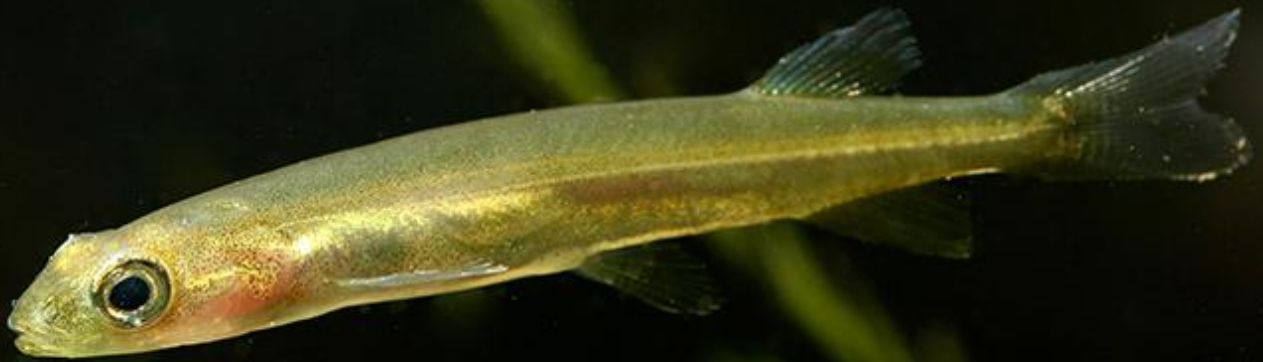


GALAXIAS



Rapport final



Auteurs : N. Charpin - M. Mennesson - P. Keith

Août 2023



Résumé

Titre du projet	Galaxias
Evolutions	Rapport final - août 2023
Auteurs	N. Charpin - M. Mennesson - P. Keith
Editeur	Vies d'Ô douce
Durée du projet	2021 - 2023
Contexte	<p>Abritant de nombreuses espèces endémiques animales et végétales, la Nouvelle-Calédonie est aujourd'hui reconnue comme un hotspot de biodiversité. Haut lieu de cette endémicité et labellisée Ramsar en 2014, la Plaine des Lacs du Grand Sud calédonien en est le parfait exemple. Cette zone humide exceptionnelle recense bon nombre d'espèces micro-endémiques dont le Galaxias (<i>Galaxias neocaledonicus</i>). Ce petit poisson d'eau douce, emblématique de l'Île et pour lequel l'aire de distribution ne dépasse guère quelques dizaines de km², est aujourd'hui très fortement menacé.</p> <p>Malgré son statut d'espèce protégée et son classement « en danger d'extinction » par l'IUCN en 2011, il existe encore à l'heure actuelle une méconnaissance importante autour de cette espèce.</p>
Objectifs	L'objectif du présent projet est d' améliorer les connaissances sur l'aire de répartition du Galaxias (<i>Galaxias neocaledonicus</i>) et d'essayer d' apporter les premiers éléments de connectivité de ses populations sur différents cours d'eau/lacs dans la région de la Plaine des Lacs.
Résultats	<p>Les inventaires réalisés dans le cadre de ce projet ont permis de recenser 10 stations (sur les 63 prospectées) pour lesquelles la présence du Galaxias est confirmée.</p> <p>Les analyses génétiques ont révélé l'absence de flux de gènes entre certaines populations, traduisant l'isolement complet de ses populations les unes des autres et la réalisation d'un cycle de reproduction en vase clos.</p>

Remerciements

Nous tenons à remercier particulièrement la province Sud, Hélène Charpentier et Jean-Marc Mériot pour leur implication dans le projet et l'aide logistique apportée au sein du Parc Provincial de la Rivière Bleue.

Nous remercions également l'OFB et toute l'équipe Te Me Um pour leur compréhension et leur consentement à reporter d'un an le rendu du projet (en raison des conditions météorologiques) afin de mener à bien ce dernier.

Enfin, un grand merci à tous les bénévoles qui, de près ou de loin, ont participé au projet : Adélaïde, Clémence, Damien, Daniel, Emma, Mathias, Sabri, Serge, Théo et Valentin.

SOMMAIRE

I.	Contexte et enjeux	4
II.	Objectifs	5
III.	Matériel et méthodes	6
	1. Missions d'inventaire et échantillonnages	6
	2. Analyses moléculaires	8
	Le choix du marqueur	8
	Extraction de l'ADN	8
	Amplification, séquençage et alignement des séquences	8
	Analyse de la structuration spatiale des populations	9
IV.	Résultats	10
V.	Discussion et perspectives	16
VI.	Références bibliographiques	19

I. Contexte et enjeux

Abritant de nombreuses espèces endémiques animales et végétales, la Nouvelle-Calédonie est aujourd'hui reconnue comme un hotspot de biodiversité. Haut lieu de cette endémicité et labellisée Ramsar en 2014, la Plaine des Lacs du Grand Sud calédonien en est le parfait exemple. Cette zone humide exceptionnelle recense bon nombre d'espèces dont plusieurs endémiques, voire micro-endémiques, au territoire. C'est notamment le cas du Galaxias (*Galaxias neocaledonicus*) pour lequel l'aire de distribution ne dépasse guère quelques dizaines de km².

Cette espèce de poisson, emblématique de l'Île, est aujourd'hui très fortement menacée et a été classée « en danger d'extinction » par l'Union internationale pour la conservation de la nature (IUCN) en 2011.

Malgré son statut d'espèce protégée, il existe encore à l'heure actuelle plusieurs zones d'ombre autour du Galaxias. Bien que sa répartition semble se limiter à la Plaine des Lacs, seuls quelques « spots » sont connus pour héberger des Galaxias. Aucun inventaire n'a, à ce jour, été réalisé afin de définir plus précisément la répartition de cette espèce emblématique au sein de la Plaine des Lacs.

Auparavant, deux zones étaient connues pour abriter des populations de Galaxias ; le Parc Provincial de la Rivière Bleue et le secteur Rivière des Lacs/Lac en Huit/Grand Lac. Ces deux zones sont séparées d'une vingtaine de kilomètres par le Lac de Yaté.

Édifié en 1959, le barrage de Yaté forme un lac de plusieurs kilomètres de long. En inondant, sur une superficie d'environ 40km², une grande partie du bassin versant de la rivière Yaté, un très grand nombre d'habitats aquatiques ont été détruits. Cette disparition d'habitats a possiblement entraîné une importante fragmentation de la population « originelle » de Galaxias.

Cette possible fragmentation des populations s'est également amplifiée avec l'introduction de plusieurs espèces exotiques, devenues envahissantes par la suite, comme le Guppy (*Poecilia reticulata*), le Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) et surtout le Black-bass (*Micropterus salmoides*), redoutable prédateur originaire d'Amérique du Nord. Ce dernier a été introduit en 1960 dans le Lac de Yaté pour la pêche sportive. À ce jour, le Tilapia et le Black-bass font partie des 100 espèces exotiques envahissantes les plus néfastes à l'échelle mondiale.

Toutes ces pressions laissent donc penser que les populations actuelles de Galaxias sont isolées les unes des autres et que le brassage génétique entre ces différentes populations est fortement limité, ce qui pourrait avoir un impact conséquent, à plus ou moins long terme, sur la pérennité de l'espèce.

II. Objectifs

À travers cette étude, plusieurs questions ont été posées :

Quelle est la distribution actuelle du Galaxias dans la zone d'étude ?

Cette distribution est-elle fragmentée ?

