des hybrides à partir de la Q-Value

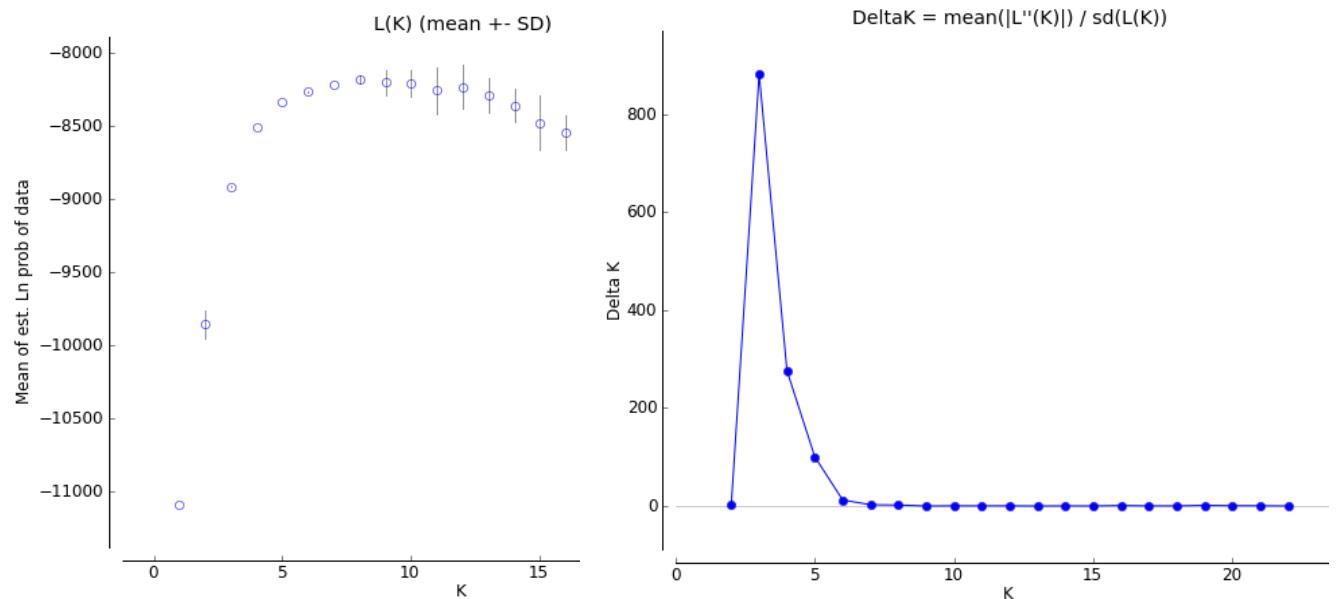
ID	Site	Q-Value (P(A.alosa)%)	Q-Value(P(A.fallax)%)
ALFA-038	Adour	13.4	86.6
ALFA-044	Adour	13.8	86.2
ALFA-045	Adour	23.6	76.4
AA-CH5	Charente	80.6	19.4
AA-CH6	Charente	85.6	14.4
AA-CH8	Charente	85.6	14.4
AA-CH2	Charente	73.4	26.6
AA-CH12	Charente	85.5	14.5
AA-Ch-15	Charente	49.9	51.1
AA-Ch01	Charente	13.8	86.2
AF-CH298	Charente	70	30
ALFA-099	Calais	24.2	75.8
ALAL-166	Loire	14.6	85.4
ALAL-167	Loire	86.6	13.4
ALAL-52	Loire	82.3	17.7
Alal 54	Loire	62	38
AF SB81	Sud Bretagne	15.6	84.4
ALAL SB 154	Sud Bretagne	50	50
ALAL SB 155	Sud Bretagne	50	50
ALAL-0161	Sud Bretagne	67	33
AF 94	Sud Bretagne	62	38
ALAL-0165	Sud Bretagne	89.7	10.3
ALFA-0107	Sud Bretagne	10.8	89.2
AFUPH06	Ulla	36	64
AAVi-7	Vienne	48	52
Alfa27	Méditerranée (Corse)	48	52
Alfa 28	Méditerranée (Corse)	15	85
ALF355	Vidourle	19.6	80.4
SC-2431	Scorff	82.9	17.1
SC2445	Scorff	73.6	26.4
AF-Nord-0087	Mer du Nord	11	89

## Annexe 8 : Résultats de Structure pour chaque espèce

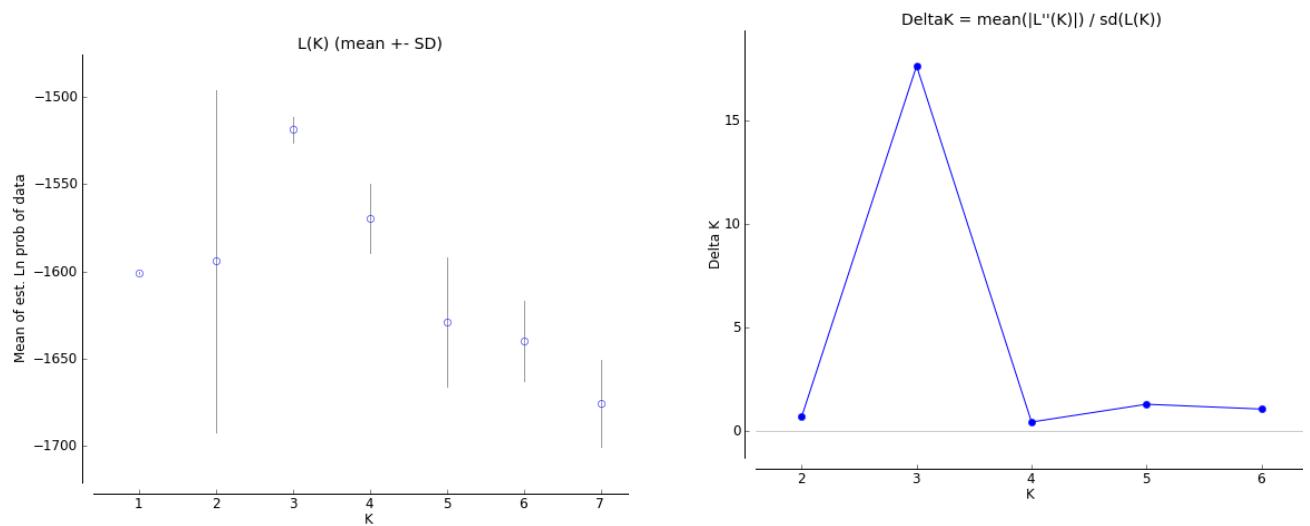
*A. alosa*



*A. fallax*



### A. fallax, populations de l'Atlantique



Graphe de structure pour A. fallax le long de l'Atlantique et incluant des individus pris en mer.

