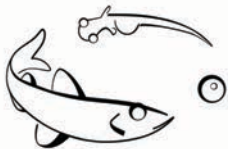


Chaire de recherche
sur les espèces
aquatiques exploitées

Caractérisation de la distribution et de la structure des communautés de poissons du fjord du Saguenay par metabarcoding

Marianne Tremblay, Olivier Morissette et Pascal Sirois



UQAC

**Chaire de recherche sur les espèces
aquatiques exploitées (CREAE)**
Université du Québec à Chicoutimi

Référence à citer :

Tremblay, M., Morissette, O. et Sirois, P. (2026). Caractérisation de la distribution et de la structure des communautés de poissons du fjord du Saguenay par metabarcoding. Chaire de recherche sur les espèces aquatiques exploitées. Université du Québec à Chicoutimi.

Rapport de recherche

Chaire de recherche
sur les espèces
aquatiques exploitées

Université du Québec à Chicoutimi

**Caractérisation de la distribution et de la structure des communautés de
poissons du fjord du Saguenay par metabarcoding**

Marianne Tremblay, Olivier Morissette et Pascal Sirois

En partenariat avec :



Département des sciences fondamentales
Université du Québec à Chicoutimi
555, boulevard de l'Université, Chicoutimi, Québec, G7H 2B1

AVANT-PROPOS

Cette première analyse par metabarcoding de l'ADN environnemental a été menée par Marianne Tremblay dans le cadre du projet de fin d'étude du programme de baccalauréat en Biologie de l'Université du Québec à Chicoutimi (UQAC).

Le projet s'inscrit dans le cadre des activités du Groupe de recherche sur l'écosystème du fjord du Saguenay (GREFS). Les travaux du GREFS sont financés par l'Administration Portuaire du Saguenay, Rio Tinto Aluminium, Promotion Saguenay et le projet « Enviro-Actions-zone portuaire Saguenay » par l'intermédiaire de l'Institut nordique de recherche en environnement et en santé au travail (INREST), gestionnaire du GREFS. Le projet « Enviro-Actions-zone portuaire Saguenay » a été rendu possible grâce au soutien financier du ministère des Transports du Québec dans le cadre d'Avantage Saint-Laurent, la nouvelle vision maritime du Québec ainsi que du Port de Saguenay, Rio Tinto Aluminium et Promotion Saguenay. Ce projet est réalisé avec la collaboration scientifique de ULAVAL, de l'UQAC et de l'INREST.

REMERCIEMENTS

Je tiens d'abord à remercier sincèrement Olivier Morissette pour son support constant lors de la réalisation de ce projet et d'avoir répondu à mes nombreuses questions. Merci, également, à Pascal Sirois pour ses précieux conseils et de m'avoir accepté au sein de son équipe dès le début de mon baccalauréat. Je tiens aussi à les remercier pour leur confiance qu'ils m'ont accordée avec ce projet, et les nouvelles connaissances que j'ai pu acquérir. Je tiens également à remercier toute l'équipe de la Chaire de recherche des espèces aquatiques exploitées de l'Université du Québec à Chicoutimi pour leurs contributions diverses. Un merci tout spécial à ma famille, mes amies et Thomas pour le soutien moral, la patience et les encouragements.

Je remercie aussi les partenaires financiers et opérationnels de ce projet : le ministère de l'Environnement, Lutte contre les Changements Climatiques, Faune et Parcs (MELCCFP) du Québec, l'Institut de Biologie Intégrative et des Systèmes (IBIS) de l'Université Laval, le parc marin du Saguenay-Saint-Laurent ainsi que le groupe de recherche sur l'écosystème du fjord du Saguenay (GREFS).

RÉSUMÉ

La diversité des communautés et la distribution de l'ichtyofaune du Saguenay ont peu été décrites jusqu'à présent. Selon la littérature disponible, il y aurait soixante-seize espèces qui ont été décrites dans le Fjord. Les principales méthodes pour ces recensements ont été les captures au filet ou à la ligne. Ces techniques sont limitées aux espèces les plus abondantes dans le milieu, ce qui peut influencer les résultats. Actuellement, des techniques moléculaires émergent comme approche complémentaire à l'identification de la biodiversité. Dans cette étude, des analyses par *metabarcoding* de l'ADN environnemental ont été réalisées sur 22 échantillons prélevés à trois profondeurs différentes pour 9 stations situées sur le long du Fjord. Il s'agit d'une première série d'analyses de ce genre pour cet écosystème. L'objectif de cette étude était d'identifier la variation et la distribution des communautés en taxons et l'influence des paramètres physico-chimiques sur les communautés. Ainsi, ce sont 22 nouveaux taxons qui ont été identifiés, et cinq communautés qui ont été décrites. Les communautés observées se distribuent principalement selon la profondeur, la salinité et la température de l'environnement. Notamment, la richesse spécifique et l'indice de Shannon sont en relation significative et positive avec la température. L'indice de Shannon est également relié significativement et négativement avec la salinité. Ces résultats indiquent que des changements dans ces paramètres pourraient dicter et influencer la biodiversité de l'écosystème. Nos résultats présentent un premier pas dans la description de la biodiversité du fjord du Saguenay.

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS.....	i
REMERCIEMENTS.....	ii
RÉSUMÉ.....	iii
TABLE DES MATIÈRES.....	iv
LISTE DES FIGURES.....	v
LISTE DES TABLEAUX.....	vi
LISTE DES ANNEXES.....	vii
INTRODUCTION.....	1
MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	3
SITE À L'ÉTUDE.....	3
ÉCHANTILLONNAGE.....	4
EXTRACTION DE L'ADN.....	5
ANALYSES BIO-INFORMATIQUES.....	6
ANALYSES ET TRAITEMENT DES DONNÉES.....	7
RÉSULTATS.....	8
DISCUSSION.....	17
IDENTIFICATION DES TAXONS AVEC LE <i>METABARCODING</i> DE L'ADN	
ENVIRONNEMENTAL.....	17
PARAMÈTRES INFLUENÇANT LA BIODIVERSITÉ DU SAGUENAY.....	19
LA VARIABILITÉ SPATIALE DES COMMUNAUTÉS.....	19
LES CONDITIONS ENVIRONNEMENTALES ET LA VARIABILITÉ SPATIALE.....	22
LIMITATIONS DE L'ÉTUDE.....	23
CONCLUSION.....	25
RÉFÉRENCES.....	26
ANNEXES.....	30