Existe-t-il différentes populations ?

Sont-elles « connectées » entre elles et existe-t-il un brassage génétique entre ces populations ?

Existe-t-il des populations isolées, autres que celles connues actuellement, dans d'autres rivières autour de la Plaine des Lacs ?

Répondre à ces questions revêt d'une importance particulière. En effet, ces réponses apporteraient une base de travail nécessaire voire indispensable pour tout lancement de travaux liés à la mise en place d'un plan d'action Galaxias, ce dernier étant un objectif dans le cadre du Plan de Gestion Intégrée du site Ramsar.

Les objectifs visent donc à **améliorer les connaissances sur l'aire de répartition du Galaxias** et à donner les premiers éléments de **connectivité des populations** sur différents cours d'eau/lacs localisés dans la **région de la Plaine des Lacs**.

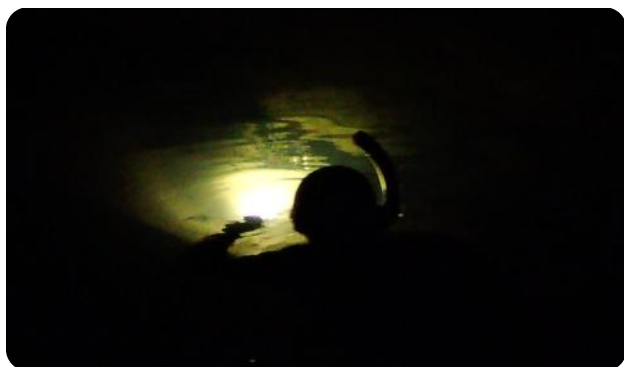
Ce rapport final fait état des résultats obtenus lors des différentes campagnes d'inventaires menées entre août 2021 et juillet 2023, ainsi que les résultats des analyses génétiques réalisées sur les échantillons collectés durant les campagnes d'échantillonnage.

III. Matériel et méthodes

1. Missions d'inventaire et échantillonnages

Les échantillonnages se sont déroulés entre août 2021 et juillet 2023. Ceux-ci ont été réalisés exclusivement en plongée au moyen d'un masque, d'un tuba et d'une épuisette. Les sessions en plongée ont été effectuées en grande majorité de nuit en raison du comportement plutôt nocturne du Galaxias (Figure 1). Certaines zones ont toutefois fait l'objet de prospections en journée.

FIGURE 1 : PHOTOGRAPHIES DES TYPES DE PROSPECTION RÉALISÉS.



Prospection de nuit en plongée

(© Valentin Dutertre - Vies d'Ô douce)

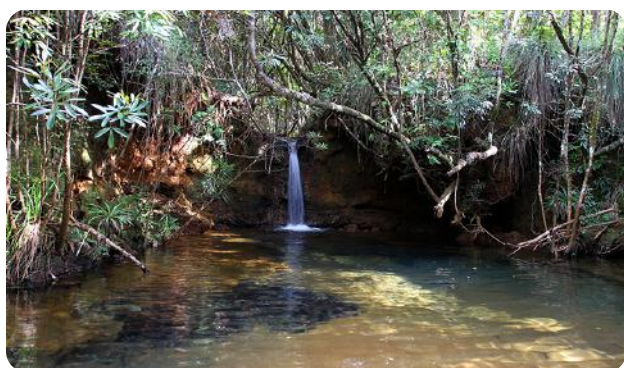


Galaxias in situ de nuit

(© Damien Brouste - Vies d'Ô douce)

Les milieux lotiques (creeks et rivières) ainsi que des milieux lenticques (marais et lacs) ont été échantillonnés (Figure 2).

FIGURE 2 : PHOTOGRAPHIES DE DIFFÉRENTS TYPES D'HABITATS PROSPECTÉS.



Affluent du creek Pernod

(© Nicolas Charpin - Vies d'Ô douce)



Lac en Huit

(© Nicolas Charpin - Vies d'Ô douce)

Sur chaque station, l'ensemble des espèces observées (anguilles, Black-bass, Galaxias, Guppy et Tilapia) ont été identifiées. Lorsque la présence du Galaxias était avérée, une dizaine de spécimens ont été capturés à l'aide d'une épuisette et placés dans un vivier. Des prélèvements de tissus ont ensuite été réalisés. Cette technique, non létale et indolore pour les individus, consiste à prélever un morceau de nageoire sur chaque spécimen capturé (le fragment prélevé repousse par la suite ; Figure 3). Chacun de ces prélèvements a été placé dans un tube étiqueté et fixé à

l'éthanol à 96°. L'ensemble des individus collectés ont ensuite été relâchés sur leur site de collecte.

FIGURE 3 : PHOTOGRAPHIES DE DIFFÉRENTS TYPES D'HABITATS PROSPECTÉS.



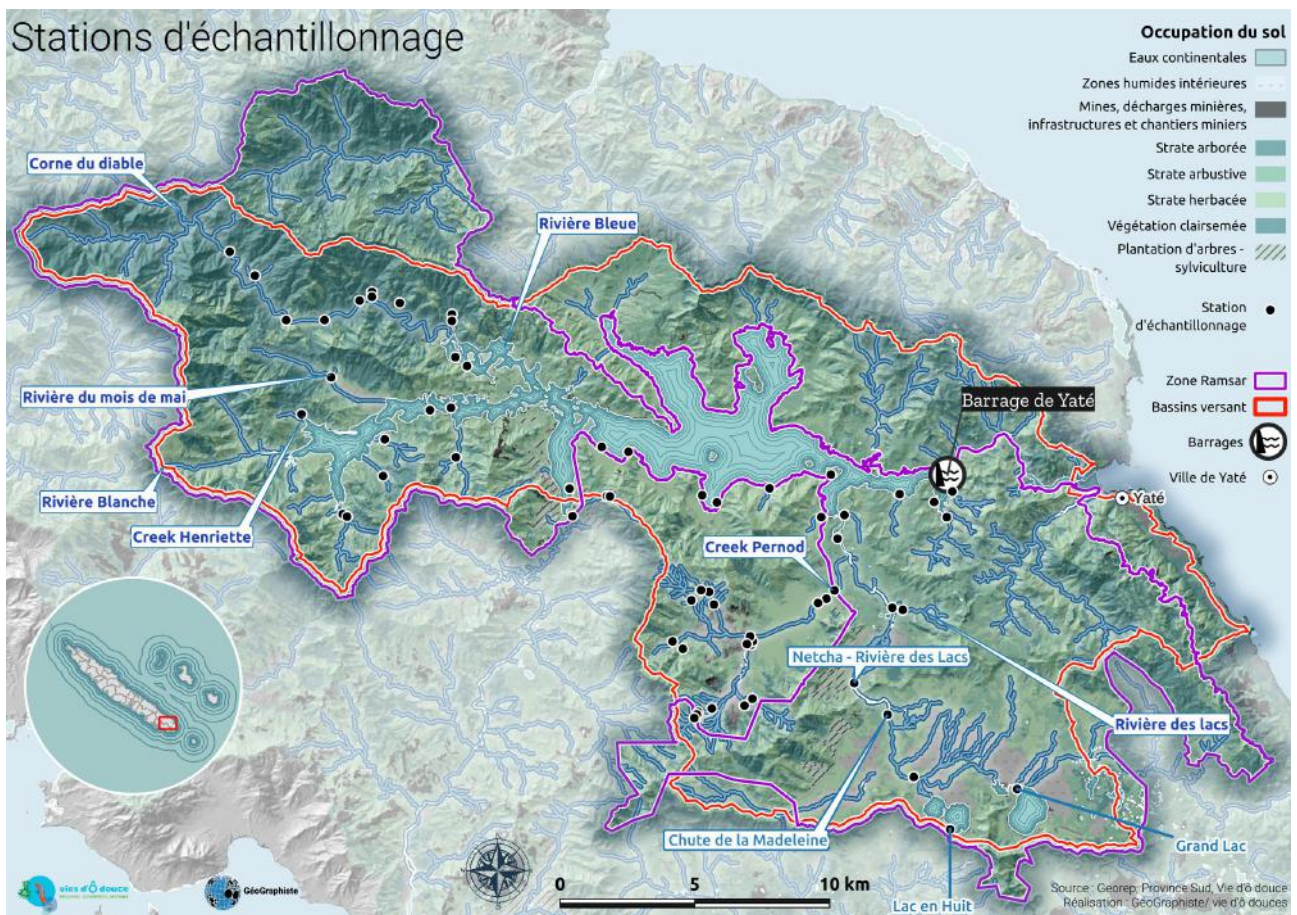
Prélèvements de tissus pour la génétique
(© Damien Brouste - Vies d'Ô douce)