Graphe de gauche : Résultats pour K=4

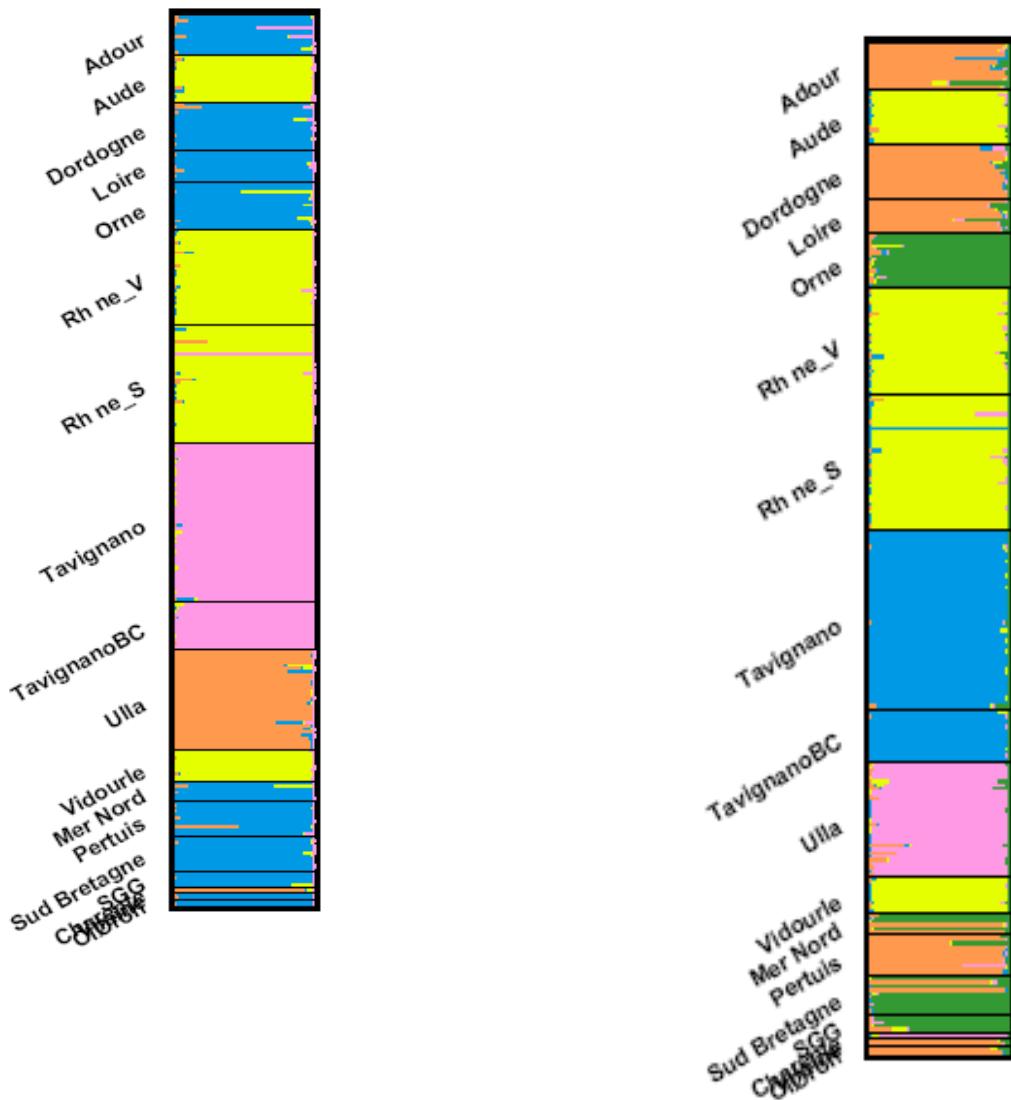
Graphe de droite : Résultats pour K=5



Résultats de structure chez tous les individus *A. fallax*, individus capturés en mer inclus (N=288)

Graphe de gauche : résultats pour K=4. L'Ulla s'individualise nettement par rapport aux clusters précédents. On note aussi qu'un individu du Sud Golfe Gacogne est assigné à l'Ulla (100%).

Graphe de gauche : résultats pour K=5. L'Orne se sépare nettement des 4 précédents groupes. Des individus de mer du Nord et de Sud Bretagne sont assignés soit à l'Orne, soit à l'Atlantique « sud »



## Résultats des assignations :

Probabilité d'assignation des différents échantillons d'*A. fallax* aux différents groupes pour K=5 (Tableau de gauche)

Probabilité d'assignation des différents échantillons d'*A. alosa* aux différents groupes pour K=4 (Tableau de droite)

	Atlantique	Tavignano	Méditerrané	Ulla	Orne
Adour	<b>0.878</b>	0.039	0.016	0.015	0.053
Dordogne	<b>0.946</b>	0.013	0.009	0.014	0.018
Loire	<b>0.901</b>	0.006	0.008	0.016	0.069
Vilaine	<b>0.941</b>	0.003	0.005	0.014	0.037
Oléron	<b>0.918</b>	0.002	0.023	0.009	0.048
Pertuis	<b>0.902</b>	0.006	0.005	0.036	0.050
Aude	0.009	0.009	<b>0.957</b>	0.014	0.010
Rhône_V	0.009	0.008	<b>0.963</b>	0.010	0.011
Rhône_S	0.008	0.033	<b>0.935</b>	0.017	0.006
Vidourle	0.007	0.011	<b>0.967</b>	0.008	0.006
Tavignano	0.005	<b>0.978</b>	0.007	0.004	0.006
TavignanoBC	0.004	<b>0.977</b>	0.008	0.007	0.004
Orne	0.027	0.005	0.023	0.012	<b>0.933</b>
SGG	0.044	0.002	0.025	0.021	<b>0.908</b>
Sud Bretagne	0.177	0.003	0.009	0.007	<b>0.804</b>
Mer Nord	0.336	0.003	0.005	0.008	<b>0.648</b>
Charente	0.006	0.012	0.030	<b>0.943</b>	0.009
Ulla	0.032	0.005	0.011	<b>0.939</b>	0.013

	Nivelle	Charente	Atlantique	Bretagne	Normandie
Nivelle	<b>0.900</b>	0.026	0.051	0.024	
Arcachon	0.048	<b>0.789</b>	0.081	0.081	
Charente	0.079	<b>0.628</b>	0.157	0.136	
Oléron	0.010	<b>0.967</b>	0.016	0.007	
Adour	0.088	0.139	<b>0.645</b>	0.128	
Dordogne	0.061	0.378	<b>0.475</b>	0.086	
Garonne	0.072	0.381	<b>0.434</b>	0.113	
Sud Bretagne	0.105	0.318	<b>0.336</b>	0.241	
Loire	0.119	0.177	<b>0.509</b>	0.195	
Vienne	0.067	0.317	<b>0.544</b>	0.072	
Vilaine	0.155	0.078	<b>0.525</b>	0.242	
Scorff	0.055	0.044	0.204	<b>0.697</b>	
Aulne	0.117	0.172	0.056	<b>0.655</b>	
Trieux	0.053	0.098	0.115	<b>0.734</b>	
Sélune	0.279	0.029	0.183	<b>0.509</b>	
Vire	0.471	0.076	0.140	<b>0.313</b>	
Orne	0.178	0.165	0.098	<b>0.558</b>	

Probabilité d'assigation des différents échantillons d'*A. fallax* le long de l'atlantique pour K=3

	Loire-Dordogne	Orne	Adour
Adour	0.361	0.083	0.555
Dordogne	0.649	0.117	0.233
Loire	0.543	0.202	0.255
Orne	0.087	0.777	0.136

**Annexe n°9 : Résultats de l'assignation obtenus avec Geneclass.**

Paramètres utilisés : Critère de Paetkau et al (1995).