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Les 9 stations échantillonnées dans le Saguenay, Québec (Gauthier 2018).....	5
Figure 2 : Le nombre de taxons dans le fjord du Saguenay retrouvé dans la littérature par les techniques traditionnelles ou par les analyses de <i>metabarcoding</i> de l'ADNe.	9
Figure 3 : Répartition et l'abondance relative des taxons identifiés dans le fjord du Saguenay par les analyses de <i>metabarcoding</i> selon la profondeur et les stations, de l'aval (#1) à l'amont (#9). ..	10
Figure 4 : Répartition des classes écologiques recensées des taxons en aval et en amont du fjord du Saguenay.....	11
Figure 5 : Le positionnement multidimensionnel non métrique (stress = 0,16) à partir des distances de Bray-Curtis entre les taxons identifiés dans les échantillons par <i>metabarcoding</i> dans le Saguenay.....	12
Figure 6 : Variation de la richesse spécifique des poissons pour chaque station et profondeur dans le Fjord et représentation des cinq communautés (couleurs).	13
Figure 7 : Analyse de redondance des échantillons et des cinq groupes variant selon les paramètres physico-chimiques mesurés dans le fjord du Saguenay.	15

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : La moyenne des indices de Shannon et l'écart-type des cinq communautés retrouvées dans le fjord du Saguenay.....	13
Tableau 2 : Analyses de la covariance de la richesse spécifique et de l'indice de Shannon pour les paramètres physico-chimique mesurés dans le fjord du Saguenay.	14
Tableau 3 : Valeurs de l'inertie et le pourcentage de variance pour les paramètres physico-chimiques calculés avec l'analyse de redondance.	16

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Espèces décrites dans le fjord du Saguenay recensées dans la littérature et leur classe écologique.	31
Annexe 2 : Séquences 5' – 3' des amorces MiFish-U-F et MiFish-U-R utilisées dans la PCR pour cibler le gène mitochondrial 12S.....	32
Annexe 3 : Répartition des classes écologique des taxons séquencés avec le <i>metabarcoding</i> dans les échantillons prélevés en aout 2023 dans le Saguenay.....	33

INTRODUCTION

Depuis l'aube de l'ère industrielle, la biodiversité est en déclin constant. La surexploitation des espèces sauvages, les changements climatiques, l'introduction d'espèces envahissantes et les activités humaines peuvent expliquer cette diminution (Naeem *et al.* 1994; Irfan et Alatawi 2019). Cette perte de diversité entraîne d'importantes conséquences sur les écosystèmes aquatiques, entravant les différents services écologiques rendus à l'humain, tels que les pêches, les activités touristiques ou l'alimentation (Holmlund et Hammer 1999). La richesse spécifique et l'indice de Shannon sont des indicateurs de la biodiversité fréquemment utilisés (Hufnagel 2022). La richesse spécifique illustre le nombre d'espèces retrouvées dans un milieu. L'indice de Shannon est une mesure de la diversité et de l'équitabilité. Il détiendra une valeur élevée si la richesse et l'abondance des espèces est similaire (Levrel 2006). Une forte richesse et un grand indice assureraient l'équilibre et la résilience de l'écosystème face aux perturbations (Holmlund et Hammer 1999). En effet, si un écosystème subit une perturbation, la redondance des fonctions écologiques assurées par de nombreuses espèces peut assurer le maintien de celles-ci, même envers la diminution marquée de quelques-unes d'entre elles. Les impacts à court et moyen terme peuvent donc s'avérer moins grands, puisque les différentes espèces ne répondent pas de la même façon et n'y sont pas toutes sensibles (Lévêque et Mounolou 2008). Ainsi, la distribution et la structure des communautés varient selon plusieurs facteurs environnementaux naturels ou anthropiques.

Le fjord du Saguenay accueille une faune riche, autant à sa surface qu'en profondeur (Sévigny *et al.* 2009). En effet, un grand nombre d'habitats contrastés en termes de conditions environnementales coexiste (ex. physicochimie, profondeur ou salinité). Selon une recension de la littérature effectuée, le Fjord et la rivière Saguenay accueilleraient 76 espèces de poissons (Annexe 1; Drainville 1970; Sylvain 1988; Mousseau et Armelin 1995; Musée du Fjord, envoi d'une liste Excel par Myriame Coulombe tirée du MPO, *communication personnelle* 2004; Maltais 2015; Musée du Fjord 2019; Olivier Morissette, Ph.D. Biologie aquatique, *communication personnelle* 2023). Cependant, il y a relativement peu de recherches qui se sont intéressées à la distribution de la richesse et la diversité des communautés de poissons sur l'ensemble du système. Cela laisse croire que le nombre total d'espèces présentes dans le Fjord est sous-estimé. Ces informations manquantes sur la biodiversité doivent être comblées pour assurer une meilleure estimation des risques d'impacts face aux perturbations ou à des événements catastrophiques qui pourraient mettre certains habitats en péril (ex. accidents maritimes ou déversement de produits chimiques). Les méthodes principales pour étudier la diversité de l'ichtyofaune sont les captures traditionnelles, avec ou sans remise à l'eau, comme la pêche au filet ou à la ligne (Cilleros *et al.*

2019). Cependant, ces techniques peuvent être intrusives et entraîner des répercussions négatives (c.-à-d. mortalité, perte de fécondité et blessures; Ruan *et al.* 2022). De plus, ces techniques sont limitées aux espèces les plus abondantes dans le milieu, ce qui peut influencer les données de relevés faites sur le Fjord, dont la grande superficie et la forte profondeur représentent des défis techniques importants (Cilleros *et al.* 2019). Depuis quelques années, des techniques moléculaires émergent et sont complémentaires aux captures traditionnelles. Elles permettent d'obtenir une vision différente de la diversité et de la structure des communautés. C'est le cas du *metabarcoding* de l'ADN environnemental (ADNe). L'ADNe correspond au matériel génétique qui est relâché par les organismes vivants dans leur habitat (Taberlet *et al.* 2012). Il est libéré, par exemple, par les sécrétions de mucus, les excréments ou les tissus. Le *metabarcoding* permet d'identifier et cibler plusieurs organismes vivants simultanément dans un site à partir d'un seul échantillon. Cela est possible avec des amorces universelles qui ciblent un gène spécifique à un organisme. Ces amorces permettent l'amplification des gènes cibles, et donc d'augmenter l'abondance des séquences d'intérêt parmi toutes les séquences des multiples organismes recensées dans un échantillon (Miya *et al.* 2020).