Spécimens relâchés sur site
(© Damien Brouste - Vies d'Ô douce)

Au total, 63 sites ont fait l'objet d'une prospection durant cette étude (Carte 1).

CARTE 1 : LOCALISATION DES STATIONS ÉCHANTILLONNÉES AU COURS DU PROJET.



2. Analyses moléculaires

Le choix du marqueur

Le choix du marqueur moléculaire employé est important lors de la mise en place d'analyses génétiques. En effet, selon l'échelle à laquelle ces dernières doivent être réalisées (*i.e.*, celle de la famille, du genre ou de l'espèce, etc.), les marqueurs ne donneront pas la même information et/ou n'indiqueront pas les informations utiles/nécessaires à l'étude en question.

Les marqueurs mitochondriaux sont les plus largement utilisés en taxonomie moléculaire et en phylogéographie. Dans le cadre de la phylogénie, la phylogéographie et la génétique des populations chez les Téléostéens, sont couramment exploités les gènes mitochondriaux COI et Cytb.

En amont de la présente étude, un travail bibliographique s'est révélé nécessaire afin de s'assurer que des marqueurs moléculaires spécifiques au genre *Galaxias* étaient disponibles. Bien que des amorces aient été trouvées, celles-ci se sont avérées peu fiables pour le séquençage de l'espèce endémique présente en Nouvelle-Calédonie. De ce fait, 4 couples d'amorces ont été créés pour amplifier le gène COI et Cytb de *Galaxias neocaledonicus* : 3 couples pour le COI et un pour le Cytb. Après test, il a été établi que l'amplification de l'ADN était de meilleure qualité avec le couple amplifiant le **gène Cytb** (soit 489 pb). Le gène Cytb code pour la sous-unité principale transmembranaire des complexes du cytochrome bc1 et b6f de la chaîne respiratoire mitochondriale. De plus, il est connu pour être plus variable que le gène COI et par conséquent, plus utile pour observer la variabilité intraspécifique au sein d'une espèce (information ciblée pour cette étude).

Extraction de l'ADN

L'extraction d'ADN est réalisée à partir de fragments de nageoire d'environ 1 mm². Après avoir été séché, chaque fragment est déposé dans un puits d'une plaque de 96 puits. Les tissus sont ensuite digérés dans 20 mL de tampon de lyse (Lysis buffer) associé à 2,5 mL de protéinase K provenant du kit d'extraction NucleoSpin® 96 Tissue. Les échantillons sont alors placés dans une étuve à 57°C sous agitation pendant 12 à 24h. Après centrifugation, l'ADN est extrait grâce au robot Eppendorf epMotion 5075, semi-automatique. Ce dernier se fixe à une membrane de silicate chargée positivement et les produits de la lyse cellulaire sont filtrés trois fois par aspiration avec un tampon à base d'éthanol, afin d'éliminer les impuretés et les restes de débris cellulaires. Les traces d'éthanol sont éliminées lors du séchage de la plaque par aspiration. Pour finir, l'ADN est élué par ajout de tampon Tris-HCl et est conservé à -20°C.

Amplification, séquençage et alignement des séquences

L'amplification par PCR (Polymerase Chain Reaction) a pour objectif de sélectionner une zone précise du génome à partir d'amorces spécifiques, permettant ainsi d'obtenir une grande quantité de fragments d'ADN correspondant à cette zone. Les amorces utilisées pour le gène Cytb et créées spécifiquement dans le cadre de cette étude sont les suivantes :

Cytb-Gal-F1 5'- GACGCCGAYAARATYTTCTTTCCACCC -3' et Cytb-Gal-R1 5'- GCTAAGCTACTAGGGCATGCTCATTCAAG -3'.

Les PCR sont réalisées dans un volume total de 20 µL avec 2 µL de tampon, 1 µL de DMSO (DiMéthyl SulfOxyde), 1 µL de BSA (Sérum d'Albumine Bovine), 0,8 µL d'un mélange dNTP (DésoxyNucléotide TriPhosphate), 0,32 µL de chaque amorce forward et reverse, 0,06 µL de TAQ (ADN polymérase recombinante, Qiagen). Le volume restant est constitué d'eau.

L'amplification de l'ADN se fait à l'aide d'un thermocycleur (Bio-Rad C1000 Touch Thermal Cycler). Le programme de PCR est constitué de plusieurs étapes :

1. Dénaturation initiale (2 min à 94°C), suivie de 50 cycles comprenant les étapes 2, 3 et 4 ;
2. Dénaturation (25 s à 94°C) ;
3. Hybridation des amorces (25 s à 53°C) ;
4. Elongation (55 s à 72°C) ;
5. Elongation terminale (2 min à 72°C).

Une électrophorèse sur gel d'agarose (40 mL de TAE (Tris-acetate-EDTA), 0,8 g d'agarose ; 0,8 µL de Bet (un agent intercalant de l'ADN : Bromure d'Ethydium)) est réalisée afin de visualiser les produits de la PCR. La migration par électrophorèse permet de séparer les amplifiés et de contrôler leur taille et leur qualité grâce aux UV, qui révèlent la présence du Bet.

Les produits de PCR du gène *Cytb* sont ensuite envoyés à Eurofins MWG Operon (Allemagne). Ces derniers y sont séquencés dans les deux sens à l'aide des amorces *forward* et *reverse* qui leur sont fournis.

Les séquences sont nettoyées manuellement à l'aide du logiciel *Geneious* 11.1.2 (Kearse *et al.*, 2012) puis alignées avec *Muscle Alignment* (implémenté dans *Geneious*).

Analyse de la structuration spatiale des populations

Les indices de diversité

Pour réaliser l'analyse de la structure spatiale des populations, un certain nombre d'indices de diversités sont calculés.

Pour chaque localité, les indices de diversité suivants ont été estimés grâce au logiciel *DNAsp* v5.1 (Librado & Rozas 2009) :

- N : nombre de séquences utilisées,
- h : nombre d'haplotypes *i.e.*, séquences polymorphes uniques qui peuvent être partagées ou non par plusieurs individus,
- Hd : diversité haplotypique *i.e.*, probabilité que deux séquences tirées au hasard et sans remise dans l'échantillon soient différentes. La valeur maximale étant de 1, ce qui indiquerait une très forte variabilité génétique au sein d'une population.