Probabilité critique de Paetkau et al, 2004 100 000 individus simulés pour chaque espèces

**Résultats pour A. aloosa :**

	rang	score	rang	score
Echantillon assigné	1	%	2	%
/AA-Arc-0158-Arcachon	Charente	<b>97.403</b>	Dordogne	1.379
/AA-Arc-0159-Arcachon	Aulne	<b>84.238</b>	Vire	5.474
/ALAL-0072-Oléron	Charente	<b>93.668</b>	Dordogne	5.548
/SudBretagne-ALAL-0089	Dordogne	57.713	Charente	16.039
/SudBretagne-ALAL-0090	Garonne	47.761	Vire	19.930
/SudBretagne-ALAL-0102	Dordogne	41.386	Scorff	21.232
/SudBretagne-ALAL-0103	Loire	61.228	Vilaine	27.977
/SudBretagne-AA-Sb-0087	Dordogne	63.519	Loire	26.966
/SudBretagne-AASb-0156	Loire	35.552	Vire	27.623
/SudBretagne-AA-Sb-0157	Aulne	<b>67.497</b>	Trieux	28.788
/SudBretagne-ALAL-0041	Adour	<b>69.139</b>	Garonne	17.535
/SudBretagne-ALAL-0042	Aulne	<b>89.616</b>	Dordogne	3.279
/SudBretagne-ALAL-0043	Aulne	<b>93.502</b>	Scorff	5.306
/SudBretagne-ALAL-0044	Dordogne	<b>78.168</b>	Nivelle	18.040
/SudBretagne-ALAL-0091	Charente	<b>81.954</b>	Garonne	7.430
/SudBretagne-ALAL-0093	Dordogne	31.020	Garonne	29.928
/SudBretagne-ALAL-0095	Charente	<b>83.277</b>	Loire	4.312
/SudBretagne-ALAL-0099	Vilaine	22.073	Vienne	18.341
/SudBretagne-ALAL-0104	Garonne	<b>79.177</b>	Dordogne	15.310
/SudBretagne-ALAL-0162	Scorff	<b>84.791</b>	Sélune	7.233
/SudBretagne-ALAL-0164	Charente	51.302	Adour	45.013
/SudBretagne-ALFA-0068	Scorff	64.935	Vilaine	20.612
/SudBretagne-ALFA-0069	Aulne	61.307	Scorff	35.766
/SudBretagne-ALFA-0070	Charente	<b>72.565</b>	Garonne	17.659
/SudBretagne-ALFA-0071	Nivelle	<b>97.794</b>	Garonne	0.773
/SudBretagne-ALFA-0072	Loire	<b>69.495</b>	Vilaine	11.513

**Résultats pour A. fallax :**

	rang	score	rang	score
Echantillon assigné	1	%	2	%
/AF-ChM-1-CharenteMer	Charente	<b>69.695</b>	Dordogne	29.185
/AF-ChM-2-CharenteMer	Dordogne	53.761	Loire	30.221
/AF-ChM-5-CharenteMer	Dordogne	50.270	Charente	25.702
/AF-ChM-6-CharenteMer	Charente	<b>80.244</b>	Vilaine	19.756
/ALFA-0002-Pertuis_charentais	Vilaine	<b>93.189</b>	Dordogne	3.271
/ALFA-0003-Pertuis_charentais	Dordogne	<b>88.913</b>	Adour	9.175
/ALFA-0004-Pertuis_charentais	Charente	62.830	Orne	26.739
/ALFA-0005-Pertuis_charentais	Dordogne	<b>75.179</b>	Adour	16.126
/ALFA-0006-Pertuis_charentais	Vilaine	<b>73.437</b>	Charente	15.268
/ALFA-0007-Pertuis_charentais	Adour	<b>97.244</b>	Dordogne	2.279
/ALFA-0008-Pertuis_charentais	Dordogne	52.368	Charente	47.487
/ALFA-0030-Pertuis_charentais	Dordogne	<b>83.773</b>	Loire	15.231
/ALFA-0032-Pertuis_charentais	Dordogne	46.023	Adour	28.536
/ALFA-0033-Pertuis_charentais	Vilaine	52.075	Charente	20.459
/ALFA-0031-Pertuis_charentais	Loire	50.781	Adour	42.334
/ALFA-0015-Sud_Golfe_Gascogne	Orne	<b>99.990</b>	Dordogne	0.009
/ALFA-0035-Sud_Golfe_Gascogne	Orne	<b>99.986</b>	Adour	0.010
/ALFA-0036-Sud_Golfe_Gascogne	Orne	<b>99.262</b>	Vilaine	0.738
/ALFA-0037-Sud_Golfe_Gascogne	Orne	<b>100.000</b>	Dordogne	0.000
/ALFA-0016-Sud_Golfe_Gascogne	Charente	<b>69.621</b>	Adour	21.019
/ALFA-0026-Oléron	Adour	<b>66.946</b>	Loire	31.810
/ALFA-25-Oléron	Adour	<b>86.128</b>	Vilaine	13.554
/ALFA-0034-Sud_Bretagne	Orne	<b>99.577</b>	Vilaine	0.385
/ALFA-0074-Sud_Bretagne	Orne	<b>99.968</b>	Vilaine	0.032
/AF-Sb-0014-Sud_Bretagne	Vilaine	<b>99.976</b>	Charente	0.022
/ALFA-0012-Sud_Bretagne	Charente	<b>78.522</b>	Loire	21.218
/ALFA-0013-Sud_Bretagne	Orne	<b>99.905</b>	Vilaine	0.050
/ALFA-0029-Sud_Bretagne	Loire	<b>89.316</b>	Dordogne	4.108
/ALFA-0100-Sud_Bretagne	Orne	<b>99.930</b>	Dordogne	0.068
/ALFA-0101-Sud_Bretagne	Orne	<b>100.000</b>	Vilaine	0.000
/ALFA-0102-Sud_Bretagne	Orne	<b>95.287</b>	Vilaine	3.102
/ALFA-0103-Sud_Bretagne	Orne	<b>99.356</b>	Dordogne	0.543
/ALFA-0104-Sud_Bretagne	Orne	<b>99.857</b>	Vilaine	0.143
/ALFA-0106-Sud_Bretagne	Orne	<b>82.052</b>	Vilaine	15.182
/AF-Nord-0084-MerNord	Orne	<b>99.814</b>	Loire	0.165
/AF-Nord-0085-MerNord	Orne	<b>98.341</b>	Adour	0.940
/AF-Nord-0087-MerNord	Orne	<b>99.989</b>	Loire	0.008
/ALFA-0096-MerNord	Vilaine	<b>99.996</b>	Adour	0.002
/ALFA-0098-MerNord	Orne	<b>97.973</b>	Dordogne	2.014