L'objectif principal de cette étude est de décrire la diversité des communautés de poissons dans le fjord du Saguenay par *metabarcoding* en ciblant le gène 12S du génome mitochondrial. Le premier objectif spécifique est d'examiner la variabilité spatiale des communautés le long du Fjord, et ce pour trois profondeurs différentes. Un second objectif spécifique vise à associer la variabilité spatiale des communautés observées aux conditions environnementales mesurées. L'hypothèse de ce travail est que la diversité et la composition des communautés des poissons dans le fjord du Saguenay entre la surface et la profondeur seraient différentes. Les espèces devraient se répartir principalement selon la salinité, la température et la profondeur. Également, celles-ci devraient varier entre les trois bassins qui composent le Fjord. Il est attendu qu'en amont, plus d'espèces associées à l'eau douce seront retrouvées. Alors qu'en amont, près de l'embouchure de Tadoussac, plus d'espèces d'eau marine seront répertoriées.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

SITE À L'ÉTUDE

Cette expérience s'est déroulée dans la rivière Saguenay. Elle est localisée dans la région subarctique de l'Est du Canada (Belzile *et al.* 2016). Elle est d'une longueur d'environ 167 km et d'une largeur entre 1 et 6 km (Mousseau et Armellin 1995). Le Saguenay se divise en trois zones, soit le Haut-Saguenay, le Moyen-Saguenay et le Bas-Saguenay (Mousseau et Armellin 1995). L'étude s'est déroulée dans le Moyen et le Bas-Saguenay. Le Moyen-Saguenay représente une section comprise entre le barrage de Shipshaw jusqu'à Saint-Fulgence. Cette section est d'une longueur d'environ 25 km (Mousseau et Armellin 1995). Celui-ci est soumis aux marées. L'eau y est douce, sauf près de Saint-Fulgence (Drainville 1968). Cette eau provient majoritairement du lac Saint-Jean. Le Bas-Saguenay, nommé également le fjord du Saguenay, est délimité entre Saint-Fulgence et l'embouchure du Fjord donnant sur le fleuve Saint-Laurent à la hauteur de la municipalité de Tadoussac. Le Bas-Saguenay est d'une longueur d'environ 100 km (Mousseau et Armellin 1995). Ces eaux sont influencées par les marées (Drainville 1968). Il est possible de retrouver des eaux saumâtres et chaudes à la surface, et des eaux marines plus froides en profondeur (Belzile *et al.* 2016). La thermo-halocline se situe à environ 20 m, séparant ces deux couches. On juge donc que le fjord du Saguenay a une circulation typiquement estuarienne (Belzile *et al.* 2016). L'eau salée provient de l'estuaire du Saint-Laurent et s'infiltré dans le Fjord lors des marées hautes. Cela va contribuer à l'oxygénation des habitats profonds, ce qui le caractérise. Le Fjord a plusieurs affluents, comme les rivières Sainte-Marguerite, Petit Saguenay ou Saint-Jean (Drainville 1968). Morphologiquement, le fjord du Saguenay se divise aussi en trois bassins. Le bassin supérieur est situé entre Saint-Fulgence jusqu'à la rivière Sainte-Marguerite. En amont, ce bassin se divise en deux branches, dont le Bras du Nord qui est la continuité du moyen Saguenay, et la Baie des Ha! Ha! (Drainville 1968). Le bassin intermédiaire est compris entre la rivière Sainte-Marguerite et Sacré-Cœur. À sa suite, le bassin inférieur s'étend jusqu'à l'embouchure de Tadoussac. Respectivement, il est possible d'atteindre dans ces bassins des profondeurs approximatives de 276 m, 180 m et 250 m (Mousseau et Armellin 1995). Ces derniers sont séparés par des seuils internes rocheux d'une profondeur respective de 120 m, 60 m et 20 m (Belzile *et al.* 2016).

ÉCHANTILLONNAGE

L'analyse de l'ADNe est très sensible, et sans une procédure rigoureuse de décontamination, il est possible de détecter des espèces qui ne sont pas présentes dans l'échantillon environnemental (faux positifs). Ainsi, avant d'aller sur le terrain, tout le matériel de terrain et de laboratoire a été stérilisé avec des solutions d'eau Javel pour éviter la contamination, et les faux positifs. Une solution avec une concentration à 20% a été utilisée pour les objets entrant directement en contact avec les échantillons d'eau (ex. la bouteille Go-Flo et certaines bouteilles de 1,89 L). Une deuxième solution d'eau de Javel à 10% a été utilisée pour stériliser le matériel entrant indirectement avec les échantillons (ex : les glaces et la glacière). Le matériel a été immergé pendant 10 minutes dans la solution et ils ont été rincés abondamment avec de l'eau distillée, afin de ne pas désagréger l'ADN des échantillons et causer des faux négatifs. Les glacières transportant les échantillons, les gants et les bouteilles de 1,89 litre étaient neufs. L'échantillonnage s'est déroulé le 2, 3 et 9 août 2023. Pour cette expérience, ce fut 9 stations qui ont été ciblées (Figure 1). Les différents échantillons ont été récoltés de l'aval vers l'amont, donc de l'embouchure à Tadoussac vers Shipshaw. La bouteille Go-Flo de 5 L a été déployée verticalement. Tous les échantillons ont été conservés dans des bouteilles de 1,89 L. À la suite du prélèvement, les bouteilles ont été gardées au froid et à l'abri de la lumière dans une glacière. À chaque station, un échantillon a été prélevé à la surface (1 m). Pour les stations de plus de 20 m de profond, des échantillons ont aussi été récoltés sous la thermo-halocline (25 m) et à 10 m au-dessus du fond, pour éviter le brassage des sédiments. L'ADN peut être conservé dans les sédiments pendant une très longue période, ce qui suggère la présence d'une espèce par ses séquences, même si l'espèce n'est pas nécessairement présente (Buxton *et al.* 2018). Les sept premières stations, soit celles de l'embouchure de Tadoussac jusqu'à la Baie, ont des profondeurs excédant 20 m. Alors que celles du pont de Saint-Anne, et du barrage à Caron ont une profondeur de moins de 20 m. Deux échantillons ont été récoltés à Saint-Fulgence. Cette station comporte une profondeur plus grande que 20 m, mais détient une profondeur maximale de 49 m. Il a été assumé qu'il n'y aurait pas de différence significative dans la composition des espèces d'un échantillon prélevé à 25 m et à 39 m. Entre chaque station, la bouteille Go-Flo a été stérilisée. Finalement, à la fin de chaque journée, un blanc terrain (contrôle négatif) a été fait. Les blancs terrains consistaient à des bouteilles, qui étaient préalablement remplies d'eau distillée, et qui étaient gardées ouvertes pendant toute la durée des manipulations pour un échantillon donné. De plus, à chaque station, la sonde CTD de *Sea-Bird Scientific* a été déployée pour mesurer les paramètres physico-chimiques. Par la suite, les échantillons ont été filtrés avec une pompe Smith-Root *citizen science* et des filtres Smith-Root autodessicants d'une taille de pores

de 1,2 μm . Des blancs de filtration ont aussi été faits avec de l'eau distillée. Ainsi, un total de 28 filtrations a été réalisé, comprenant 6 témoins négatifs.