Les réseaux d'haplotypes

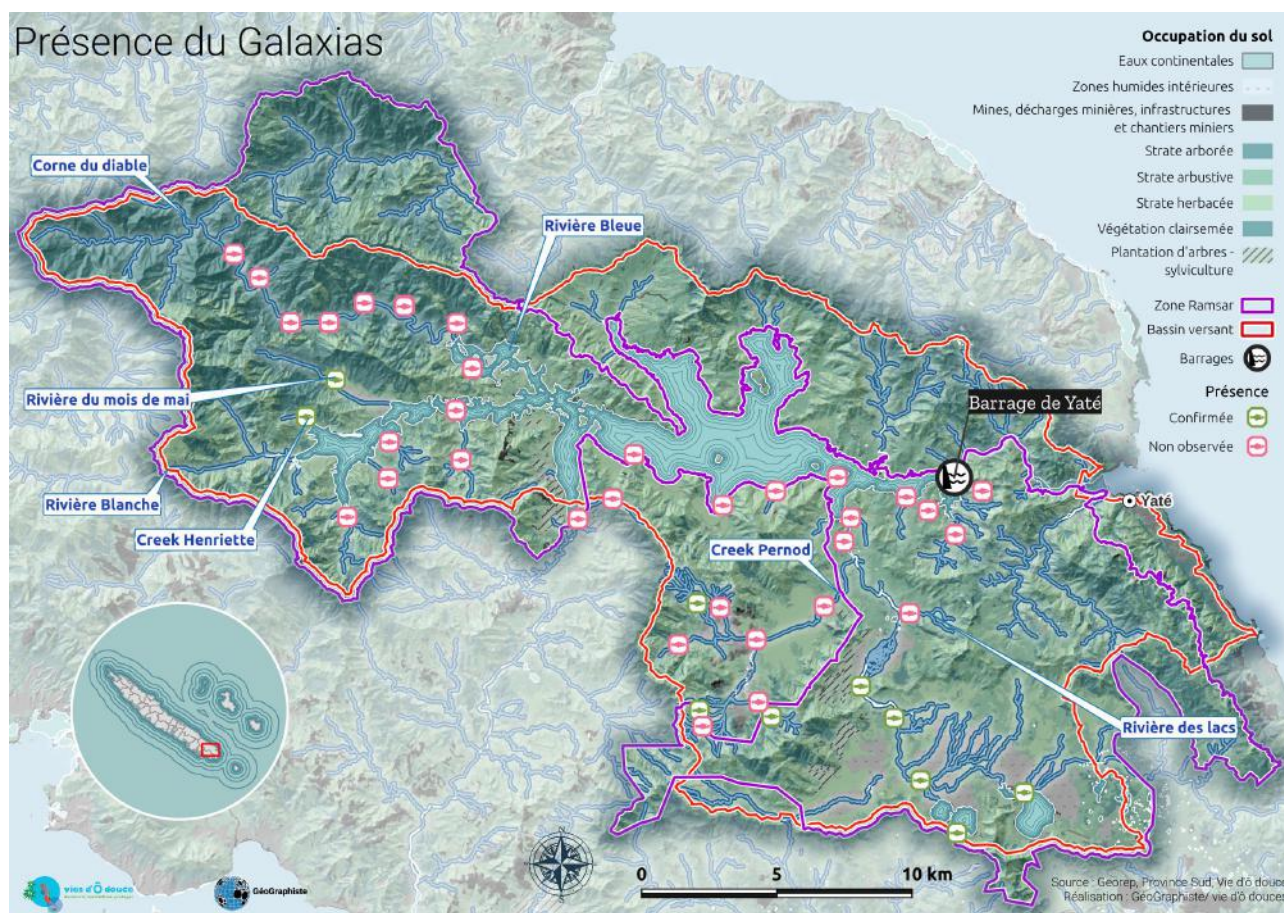
Ce type de réseau reflète mieux la structure du réseau généalogique au sein d'une espèce que les arbres phylogénétiques (Excoffier & Smouse 1994, Bandelt *et al.*, 1999) et tient mieux compte des relations entre les haplotypes récents et ancestraux qui peuvent coexister au sein d'une population d'une même espèce. De plus, les réseaux d'haplotypes permettent de bien visualiser les relations généalogiques entre les différents haplotypes et leur distribution géographique ; c'est pourquoi sont recherchés les haplotypes partagés par plusieurs individus.

La recherche des haplotypes partagés a été effectuée avec le logiciel *DNAsp* v5.1 (Librado & Rozas 2009). Le réseau d'haplotypes est ensuite conçu dans le logiciel *Network* v5 par la méthode du Median-Joining (Bandelt *et al.*, 1999) afin de déterminer comment sont répartis les haplotypes dans le jeu de données et donc en fonction des localités.

IV. Résultats

Au total, 63 stations ont été prospectées dans différents bassins versants se jetant dans le Lac Yaté ainsi qu'au niveau de la Plaine des Lacs. Malgré cet effort d'échantillonnage, seules 10 stations présentaient des individus de l'espèce *Galaxias neocaledonicus* (Carte 2).

CARTE 2 : STATIONS ÉCHANTILLONNÉES AVEC PRÉSENCE/ABSENCE DU GALAXIAS.



Il est important de préciser qu'en raison de conditions météorologiques exceptionnelles (records de précipitations dus au phénomène climatique « La Niña ») en 2021 et 2022, notamment au niveau de la zone d'étude, les campagnes de terrain ont été très fortement impactées (Figure 4 ; Figure 5). En effet, les épisodes pluvieux à répétition, l'intensité des crues et les niveaux d'eau élevés dans les rivières et les lacs au cours de ces deux dernières années n'ont pas permis de mener dans le temps imparti l'ensemble des prospections terrain prévues initialement. C'est pourquoi, la « partie Nord » du Lac de Yaté n'a pu être prospectée, notamment en raison des difficultés d'accès.

FIGURE 4 : CLASSEMENT DES ANNÉES DE 1970 À 2022 SUR LA BASE DES CUMULS ANNUELS DE PRÉCIPITATIONS SUR LA NOUVELLE-CALÉDONIE (SOURCE : MÉTÉO-FRANCE NOUVELLE-CALÉDONIE).