## Annexe 10 : recherche de migrants

### Résultats pour A. alosa

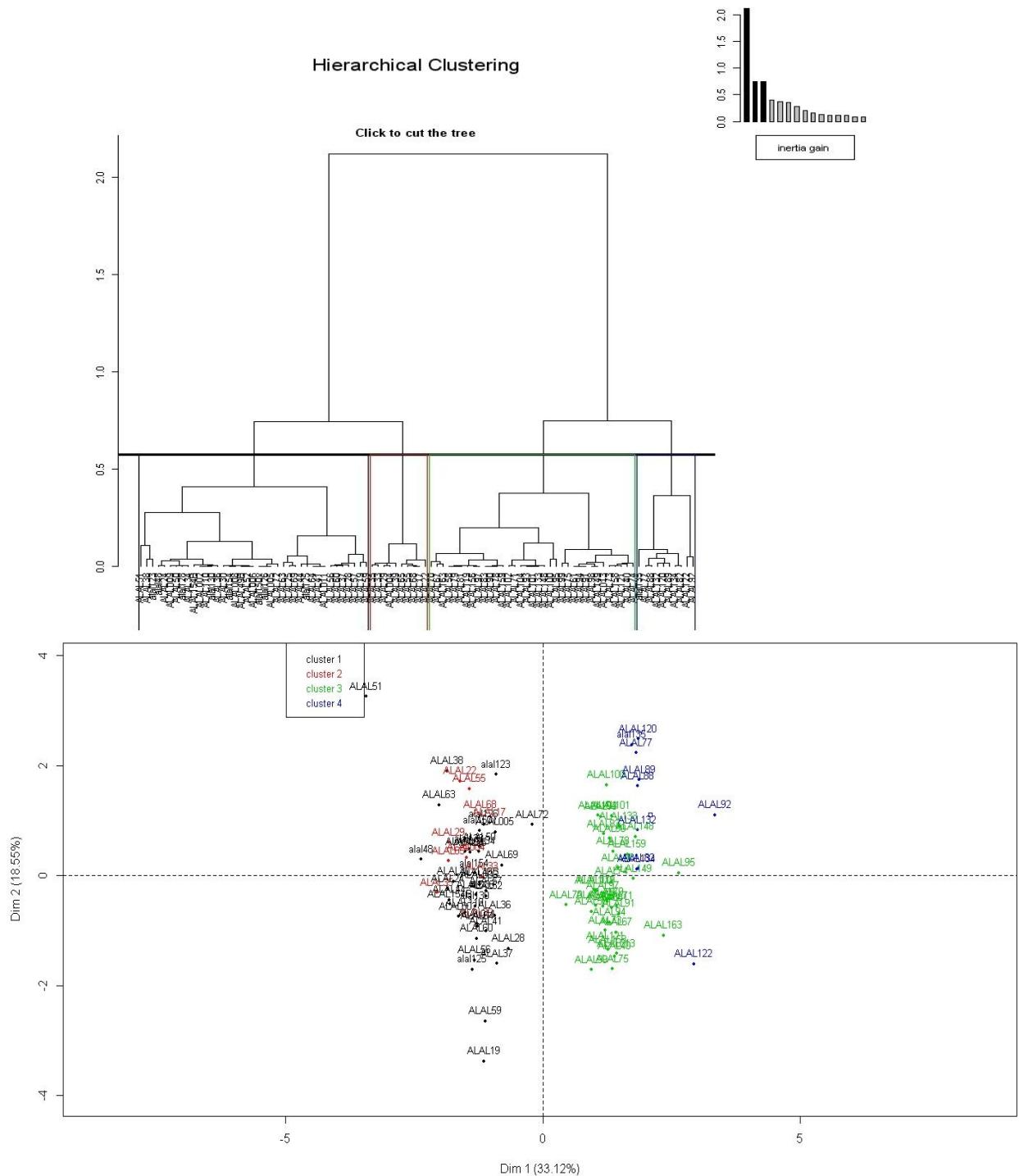
			Adour	Aulne	Charente	Dordogne	Garonne	Loire	Nivelle	Orne	Scorff	Trieux	Vienne	Vilaine	Vire
Echantillon assigné	origine	probabilité	'-Log10(L)	'-Log10(L)	'-Log10(L)	'-Log10(L)	'-Log10(L)	'-Log10(L)	'-Log10(L)	'-Log10(L)	'-Log10(L)	'-Log10(L)	'-Log10(L)	'-Log10(L)	'-Log10(L)
/Adour	Adour	0.0011	17.357	20.407	14.877	12.597	<b>11.338</b>	16.216	17.177	17.902	21.869	16.985	15.388	17.676	15.094
/Aulne	Aulne	0.0017	18.771	19.237	18.080	20.084	21.836	19.592	24.896	21.148	13.989	<b>17.334</b>	21.143	20.973	20.318
/Charente	Charente	0.0019	12.028	13.942	13.208	11.138	11.838	11.459	15.617	<b>7.999</b>	11.216	11.018	12.212	10.169	9.700
/Dordogne	Dordogne	0.0090	18.279	23.418	20.539	18.456	14.942	<b>14.409</b>	21.443	25.751	19.096	19.381	16.684	17.640	21.987
/Garonne	Garonne	0.0000	24.162	29.292	18.106	<b>14.834</b>	22.902	19.155	23.648	24.533	26.125	25.106	19.885	21.200	25.966
/Nivelle	Nivelle	0.0013	16.046	16.784	14.828	14.974	<b>13.179</b>	14.559	16.097	14.861	15.419	17.307	16.511	16.912	17.605
/Scorff	Scorff	0.0064	23.475	15.318	16.991	17.786	18.987	19.056	22.853	17.083	15.706	12.769	21.900	21.813	19.849
/Trieux	Trieux	0.0037	12.391	<b>11.319</b>	12.148	12.101	12.021	13.692	18.930	15.412	13.605	15.974	18.993	15.667	14.416
/Vienne	Vienne	0.0030	12.040	14.173	12.731	10.894	12.339	11.857	14.521	12.214	13.661	14.443	16.199	11.565	<b>8.963</b>
/Vilaine	Vilaine	0.0059	14.553	19.358	16.262	16.224	15.184	13.522	14.842	17.601	16.288	17.072	14.789	15.224	<b>11.881</b>
/Vire	Vire	0.0002	13.575	9.978	13.153	14.420	13.808	10.848	14.751	13.302	9.793	<b>8.071</b>	16.126	12.513	14.889

### Résultats pour A. fallax

			Adour	Aude	Dordogne	Loire	Orne	Rhône_V	Rhône_S	Tavignano	Tavignano_BC	Ulla	Vidourle		
Echantillon assigné	origine	probabilité	'-Log10(L)	Log10(L)	'-Log10(L)	Log10(L)	'-Log10(L)	Log10(L)	'-Log10(L)	'-Log10(L)	'-Log10(L)	'-Log10(L)	'-Log10(L)	'-Log10(L)	'-Log10(L)
ALFA52	Adour	0.0040	10.744	25.687	<b>7.245</b>	7.955	16.273	30.197	28.055	32.601	28.913	20.480	28.053		
ALF127	Dordogne	0.0048	<b>14.359</b>	39.387	17.741	19.552	21.546	36.622	37.925	38.384	36.256	27.120	34.330		
ALFA58	Loire	0.0040	15.045	23.168	<b>11.256</b>	15.472	14.810	23.376	22.636	32.029	30.124	19.869	22.173		
AF-OR-14	Orne	0.0068	18.324	20.803	<b>14.972</b>	17.065	15.780	22.269	24.315	22.834	23.034	27.230	22.139		
ALF117	Rhône_V	0.0079	31.876	19.350	33.595	27.313	27.621	17.028	<b>13.719</b>	37.430	33.774	39.299	20.291		
ALF273	Rhône_V	0.0021	25.480	17.912	23.942	19.591	22.408	18.710	<b>17.144</b>	28.991	26.681	28.334	14.440		
ALF7	Rhône_S	0.0000	20.523	22.039	21.805	19.777	23.127	22.860	24.249	<b>5.349</b>	6.433	24.888	19.570		
ALF19	Tavignano	0.0048	29.265	23.651	32.681	30.332	37.342	26.740	23.154	11.167	<b>8.330</b>	31.000	23.363		
AFA7	Vidourle	0.0079	29.454	21.006	33.751	31.204	33.082	19.257	<b>18.714</b>	33.898	31.854	39.991	23.722		
AFA8	Vidourle	0.0019	38.592	28.532	34.386	31.809	35.395	22.990	<b>18.788</b>	34.151	35.476	35.351	25.112		