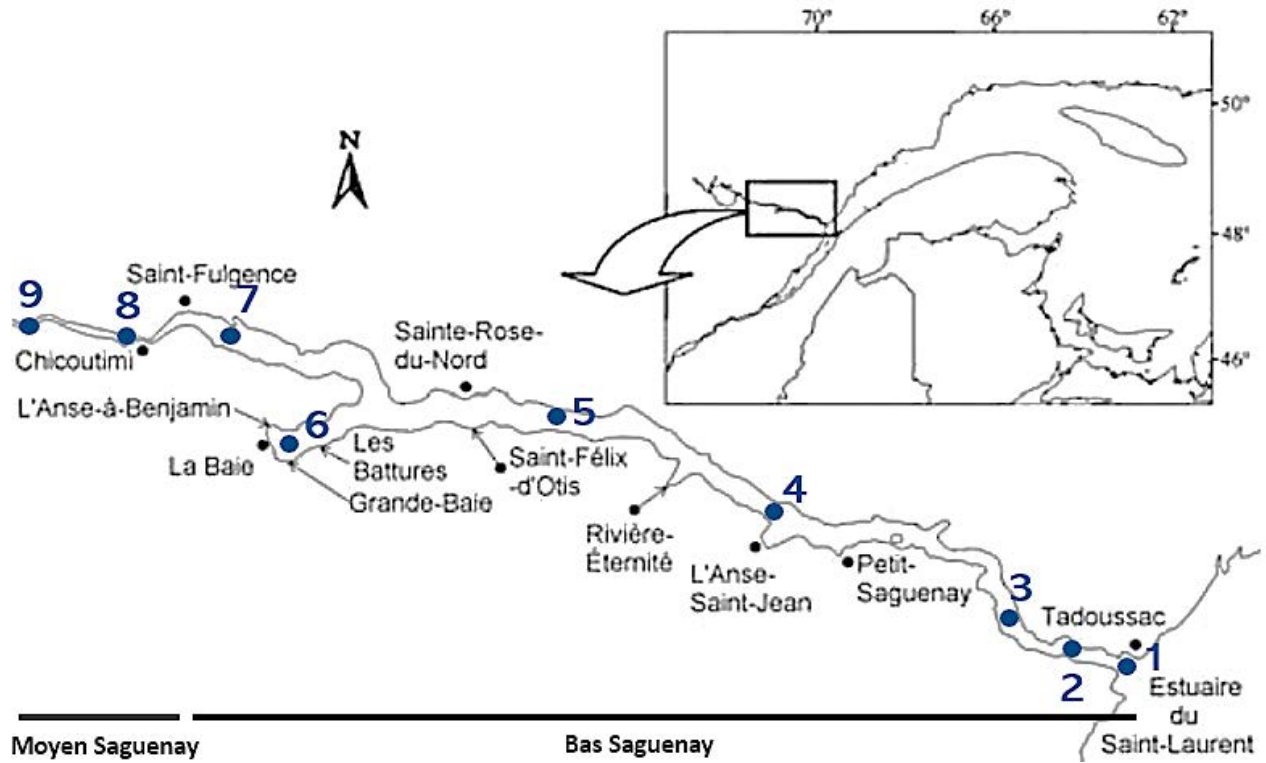


Figure 1 : Les 9 stations échantillonnées dans le Saguenay, Québec (Gauthier 2018).

EXTRACTION DE L'ADN

Les filtres ont été envoyés à l'Institut de Biologie Intégrative et des Systèmes (IBIS) de l'Université Laval. L'ADNe a été extrait et amplifié lors d'une PCR, en suivant le protocole développé par Taylor Wilcox en 2014 (Bougas *et al.* 2023). Il s'agit d'un protocole adapté utilisant la lyse cellulaire avec la trousse QIAshredder suivie d'une extraction de l'ADN avec les trousse DNeasy Blood and Tissue (Quiagen). Premièrement, 3 μl d'ADNe ont été mis en solution avec 12,5 μl de Qiagen MasterMix, 2 μl de chaque amorce (10 μM) et 5,5 μl diH₂O, afin de réaliser la PCR (Bougas *et al.* 2023). Le gène mitochondrial 12S a été amplifié avec les amorces MiFish-U-F et MiFish-U-R (Annexe 2; Miya *et al.* 2015). Ce gène correspond à une région hypervariable, d'environ 172 pb, retrouvée dans le génome de la mitochondrie. Plusieurs études ont démontré la fiabilité de ces amorces dans la reconnaissance des poissons dulcicoles et marins du Québec (Laporte *et al.* 2021). Également, l'amorce peut cibler quelques

espèces d'élastomobranches, comme les raies et les requins. La programmation de la PCR débute avec 15 minutes à 95°C pour la dénaturation des doubles brins d'ADN (Bougas *et al.* 2023). Ensuite, 35 cycles d'amplification ont été effectués (30 s à 94°C, 90 s à 65°C, 60 s à 72°C). Finalement, lorsque l'amplification est terminée, la température retourne à 72°C pendant 10 minutes pour procéder à l'élongation finale des brins amplifiés.

Plusieurs précautions ont été prises pour éviter les contaminations. Des contrôles négatifs ont été réalisés pour chaque plaque de puits. Ensuite, les produits de la PCR ont été observés sur un gel d'agarose pour valider la présence de l'ADN ciblé et sa qualité (Laporte *et al.* 2021). Finalement, tous les échantillons ont été séquencés par la Plateforme d'Analyses Génomiques de l'IBIS. Un séquençage à haut débit a été fait avec l'aide de la plateforme Illumina MiSeq (Miya *et al.* 2020).