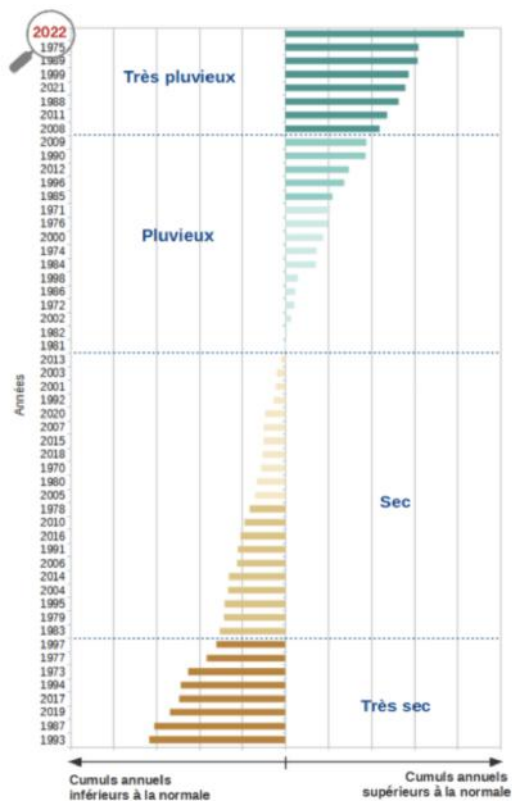
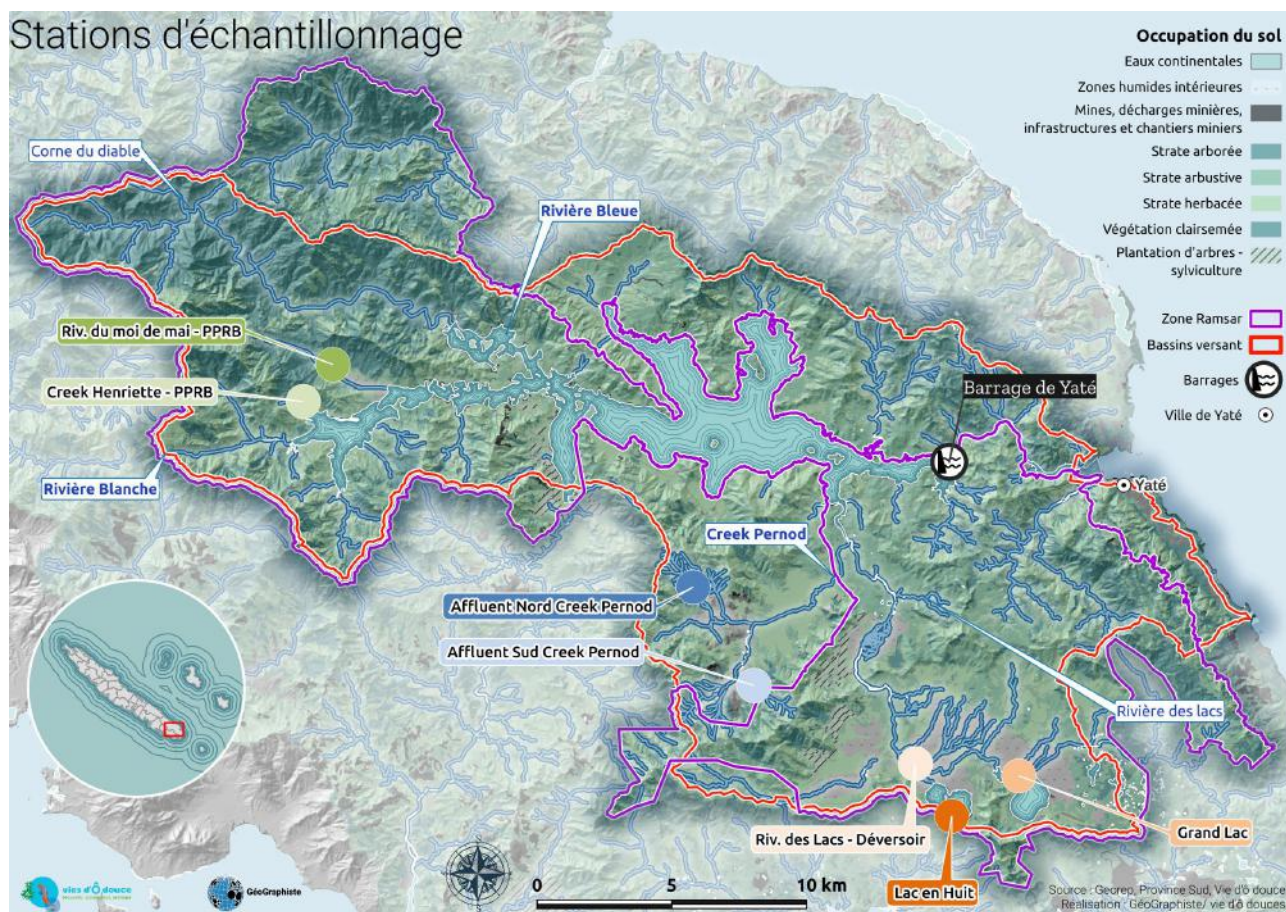


FIGURE 5 : CUMULS ANNUELS DE PRÉCIPITATIONS SUR LA NOUVELLE-CALÉDONIE EN 2022 (SOURCE : MÉTÉO-FRANCE NOUVELLE-CALÉDONIE). CERCLE ROUGE = ZONE D'ÉTUDE.



En raison de ces contraintes météorologiques, l'ensemble des stations prospectées n'ont pu l'être avant la date limite nécessaire pour mener à bien les analyses génétiques avant la fin du projet (fin janvier 2023). En effet, à cette date, uniquement 34 stations sur les 63 inventoriées au total avaient pu être prospectées. C'est pourquoi, seuls les individus de 7 stations (sur les 10 présentant des *Galaxias*) ont pu faire l'objet d'analyses moléculaires (Carte 3).

CARTE 3 : RÉPARTITION DES 7 STATIONS DANS LESQUELLES LE GALAXIAS EST PRÉSENT.



Sur les 7 stations « positives » ayant pu être étudiées, 73 spécimens de *Galaxias neocaledonicus* ont été capturés et ont fait l'objet de prélèvements. Afin de faciliter l'interprétation des résultats, les stations ont été réparties selon 3 zones (Tableau 1).

La première zone regroupe la rivière du mois de Mai et le creek Henriette (partie ouest du Lac de Yaté), la seconde se situe dans le bassin versant du Creek Pernod avec ses affluents nord et sud et la troisième englobe la rivière des Lacs (au niveau du déversoir), le Grand Lac et le Lac en Huit.

TABLEAU 1 : LIEUX DE COLLECTE DES 73 SPÉCIMENS DE *G. NEOCALEDONICUS* ÉCHANTILLONNÉS ET INDICATION SUR L'OBTENTION DU GÈNE CYTB. LES LIGNES GRISÉES PRÉSENTENT LES STATIONS ÉCHANTILLONNÉES POUR LESQUELLES AUCUN GALAXIAS N'A ÉTÉ OBSERVÉ.