## Annexe 11 : Discriminations d'individus à partir de la dernière signature marine

### Résultats du clustering chez *A. alosa*



Listing des individus *A. alosa* et *A. fallax* assignés aux différents clusters à partir de la signature marine

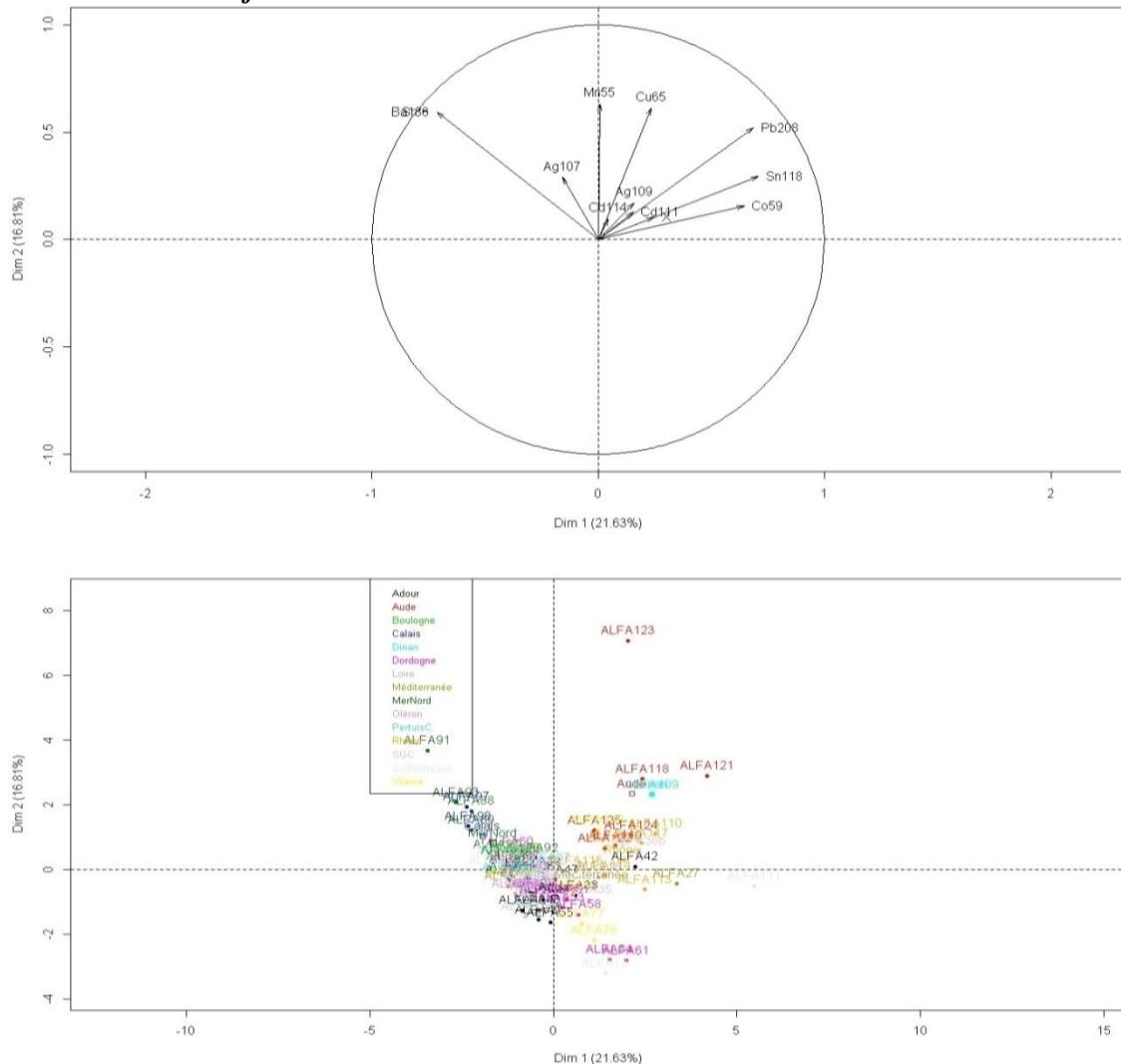
*A. alosa* :

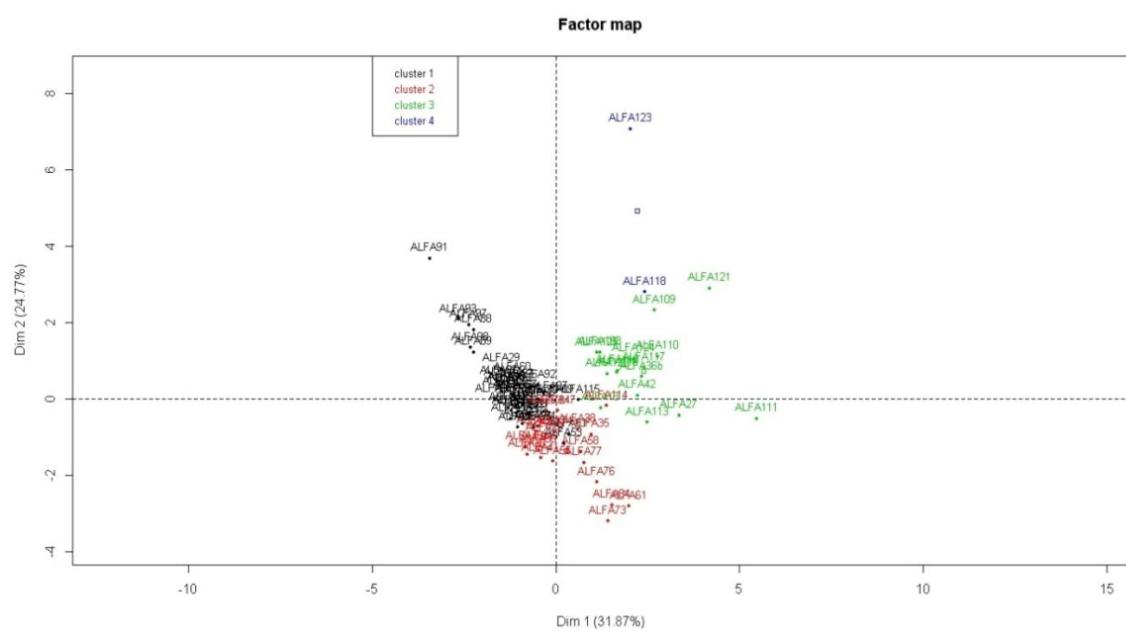
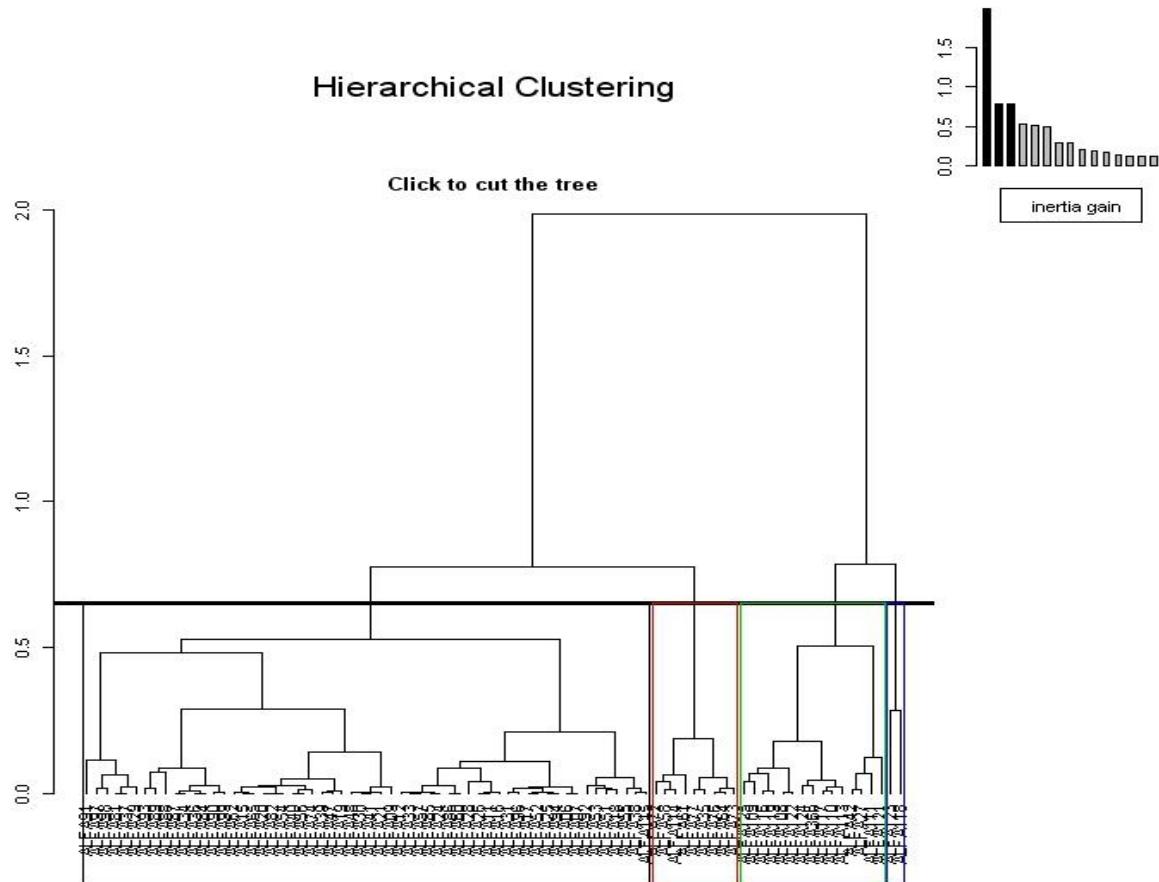
*A. fallax* :