ANALYSES BIO-INFORMATIQUES

Les séquences sont conservées selon leur qualité (Caron *et al.* 2022). Seulement les séquences de bonne qualité, avec une bonne longueur et qui ne semble pas être une erreur de la PCR ont été gardées. Par la suite, les séquences ont été alignées et regroupées dans des groupes homogènes. Finalement, les séquences consensus des groupes homogènes sont assignées à un taxon selon leur similarité avec des données de références issues des bases de données. Ce processus de traitement de données est réalisé avec l'aide du pipeline d'analyse Barque, développé par Éric Normandeau (Mathon *et al.* 2021). La convention de la similarité minimale entre la séquence obtenue et celle de référence est de 97% (Caron *et al.* 2022). Tout ce qui est plus faible n'est pas une identification positive. Ensuite, pour chaque station, les espèces dont la fréquence des séquences était sous le seuil de 0,001% des séquences de la station ont été retirées, afin d'éviter d'inclure de faux positifs par les analyses. Cette valeur permet aussi de limiter le retrait des espèces ayant des séquences moins abondantes dans les échantillons, qui pourraient être considérées comme des espèces rares (Caron *et al.* 2022). Les blancs n'ont pas montré de contamination, seulement une séquence de doré jaune a été retrouvée pour un blanc terrain prélevé lors de la journée du 9 août.

ANALYSES ET TRAITEMENT DES DONNÉES

Les espèces identifiées avec la technique de l'ADN environnemental ont été comparées avec celles déjà connues dans la littérature et représentées par un digramme de Venn. Par la suite, une analyse de groupement hiérarchique a été faite pour identifier la structure des données de communautés. Les échantillons ont été séparés en 5 groupes homogènes, selon la matrice de distance de Bray-Curtis entre les échantillons. Cela permet d'identifier les principales communautés retrouvées dans le Saguenay. Ensuite, les échantillons ont été analysés par des tests d'ordination multidimensionnels non métriques (NMDS) avec la matrice de distance de Bray-Curtis. Cela permet d'étudier la distribution et la distance des échantillons selon la composition des espèces et des genres. Également, les échantillons ont subi une analyse de redondance (RDA), pour observer la distribution des échantillons et leurs distances, selon les paramètres physico-chimiques. Pour l'analyse de RDA, la matrice d'espèces a subi une transformation de Hellinger, ce qui diminue l'influence des espèces rares. Aussi, les valeurs de l'inertie et le pourcentage de variance de l'analyse de redondance ont été déterminés. De plus, la richesse spécifique et l'indice de Shannon ont été calculés pour chaque échantillon. Les moyennes de l'indice de Shannon ont été calculées avec les échantillons pour chaque communauté. Une analyse de covariance (ANCOVA) de la richesse et de l'indice de Shannon a été faite avec tous les paramètres physico-chimiques. La relation est significative lorsque le $p < 0,05$. Une figure de la variation de la richesse spécifique et une heatmap ont été générées afin de visualiser la distribution longitudinale et latitudinale du nombre relatif de séquences des espèces. Ces différents résultats ont été réalisés dans R version 4.1.2 (R Core Team 2021).

RÉSULTATS

Pour le projet, le nombre de séquence moyen par station est de 55 803. L'échantillon à 25 m de la station 5 présente la plus faible abondance de séquence, soit 2 793, alors que l'échantillon de surface de la station 2 montre la plus grande abondance, soit 137 897. La moyenne du nombre de séquence à la surface, à 25 m et la profondeur sont respectivement de 70 422 (max : 114 475, min : 36 918), 29 907 (max : 105 852, min : 2 793) et 64 087 (max : 137 897, min : 8 917).

À la suite de la filtration des données, 59 espèces ou genres ont été conservés (Annexe 3). Certaines séquences de morue n'ont pas mené à des identifications à l'espèce, elles avaient seulement été associées au genre. Ces séquences ont été additionnées aux séquences de l'espèce qui était la plus probable, selon la station et les identifications. De même, pour les sébastes, des travaux récents (Geneviève Parent, MPO, *Communication personnelle*, 2023) indiquent que les génomes mitochondriaux ne permettent pas de distinguer les deux espèces, car des haplotypes sont partagés entre le sébaste acadien (*Sebastes fasciatus*) et le sébaste atlantique (*Sebastes mentella*). Bien que les deux espèces de sébastes retrouvées dans le Saguenay figuraient dans les résultats d'analyse des séquences, elles ont été jumelées afin d'éviter de faux résultats.

Le nombre d'espèces ou de genres de poissons observés dans le Saguenay diffère selon les techniques utilisées (Figure 2). Les techniques traditionnelles de capture (ex. pêches scientifiques, observations citoyennes) et le *metabarcoding* partagent l'identification de 37 taxons. De plus, la revue de la littérature a permis de trouver 37 autres espèces qui résideraient dans le fjord du Saguenay, et qui ont été identifiées par des techniques traditionnelles. Le *metabarcoding* a permis l'identification de 22 taxons non décrit dans la littérature.

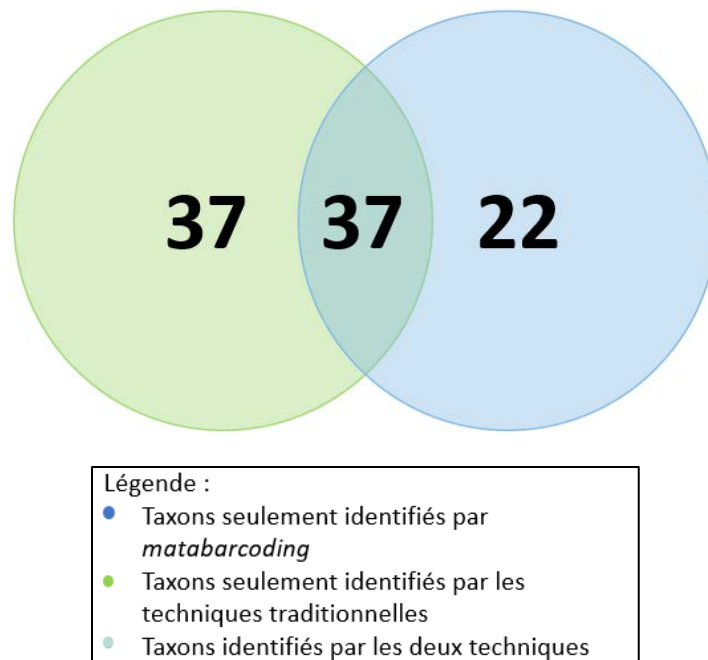


Figure 2 : Le nombre de taxons dans le fjord du Saguenay retrouvé dans la littérature par les techniques traditionnelles ou par les analyses de *metabarcoding* de l'ADNe.