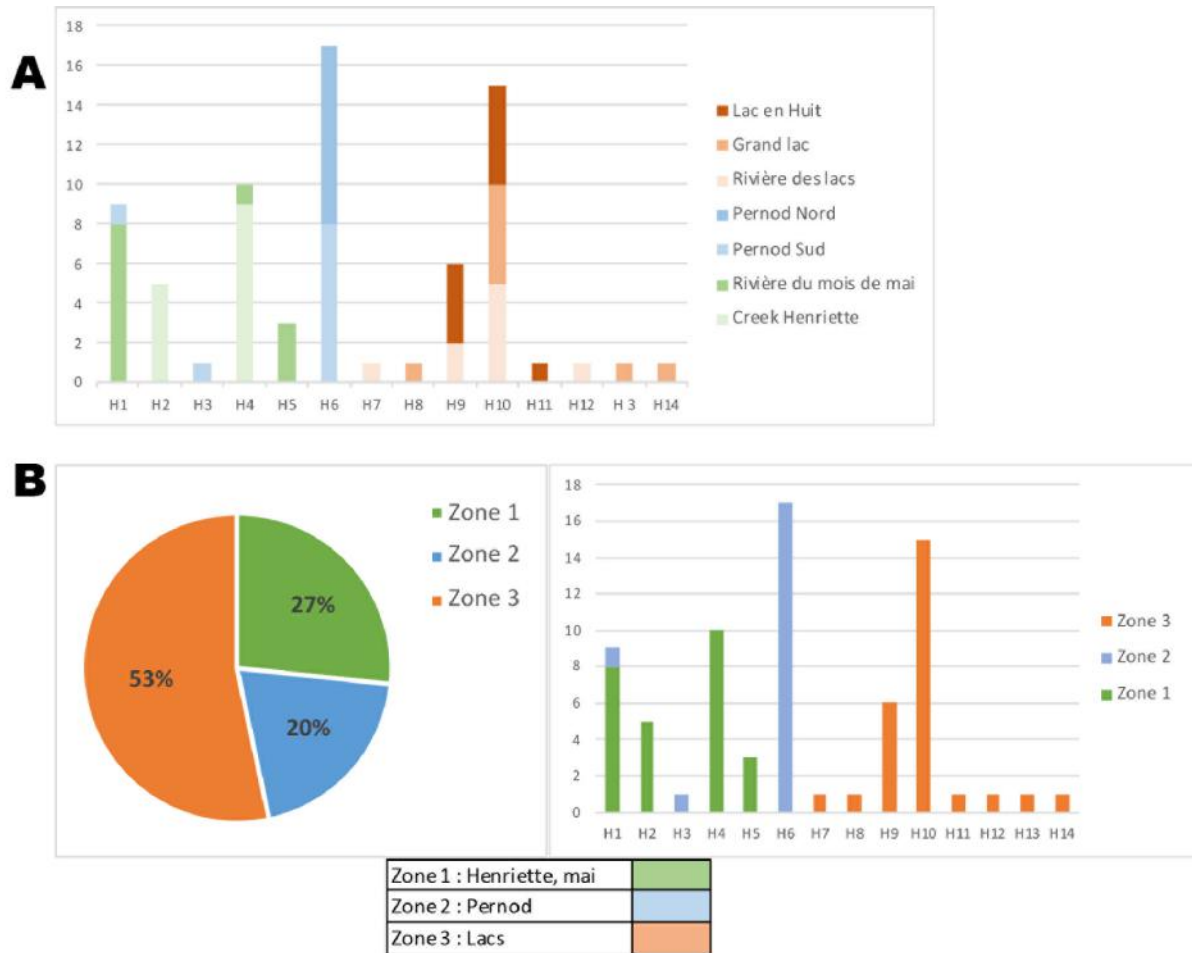
Stations	Zone	Latitude	Longitude	Date de capture	Nb spécimens échantillonnés	Cytb	
Rivière du mois de Mai	1	22° 7.212'S	166° 39.568'E	23/11/2021	12	12	
Creek Henriette		22° 7.957'S	166° 38.931'E	24/11/2021	14	14	
Affluent Sud Creek Pernod	2	22° 13.761'S	166° 48.522'E	09/01/2023	10	10	
Affluent Nord Creek Pernod		22° 11.654'S	166° 47.368'E	13/01/2023	10	9	
Rivière des Lacs - Deversoir	3	22° 15.178'S	166° 52.191'E	22/08/2021	9	9	
Grand Lac		22° 15.410'S	166° 54.426'E	05/11/2021	8	8	
Lac en Huit		22° 16.226'S	166° 52.980'E	11/01/2023	10	10	
Rivière Bleue - Pont Germain	1	22° 6.063'S	166° 39.419'E	23/11/2021	0		
Rivière Bleue		22° 6.067'S	166° 38.591'E	23/11/2021	0		
Creek		22° 8.808'S	166° 42.268'E	23/11/2021	0		
Creek électrique		22° 9.958'S	166° 39.830'E	24/11/2021	0		
Creek affluent creek		22° 10.006'S	166° 39.924'E	24/11/2021	0		
Creek "locomotive"		22° 9.187'S	166° 40.696'E	24/11/2021	0		
Creek « pont des marais »		22° 8.454'S	166° 40.726'E	24/11/2021	0		
Affluent Rivière Bleue		22° 5.935'S	166° 42.168'E	14/01/2023	0		
Affluent Rivière Bleue		22° 6.069'S	166° 42.167'E	14/01/2023	0		
Affluent Rivière Bleue		22° 5.712'S	166° 41.039'E	14/01/2023	0		
Affluent Rivière Bleue		22° 5.494'S	166° 40.441'E	14/01/2023	0		
Affluent Rivière Bleue		22° 5.591'S	166° 40.438'E	14/01/2023	0		
Affluent Rivière Bleue		22° 5.669'S	166° 40.174'E	14/01/2023	0		
Creek « Bois du Sud »		1-2	22° 9.569'S	166° 45.533'E	10/01/2023	0	
Creek « Bois du Sud »			22° 9.574'S	166° 45.596'E	10/01/2023	0	
Creek affluent creek Pernod	2	22° 12.542'S	166° 48.667'E	26/11/2022	0		
Creek affluent creek Pernod		22° 12.472'S	166° 48.693'E	26/11/2022	0		
Creek Pernod		22° 12.375'S	166° 48.637'E	26/11/2022	0		
Marais Creek Pernod		22° 12.529'S	166° 48.571'E	26/11/2022	0		
Creek Pernod		22° 11.443'S	166° 50.457'E	05/01/2023	0		
Creek Pernod		22° 11.610'S	166° 50.283'E	05/01/2023	0		
Creek Pernod		22° 11.697'S	166° 50.100'E	05/01/2023	0		
Affluent Sud Creek Pernod		22° 13.623'S	166° 48.693'E	09/01/2023	0		
Affluent Nord Creek Pernod		22° 11.485'S	166° 47.748'E	13/01/2023	0		
Affluent Nord Creek Pernod		22° 11.450'S	166° 47.574'E	13/01/2023	0		
Affluent Nord Creek Pernod	22° 11.738'S	166° 47.856'E	13/01/2023	0			
Creek affluent Riv. des Lacs	3	22° 11.826'S	166° 51.933'E	10/01/2023	0		

Sur les 73 individus collectés et utilisés pour analyse moléculaire, **72** ont pu être séquencés pour le gène Cytb.

Une diversité haplotypique (Hd) de 0.86 est notée au sein du jeu de données ce qui correspond au signal d'une population à croissance rapide issue d'une **population ancestrale à faible effectif**.

Sur les 72 séquences du gène Cytb obtenues, un total de **14 haplotypes** (nommés H1 à H14) a été identifié dont **7 sont uniques** (i.e., haplotype représenté par un seul individu ; H3, H7, H8, H11, H12, H13, H14) (Figure 6).