Cluster	Site	Nb_Individus
1	Adour	5
1	Loire	13
1	Oléron	1
1	Sélune	3
1	Sud Bretagne	5
1	Vilaine	6
1	Vire	6
2	Loire	5
2	Sélune	1
2	Vilaine	3
2	Vire	1
3	Adour	1
3	Arcachon	2
3	Mer Cletique	1
3	Oléron	
3	Sélune	1
3	Sud Bretagne	15
3	Vilaine	6
3	Vire	1
4	Adour	3
4	Loire	1
4	Sud Bretagne	3
4	Vilaine	3

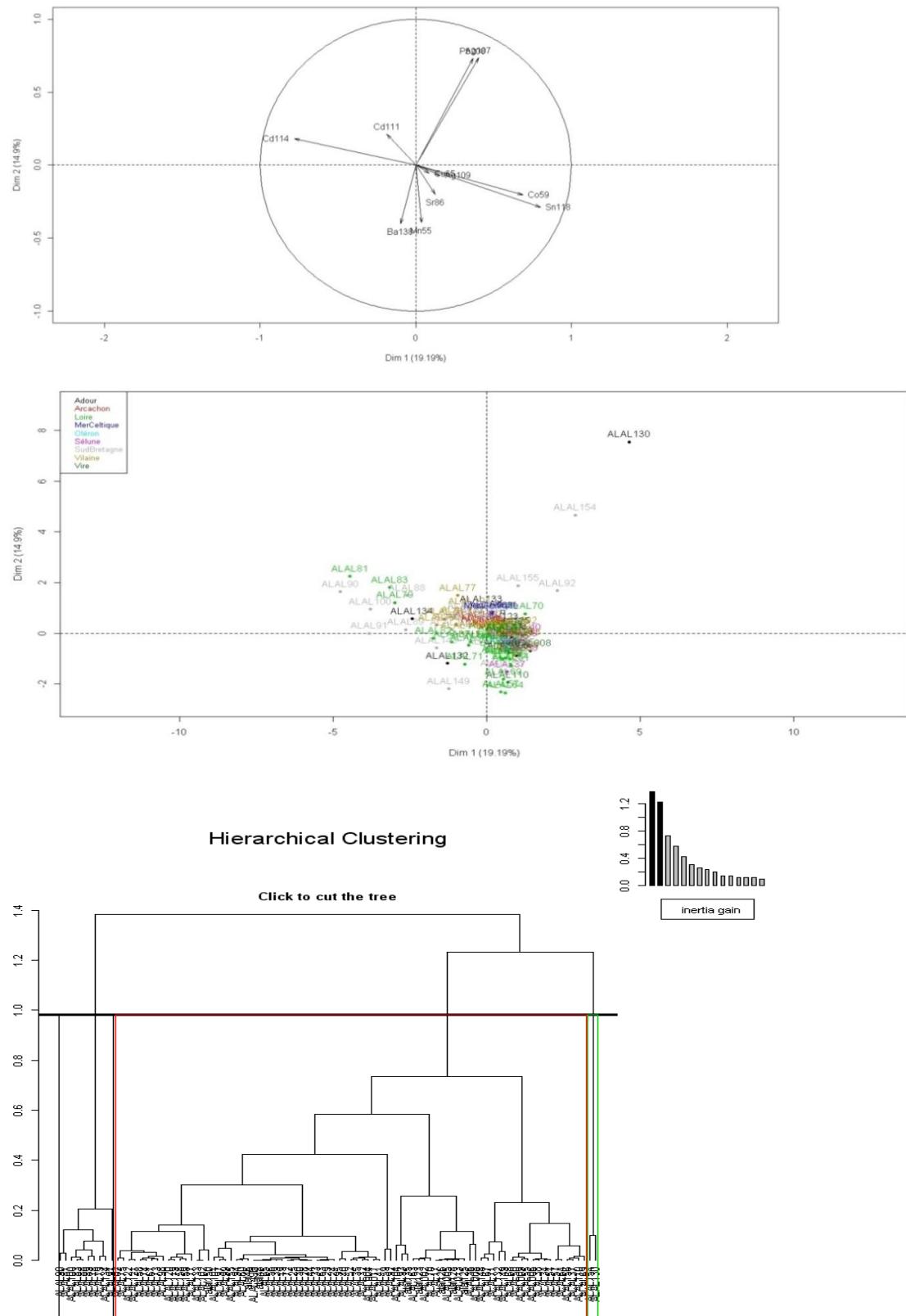
Cluster	Site	Nb_Individus
1	Adour	3
1	Boulogne	1
1	Calais	3
1	Dordogne	6
1	Loire	2
1	Mer Nord	11
1	Oléron	2
1	Pertuis	4
1	Rhône	1
1	SGG	3
1	Sud Bretagne	8
2	Adour	5
2	Dordogne	5
2	Loire	1
2	Pertuis	1
2	SGG	2
2	Rhône	1
2	Sud Bretagne	2
2	Vilaine	2
3	Adour	1
3	Aude	5
3	Dinan	1
3	Loire	1
3	Méditerranée	1
3	Rhône	4
3	SGG	1
3	Sud Bretagne	1
3	Vilaine	1
4	Aude	2