La détection des séquences des taxons identifiées par *metabarcoding* et l'abondance relative de leurs séquences varient grandement selon la station et la profondeur échantillonnée (Figure 3). Il est possible d'observer que les séquences de certaines espèces sont seulement retrouvées en aval du Saguenay, comme le poisson-alligator atlantique (*Aspidophoroides monopterygius*), le tricorne arctique (*Gymnocanthus tricuspis*) ou la grosse poule de mer (*Cyclopterus lumpus*). D'autres séquences sont aussi seulement retrouvées en amont, comme l'achigan à petite bouche (*Micropterus dolomieu*), le mullet à corne (*Semotilus atromaculatus*) ou le grand corégone (*Coregonus clupeaformis*). Également, certaines sont exclusivement retrouvées à une grande profondeur, comme le cyclothone à petites dents (*Cyclothone microdon*), la limace marbrée (*Liparis gibbus*) ou la lycode polaire (*Lycodes polaris*). Également, les séquences de certaines espèces semblent couvrir la majorité du cours du Saguenay, à de nombreuses profondeurs, comme l'anguille d'Amérique (*Anguilla rostrata*), l'éperlan arc-en-ciel (*Osmerus mordax*) et l'épinoche à trois épines (*Gasterosteus aculeatus*). Certaines espèces sont aussi détectées le long du Saguenay, mais leurs séquences sont limitées à la surface, comme le bar rayé (*Morone saxatilis*), la barbotte brune (*Ameiurus nebulosus*), le meunier noir (*Catostomus commersonii*), le meunier rouge (*Catostomus catostomus*), le naseux des rapides (*Rhinichthys cataractae*) et la outouche (*Semotilus corporalis*). Également, l'échantillon de surface à la station 8 est celui ayant la plus grande richesse

spécifique avec vingt-quatre espèces détectées. L'échantillon sous la thermocline à la station 4 présentant seulement deux espèces, est l'échantillon avec la moins grande richesse spécifique.

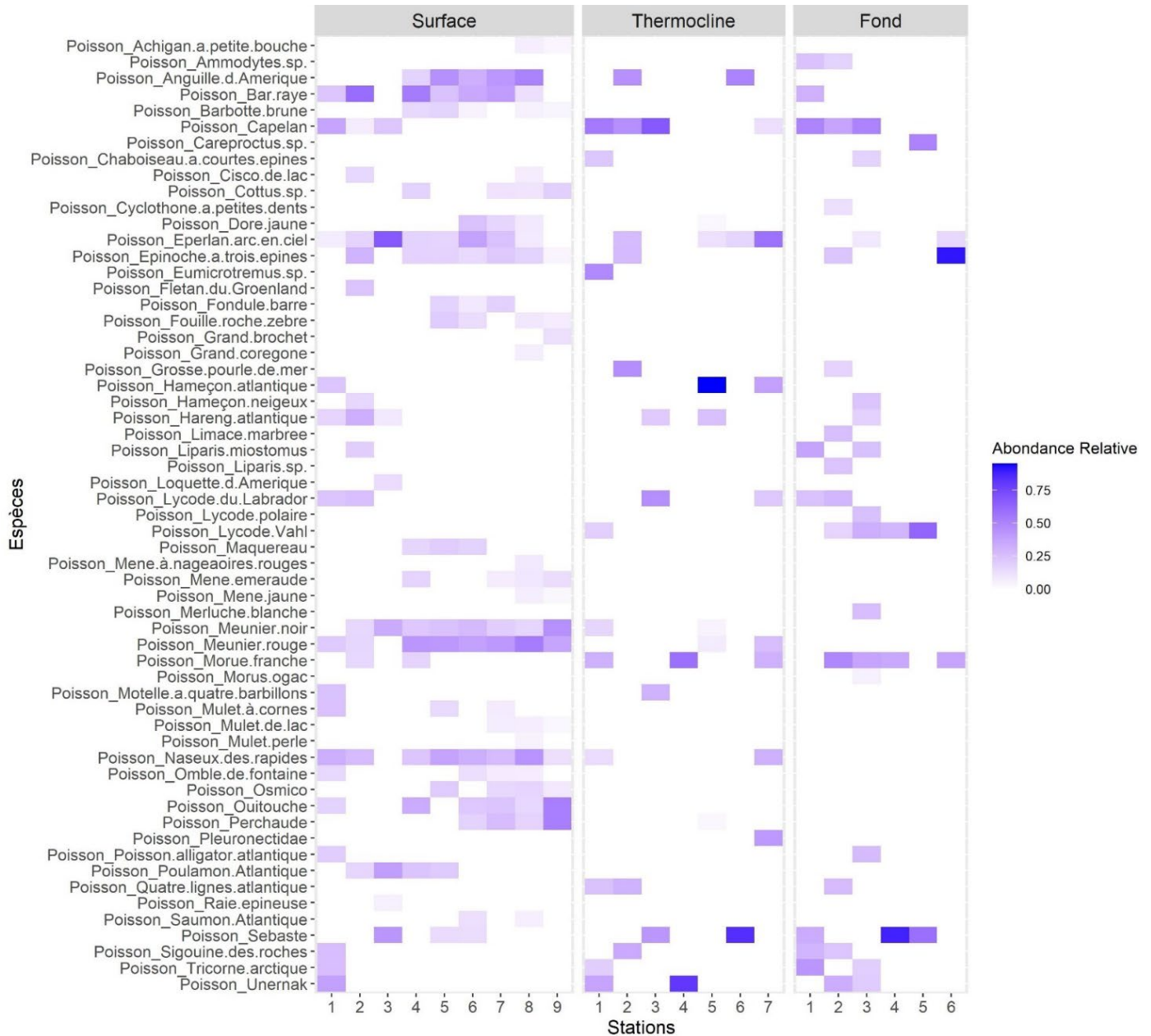


Figure 3 : Répartition et l'abondance relative des taxons identifiés dans le fjord du Saguenay par les analyses de *metabarcoding* selon la profondeur et les stations, de l'aval (#1) à l'amont (#9).