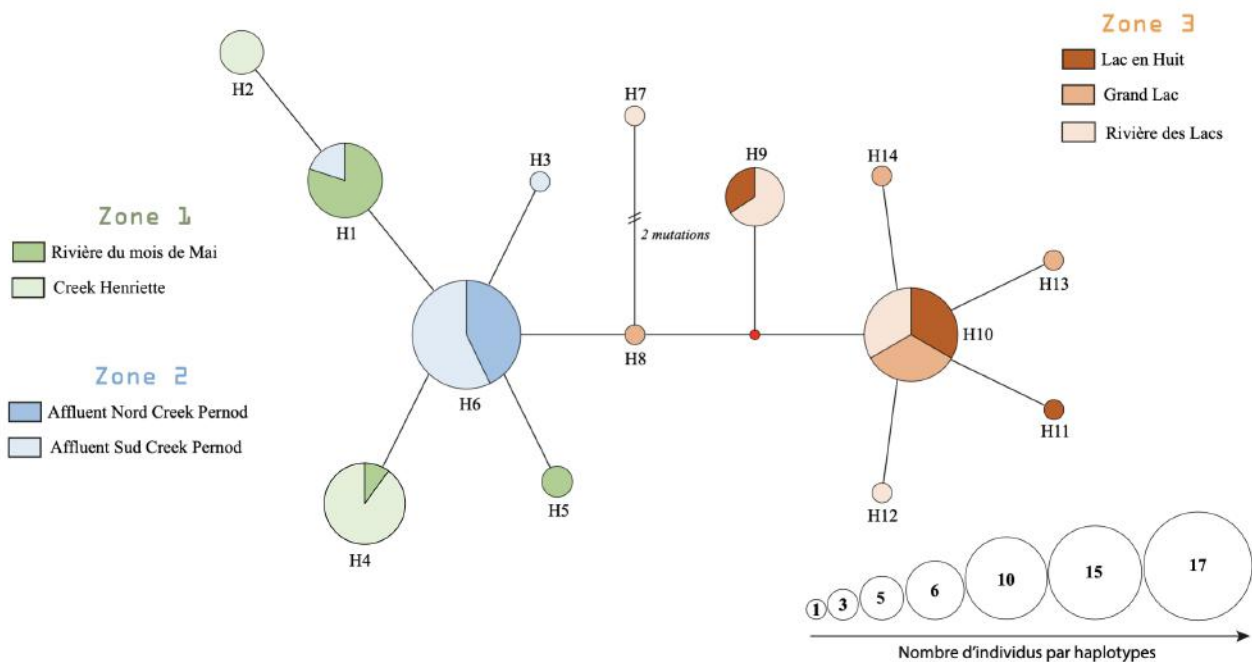
FIGURE 6 : A- RÉPARTITION DU NOMBRE DE SPÉCIMENS DE *G. NEOCALEDONICUS* ÉCHANTILLONNÉS DANS LES 7 STATIONS EN FONCTION DES 14 HAPLOTYPES OBSERVÉS, B- LA MÊME RÉPARTITION EST PRÉSENTÉE DE DEUX MANIÈRES DIFFÉRENTES EN FONCTION DES 3 ZONES DÉFINIES DANS LE TABLEAU 1.



Deux haplotypes majeurs sont observés (Figure 6, Figure 7) : l’haplotype **H6** qui est uniquement présent dans les affluents nord et sud du Creek Pernod [**Zone 2**] et l’haplotype **H10** qui est partagé équitablement entre le Lac en Huit, le Grand Lac et la rivière des Lacs [**Zone 3**].

Un seul haplotype est partagé entre deux zones. Il s’agit de l’haplotype **H1** qui est majoritairement composé de spécimens provenant de la rivière du mois de Mai (N=8) [**Zone 1**] ainsi que d’un individu collecté dans l’affluent sud du Creek Pernod [**Zone 2**] (Figure 6, Figure 7). De plus, il est important de noter que l’ensemble des haplotypes provenant de la **Zone 1** sont connectés à l’haplotype majeur **H6** de la **Zone 2** ; indiquant ainsi que, par le passé, ces deux zones étaient connectées (Figure 7).

FIGURE 7 : RÉSEAU D'HAPLOTYPES DES POPULATIONS DE *G. NEOCALEDONICUS* EN FONCTION DES 7 STATIONS ÉCHANTILLONNÉES ET DES 3 ZONES. EN GUISE D'ÉCHELLE, EST INDIQUÉ LE NOMBRE DE SPÉCIMENS PRÉSENTANT LE MÊME HAPLOTYPE.



Le restant des haplotypes obtenus (H2 à H14) est inféodé à l'une des trois zones définies, indiquant ainsi que **chacune de ces trois zones présentent des populations de *Galaxias* qui leur sont propres** (Figure 6-B).

La **Zone 3** est celle qui présente le plus d'haplotypes. Celle-ci détient 53% du jeu de données contre respectivement 27% et 20% pour les **Zone 1** et **Zone 2** (Figure 6). De plus, elle possède ses propres haplotypes de H7 à H14 (N=8) dont 6 uniques, traduisant une forte diversité génétique mais singulière. La visualisation sous forme de réseau d'haplotypes (Figure 7) permet de mettre en évidence que la **Zone 3 n'a plus aucun lien avec les deux autres zones** (*i.e.*, absence d'haplotypes partagés). De plus, il semblerait que l'haplotype **H10** soit à l'origine de la différenciation des autres haplotypes et donc de l'évolution génétique de la population présente dans la **Zone 3**.

V. Discussion et perspectives

La Plaine des Lacs du Grand Sud calédonien, labellisée Ramsar en 2014, est reconnue comme étant une zone humide abritant de nombreuses espèces endémiques, voire même micro-endémiques à cette région telles que *Galaxias neocaledonicus*. Cette dernière a subi une régression importante ces 30 dernières années. De nombreux sites, connus historiquement pour abriter l'espèce emblématique *G. neocaledonicus*, sont aujourd'hui dépourvus de celle-ci.

En 2002, Keith alertait sur le statut de *Galaxias neocaledonicus* puis, dans l'Atlas des poissons et des crustacés d'eau douce de Nouvelle-Calédonie, Marquet *et al.* (2003) constataient que l'espèce avait disparu de plusieurs sites en raison de l'introduction dans son milieu de l'espèce exotique envahissante *Micropterus salmoides* (Black-bass) qui s'en nourrit. En 2011, l'espèce *G. neocaledonicus* a été classée en danger d'extinction (EN) par l'IUCN. Néanmoins, **aucune mesure n'ayant été mise en place pour endiguer sa régression, la situation de cette espèce continue de se dégrader avec le temps. Sa disparition est certaine si aucune action n'est entreprise rapidement.**

L'un des objectifs de cette étude était donc de réaliser un inventaire le plus exhaustif possible autour de la Plaine des Lacs, afin d'affiner l'aire de répartition du *Galaxias* et de rechercher d'éventuelles nouvelles populations de cette espèce. C'est dans ce but que **le Creek Pernod** a lui aussi été prospecté, bien que celui-ci ne soit pas inclus dans le périmètre Ramsar (Carte 4). Au vu des résultats, il est important de constater que, si aucune collecte n'avait été faite dans les affluents du Creek Pernod, les résultats seraient incomplets. En effet, comme expliqué précédemment, les **Zone 1** et **Zone 2** partagent un **patrimoine génétique commun**, illustrant une connexion qui existait par le passé. Ce **patrimoine génétique est de première importance pour la sauvegarde de l'espèce.**

CARTE 4 : LOCALISATION GÉNÉRALE DE L'AIRE D'ÉTUDE DONT LA PLAINE DES LACS DU GRAND SUD, INCLUSE DANS LE PÉRIMÈTRE RAMSAR.



Sur 63 stations prospectées, seules 10 présentaient des populations de Galaxias cependant, les différents stades de vie (adulte, juvénile et alevin) n'étaient pas présents de manière homogène. Dans la **Zone 3**, les 3 stades de vie ont pu être observés en quantité importante sur la partie amont (i.e., Lac en Huit et Grand Lac) tandis que ceux-ci étaient en moindre abondance au niveau de la rivière des Lacs (Netcha, Chute de la Madeleine, Déversoir). En dehors de cette **Zone 3**, l'espèce n'est plus présente que dans des secteurs très réduits, se retranchant en fond de vallée (tête de bassin versant). Sur chacune des stations abritant des populations de Galaxias a été notée la présence d'au moins une espèce exotique envahissante (EEE). De ce fait, aucune des populations de Galaxias recensées n'est, à l'heure actuelle, exempte d'EEEs (Guppy *P. reticulata* et/ou Tilapia *O. mossambicus*) au sein de son habitat. Une troisième EEE, le Black-bass *M. salmoides*, a également été observée sur plusieurs des stations inventoriées. Toutefois, en présence de celle-ci, aucun individu de l'espèce *G. neocaledonicus* n'a été relevé. Certains de ces sites, auparavant connus pour abriter des populations de Galaxias, en sont aujourd'hui dépourvus.