## Résultats chez *A. fallax*

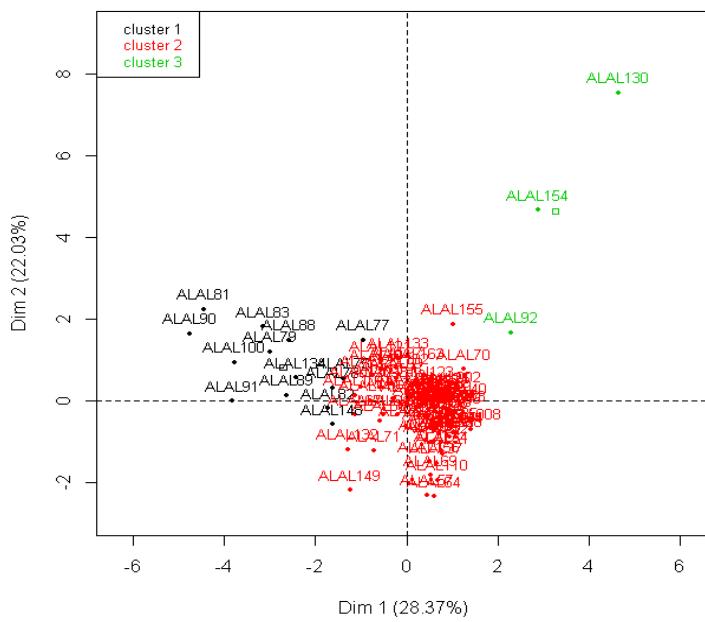




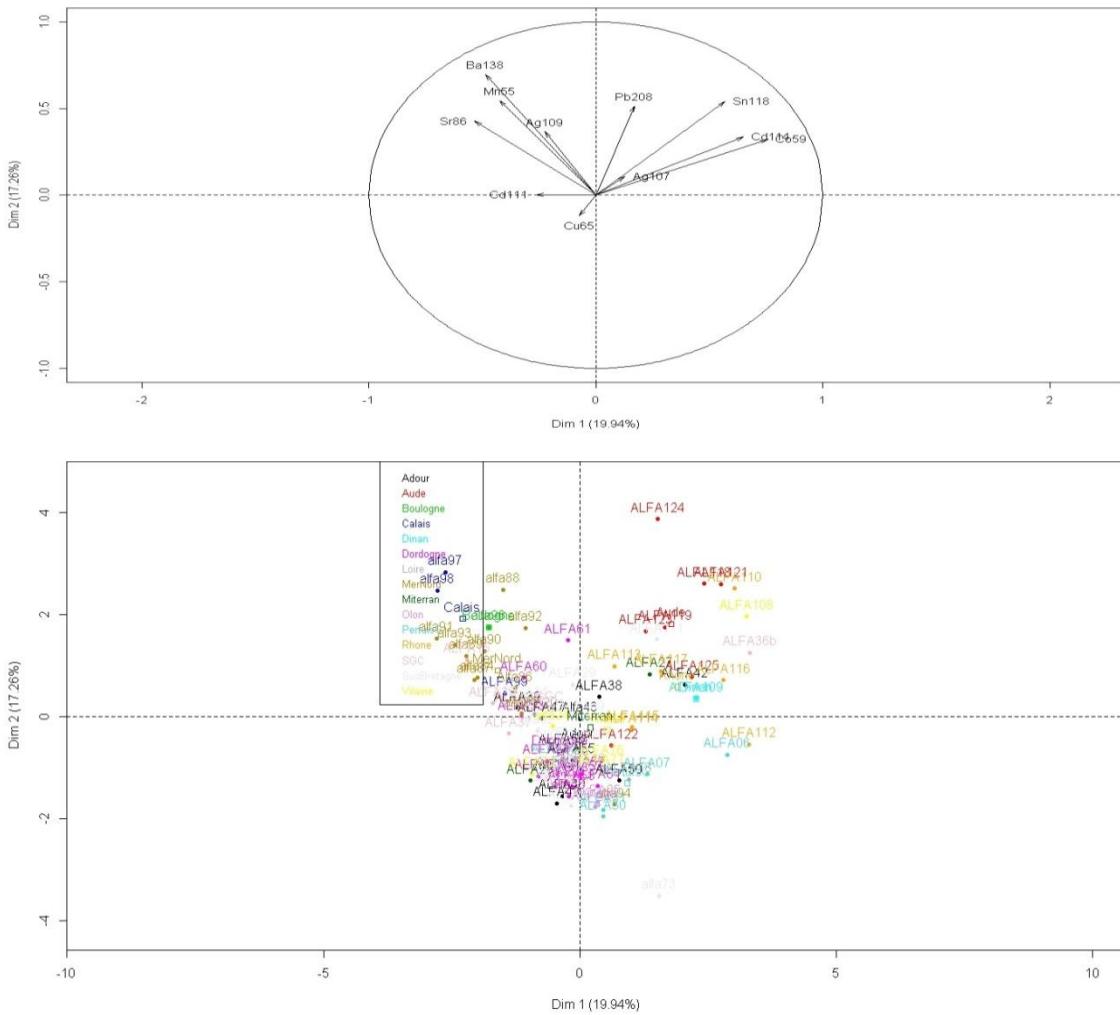
## Annexe 12 : Discrimination d'individus à partir des signatures de naissance Résultats chez *A. alosa*

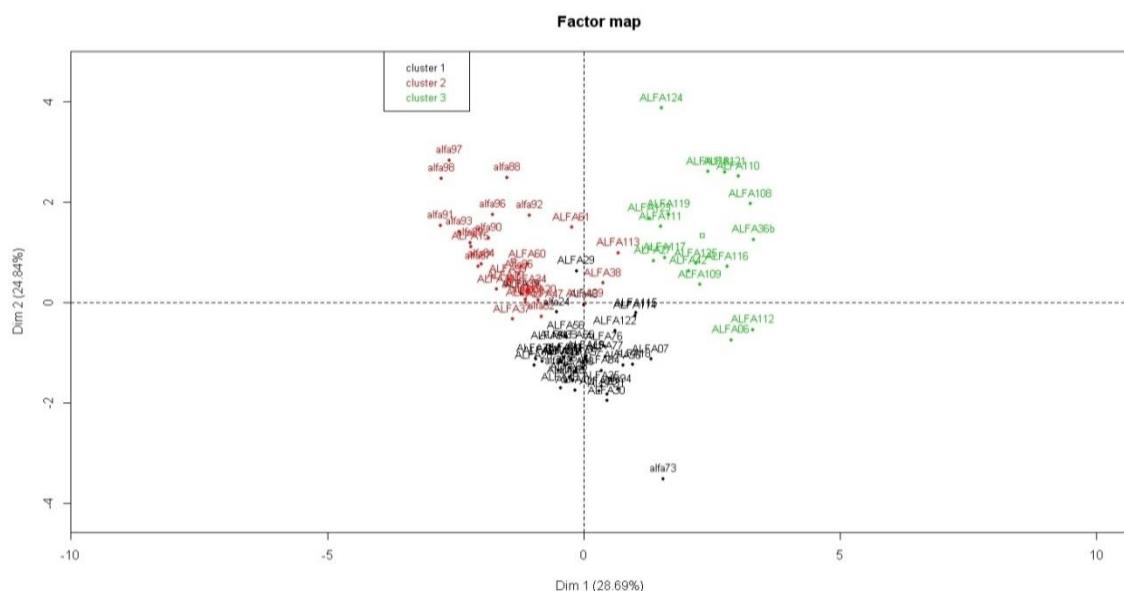
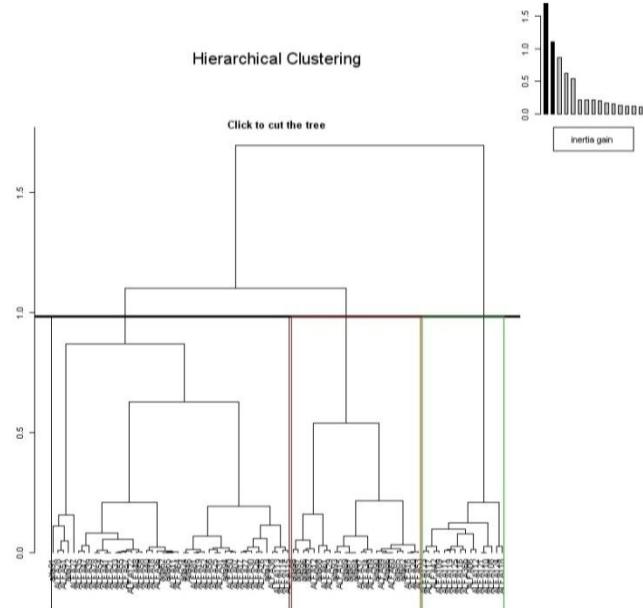