Les taxons se classent dans différentes catégories écologiques : dulcicole, marine ou migratrice. Les catégories ont été séparées dans un gradient amont-aval (Figure 4). Il a été considéré que les stations 1 à 4 sont en aval, alors que les stations 5 à 9 sont plus en amont. Il est possible d’observer qu’il y a un plus grand nombre d’espèces marines, dont les séquences ont été identifiées, en aval du Fjord. Alors qu’il y a un plus grand nombre d’espèces dulcicole en amont du Fjord. Il est possible d’observer que le nombre d’espèces migratrices reste relativement constant en amont et en aval.

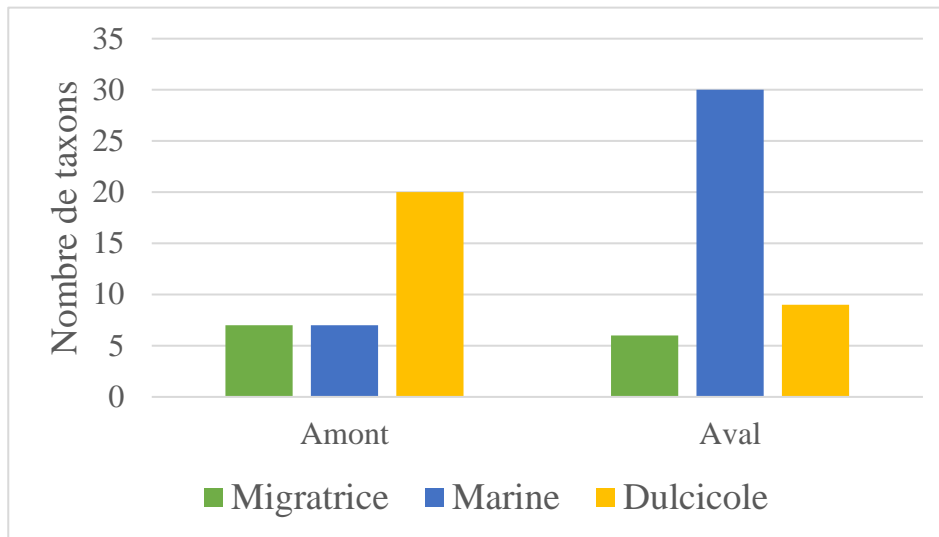


Figure 4 : Répartition des classes écologiques recensées des taxons en aval et en amont du fjord du Saguenay.

Le cadrage multidimensionnel non métrique permet de visualiser les échantillons selon la distance entre les échantillons de communautés identifiées par *metabarcoding* (Figure 5). Les points plus rapprochés sont plus similaires que ceux plus éloignés. Les cinq groupes apparaissent bien différenciés et distancés. Le premier groupe est caractérisé par la plus forte présence de l’hameçon Atlantique (*Artediellus atlanticus*) et du hareng Atlantique (*Clupea harengus*). Le deuxième groupe détient plus de séquences pour les quatre-lignes Atlantique (*Eumesogrammus praecisus*), le capelan (*Mallotus villosus*) et l’unernak (*Gymnelus viridis*). Le groupe trois présente une forte abondance de séquences pour le genre *Sebastes*. Le quatrième groupe détient la plus forte abondance pour plusieurs taxons, notamment l’anguille d’Amérique, les meuniers, le naseux des rapides, le méné émeraude (*Notropis atherinoides*), le bar rayé et l’épinoche à trois épines. Le cinquième groupe est caractérisé principalement par la morue franche (*Gadus morhua*).

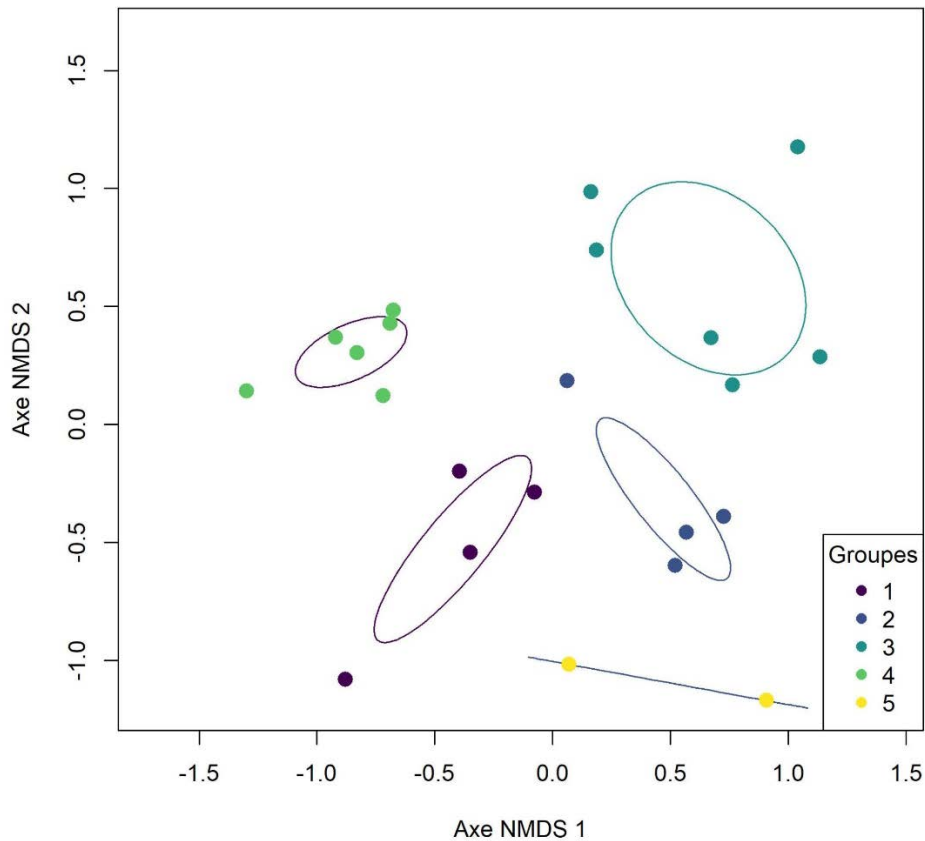


Figure 5 : Le positionnement multidimensionnel non métrique (stress = 0,16) à partir des distances de Bray-Curtis entre les taxons identifiés dans les échantillons par *metabarcoding* dans le Saguenay.