L'introduction d'espèces prédatrices, telles que le Black-bass pour la pêche sportive (1960), semble donc avoir un impact non négligeable sur la présence du Galaxias et la fragmentation de ses populations au sein de la Plaine des Lacs du Grand Sud. L'influence de la construction du barrage de Yaté (1959) en tant que tel n'est pas connu. La présence du Guppy, espèce omnivore, paraît avoir également un impact sur les populations de Galaxias. En effet, en présence du Guppy, une faible abondance voire, dans certains cas, l'absence d'alevins de l'espèce micro-endémique a été constatée sur certaines des stations localisées dans les **Zone 1** et **Zone 2**.

Ainsi, les populations de Galaxias font face à divers obstacles d'ordre trophique, avec des prédateurs à différentes échelles : i- au sein des rivières, avec les Guppy qui sembleraient avoir un impact sur le taux de survie des oeufs et des alevins et, ii- au niveau des confluences avec le Lac de Yaté, où le Black-bass se nourrit d'adultes qui pourraient potentiellement coloniser de nouveaux cours d'eau. Ceci s'illustre parfaitement avec le réseau d'haplotypes dans lequel :

1. Aucun haplotype de la **Zone 3** n'est partagé avec les deux autres zones car, en plus des obstacles trophiques énoncés précédemment, les Chutes de la Madeleine constituent une barrière physique ne laissant passer les Galaxias que dans le sens amont-aval. Sauf conditions exceptionnelles, la colonisation du « Lac de Yaté » vers la **Zone 3** semble quasi-impossible. Cette dernière se retrouve donc isolée et une invasion massive de Guppy et/ou de Black-bass serait catastrophique pour cette population.
2. Le partage d'un haplotype entre la **Zone 1** et la **Zone 2** est signe qu'il y avait auparavant des migrations et des échanges entre les deux zones et ce, par le Lac de Yaté, unique zone permettant aux individus de coloniser les autres affluents. Cependant, cette colonisation n'est plus possible de par la présence des Black-bass.

Les trois populations de Galaxias mises en évidence dans cette étude se retrouvent complètement isolées les unes des autres et effectuent, par conséquent, leur reproduction en vase clos (absence de flux de gènes entre les populations). C'est pourquoi si ces populations continuent à subir les pressions actuelles sur un ou plusieurs de leurs stades de vie, ou si d'autres venaient à s'ajouter, la probabilité que celles-ci disparaissent est certaine. C'est notamment le cas de la population initialement présente dans la rivière du Mois de Mai, localisée au sein du Parc Provincial de la Rivière Bleue. Cette population, étudiée au cours de la présente étude, représentait jusqu'à il y a peu le plus gros peuplement connu au sein du Parc. Lors de prospections de terrain réalisées en juillet dernier dans ce secteur, a été constatée une invasion importante de Black-bass dans la rivière, jusqu'alors exempte de cette espèce prédatrice. À l'heure de la rédaction de ce rapport, des actions d'éradication du Black-bass sont en cours. Néanmoins, les recherches pour retrouver d'éventuels individus de Galaxias restent vaines, la colonisation du Black-bass dans la rivière du Mois de Mai semblant avoir totalement décimé la population de ce cours d'eau en très peu de temps.

Rappelons ici que l'espèce *Galaxias neocaledonicus* est classée « **en danger d'extinction** » par l'IUCN ; il est donc primordial d'alerter les autorités locales et environnementales sur la situation actuelle des populations de l'espèce et de prendre des mesures urgentes pour supprimer, ou du moins, limiter les pressions sur celle-ci. Cette étude met en évidence que le **Creek Pernod possède sa propre population de Galaxias**, qui possède un patrimoine génétique ancien unique et précieux. Il semblerait donc judicieux d'inclure le Creek Pernod dans le périmètre Ramsar afin de pouvoir préserver la population qui y est présente.

En résumé, sur 63 stations échantillonnées, **moins de 16% d'entre elles abritaient des individus de *Galaxias neocaledonicus***. Cette espèce micro-endémique de la Plaine des Lacs du Grand Sud calédonien est **fragmentée en 3 populations** distinctes (*i.e.*, qui ne communiquent plus entre elles) et présentes dans **3 zones différentes** ; une première zone située dans le Parc Provincial de la Rivière Bleue, une seconde dans la Réserve Technique du Creek Pernod (zone amenée à être exploitée par les mines pour le nickel) et une troisième dans la Plaine des Lacs (Lac en Huit, Grand Lac, Rivière des Lacs). Cette fragmentation **semble fortement liée à l'apparition massive d'espèces introduites** par l'Homme, à la suite de la construction du barrage en 1959. La situation n'a fait que se dégrader depuis les premières études des années 2000. Malgré le classement de l'espèce sous statut de protection en province Sud (2009), son classement EN par l'IUCN (2011) et son immense valeur patrimoniale et emblématique de la Nouvelle-Calédonie, aucune mesure n'a semble-t-il encore été réalisée. Il devient plus qu'urgent d'agir.

Une prise de conscience quant à la diminution drastique des stocks de *Galaxias neocaledonicus*, **unique espèce de ce genre en Nouvelle-Calédonie** et seule espèce du genre présente en région tropicale, est impérative. Si aucune mesure n'est prise concernant la gestion des EEEs et la préservation des zones humides (*cf.* Creek Pernod), *G. neocaledonicus* sera vouée à être très rapidement classée au stade d'espèce « en danger critique d'extinction » sur la liste de l'IUCN, voire même à s'éteindre définitivement.

Il est donc urgent de :

1. Finaliser de cartographier toutes les zones et linéaires où l'espèce est encore présente afin de localiser toutes les populations résiduelles,
2. Prendre des mesures locales immédiates de surveillance, de protection des périmètres et d'éradiquer, sur certains secteurs, les EEEs lorsque cela est possible (au minimum dans les petits creeks),
3. Poursuivre et finaliser les études génétiques pour localiser les populations puits/sources éventuelles les plus isolées, leur évolution, identifier le patrimoine génétique en présence, etc.,
4. Proposer des mesures techniques et/ou réglementaires de gestion/protection sur tous les secteurs où l'espèce est présente, y compris dans les zones non actuellement protégées.

VI. Références bibliographiques

Bandelt H.J., Forster P., Rohl A., 1999. – Median-Joining network for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology Evolution*, 16: 37-48.

Excoffier L. & Smouse P.E., 1994. – Using allele frequencies and geographic subdivision to reconstruct gene trees within a species: molecular variance parsimony. *Genetics*, 136: 343-359.

Kearse M., Moir R., Wilson A., Stones-Havas S., et al., 2012. – Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, 28: 1647-1649.

Librado P. & Rozas J., 2009. – Dnasp v5: software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25: 1451.

Keith P., 2002. – Threatened fishes of the world: *Galaxias neocaledonicus* (Weber and de Beaufort 1913) (Galaxiidae). *Environmental Biology of Fishes*, 63: 26.

Marquet G., Keith P., & Vigneux E. 2003. – Atlas des poissons et crustacés d'eau douce de la Nouvelle-Calédonie. Collection Patrimoines naturels, MNHN, Vol. 58, Paris, 282p.