**Factor map**



### Résultats chez *A. fallax* :





Listing des individus *A. alosa* et *A. fallax* assignés aux différents clusters à partir des signatures de naissance

*A. alosa* :

Cluster	Site	Nb_Individus
1	Adour	1
1	Loire	4
	Sud Bretagne	
1	Bretagne	6
1	Vilaine	3
2	Adour	7
2	Arcachon	2
2	Loire	21
2	Mer Cletique	1
2	Oléron	1
2	Sélune	5
	Sud Bretagne	
2	Bretagne	15
2	Vilaine	15
2	Vire	8
3	Adour	1
	Sud Bretagne	
3	Bretagne	2

*A. fallax* :

Cluster	Site	Nb_Individus
1	Adour	7
1	Aude	1
1	Dordogne	8
1	Loire	4
1	Méditerranée	1
1	Mer Nord	1
1	Oléron	2
1	Pertuis	4
1	Rhône	2
1	SGG	1
1	Sud Bretagne	5
1	Vilaine	2
2	Adour	2
2	Boulogne	1
2	Calais	3
2	Dordogne	3
2	Loire	1
2	Mer Nord	10
2	Rhône	1
2	SGG	4
2	Sud Bretagne	4
3	Adour	1
3	Aude	6
3	Dinan	1
3	Méditerranée	1
3	Pertuis	1
3	Rhône	4
3	SGG	1
3	Sud Bretagne	1
3	Vilaine	1

 <b>AGRO</b> <b>CAMPUS</b> <small>OUEST</small>	<p>Département : Ecologie et Santé des Ecosystèmes      Spécialisation : Génie de l'Environnement...option SEH....      Enseignant responsable /Tuteur scientifique : Dominique Ombredane</p> <p style="text-align: right;">Cadre réservé au Centre de ressources documentaires</p>
<p>Auteur(s) :      Quentin Rougemont</p> <p>Nb pages : 44      Annexe(s) :</p> <p>Année de soutenance : 2012</p>	
<p>Organisme d'accueil : INRA Rennes Laboratoire ESE      Adresse : 65 Rue de Saint Brieuc 35000 Rennes</p> <p>Maître de stage : Sophie Launey      Elodie Réveillac</p>	
<p><b>Titre :</b> Etude de la différenciation et de la dispersion des deux espèces d'aloises (<i>Alosa spp</i>) en France : apport de la génétique et de la microchimie des otolithes</p>	
<p><b>Résumé :</b>      Les poissons migrateurs amphihalins sont des organismes sentinelles pour connaître le degré de connectivité entre différents habitats halins. Il est important de connaître le degré de différenciation et de structuration spatiale afin de mettre en place une gestion adaptée au sein du réseau Natura 2000. Pour la première fois à l'échelle nationale française, le degré de structuration génétique des populations d'<i>Alosa alosa</i> et d'<i>Alosa fallax</i> a été étudié ainsi que leur degré de dispersion à l'aide de la génétique des populations et de la microchimie des otolithes. 647 individus ont été génotypés à l'aide de 13 marqueurs microsatellites, de la Corse à la Normandie en passant par la façade Atlantique. Un fonctionnement en métapopulation a été observé chez les deux espèces. Chez <i>A. alosa</i> une structuration en 4 groupes à fort degré de mélange a été observée. La dispersion chez cette espèce semble assez importante mais n'est pas incompatible avec un certain degré de homing. Ce phénomène n'a pu être étudié à l'aide de la microchimie mais nécessite investigation. Chez <i>A. fallax</i> une structuration hiérarchique en 6 groupes fortement différenciés a été observée. Si <i>A. fallax</i> semble se disperser en mer elle ne s'éloigne probablement pas des côtes et les estuaires jouent un rôle clé dans le développement de cette espèce. Les deux espèces ont une capacité à s'hybrider importante dont les conséquences doivent être approfondies. Ces résultats montrent l'importance d'une gestion différenciée de ces groupes, d'une échelle régionale à locale afin de favoriser les échanges au sein des populations. Nos résultats suggèrent un potentiel d'adaptation locale chez <i>A. fallax</i> et il apparaît important de restaurer où conserver la capacité d'accueil des habitats dulcicoles afin de maintenir ce potentiel et finalement favoriser le bon déroulement du cycle de vie de chaque espèce.</p>	
<p><b>Abstract :</b>      Anadromous migratory fish are key organisms indicating connectivity between saltwater and freshwater habitat. Determining accurately the spatial extent of differentiation and genetic structure is essential to set up an efficient management within the Natura 2000 network. For the first time at the French national scale, the extent of genetic structure and straying of allis shad <i>A. alosa</i> and Twaite shad <i>A. fallax</i> were investigated with population genetics and otolith microchemistry methods. 647 individuals originating from Corse to Normandy were genotyped using a set of 13 microsatellite markers. A metapopulation structure was observed within both species. A spatial clustering of 4 groups exhibiting a high degree of mixture was observed within <i>A. alosa</i>. Straying within this species appears important but homing still remains possible. Hence this behaviour should be re-investigated using otolith microchemistry. <i>A. fallax</i> exhibited a hierarchical genetic structure composed of 6 highly differentiated groups. Even though <i>A. fallax</i> seems to move far away at sea it probably does not move far from the coast and estuaries probably play a key role for the species life cycle. Extensive potential for hybridisation is at play between the two species and its consequence needs further investigations. Together, these results show the importance of an efficient management of these different groups, from a local to a regional scale in order to facilitate exchange between population patches. Our results suggest a potential for local adaptation within <i>A. fallax</i> species and it appears important to maintain or improve shad habitat within each river and finally to favour a smooth progress of the life cycle of each species.</p>	
	<p><b>Diffusion :</b></p> <p><input type="checkbox"/> Non limitée</p> <p><input type="checkbox"/> Limitée (préciser au verso)</p>

Je soussigné Rougemont Quentin propriétaire des droits de reproduction du résumé du présent document, autorise toutes les sources bibliographiques à signaler et publier ce résumé.

Date : 29/08/2012

Signature :