La variation de la richesse spécifique selon la profondeur et le long de l'axe aval-amont du Fjord montre une structure intéressante (Figure 6). Il est possible de constater que, pour chaque station, l'échantillon prélevé à la surface semble présenter une plus grande richesse spécifique que les autres, les échantillons pris au fond ayant généralement une richesse plus faible. La position des groupes, trouvés à la suite de l'analyse hiérarchique, suit une certaine structure. En effet, le groupe 1 se concentre à moins de 25 m, et il est présent jusqu'à la septième station. Le groupe 2 se retrouve à 25 m et plus, et il est constitué d'échantillons prélevés en aval. Le troisième groupe se retrouve à toutes les profondeurs échantillonnées, et ne dépasse pas la sixième station. Le groupe 4 se limite à la surface et il a une grande richesse spécifique. Le groupe 5 présente une très faible richesse spécifique.

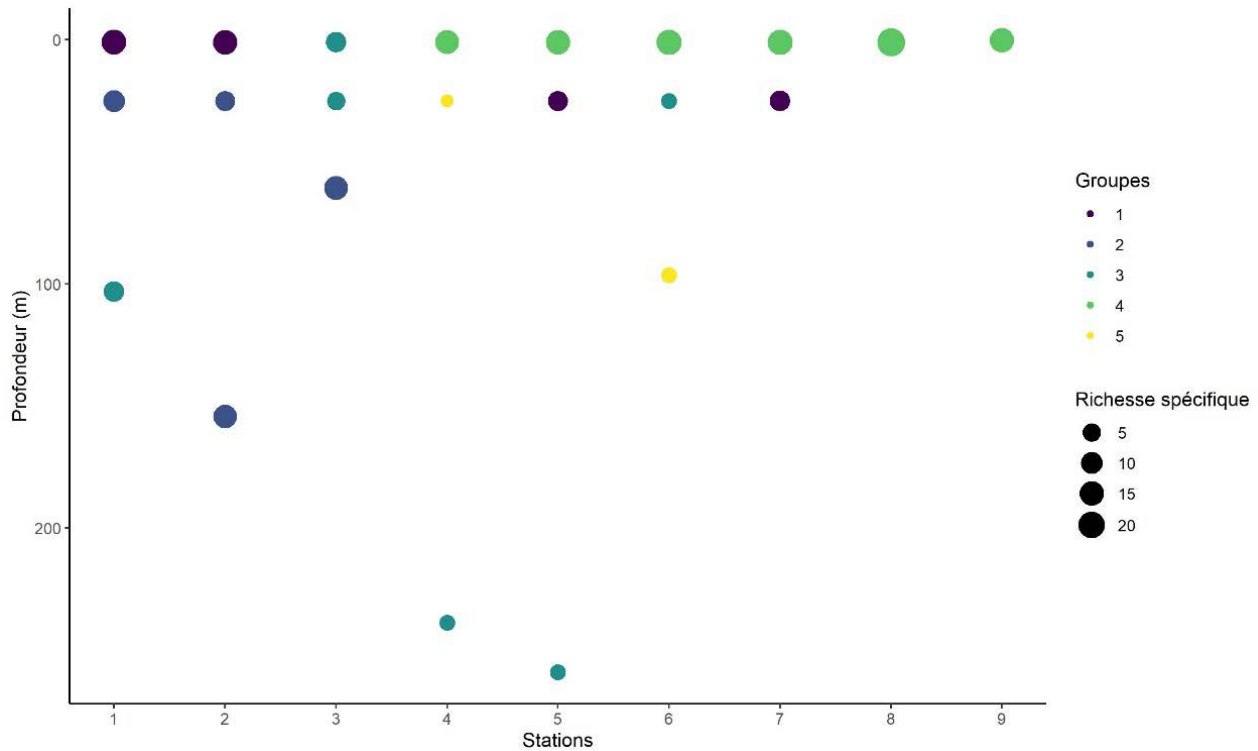


Figure 6 : Variation de la richesse spécifique des poissons pour chaque station et profondeur dans le Fjord et représentation des cinq communautés (couleurs).

L'indice de Shannon a été calculé pour chaque échantillon prélevé dans le Fjord. Cela a permis de calculer une moyenne pour chaque communauté, ainsi que l'écart-type (Tableau 1). Il est possible d'observer que la quatrième communauté détient la valeur la plus élevée de l'indice de Shannon et que la cinquième a la plus faible valeur.

Tableau 1 : La moyenne des indices de Shannon et l'écart-type des cinq communautés retrouvées dans le fjord du Saguenay.

Communauté	Moyenne indice de Shannon	Écart-type
1	1,75	0,96
2	2,11	0,25
3	1,21	0,50
4	2,22	0,27
5	0,58	0,09

Il est possible de noter que la richesse spécifique et l'indice de Shannon sont en relation avec certains paramètres physico-chimiques (Tableau 2). Ainsi, la température a une relation significative avec la richesse spécifique observée (ANCOVA, $F_{1,18} = 36,47$, $p < 0,001$), et l'indice de Shannon (ANCOVA, $F_{1,18} = 11,26$, $p < 0,05$). Finalement, la salinité a également une relation significative avec l'indice de Shannon (ANCOVA, $F_{1,18} = 11,75$, $p < 0,05$). Cependant, pour ces deux indices, la profondeur, la turbidité, le pH, l'oxygène, la fluorescence et la conductivité n'ont aucune relation significative ($P > 0,05$).

Tableau 2 : Analyses de la covariance de la richesse spécifique et de l'indice de Shannon pour les paramètres physico-chimique mesurés dans le fjord du Saguenay.

	Richesse spécifique					Indice de Shannon				
	Df	Sums of Sqs	Mean Sqs	F value	Pr (>F)	Df	Sums of Sqs	Mean Sqs	F value	Pr (>F)
Température	1	482,01	482,01	29,7831	0,001098	1	2,9630	2,9630	8,5229	0,01195
Profondeur	1	2,53	2,53	0,1564	0,6989447	1	0,1127	0,11269	0,3241	0,57884
Salinité	1	38,33	38,33	2,3682	0,1478124	1	3,1018	3,10182	8,9221	0,01050
Turbidité	1	0,21	0,21	0,0004	0,9104138	1	0,0641	0,06413	0,1845	0,67459
pH	1	0,06	0,06	0,0034	0,9543076	1	0,0106	0,01065	0,0306	0,86378
Oxygène	1	23,33	23,33	1,4414	0,2513333	1	0,0453	0,4533	0,1304	0,7284
Fluorescence	1	0,01	0,01	0,0004	0,9846134	1	0,0074	0,00745	0,0214	0,88588
Conductivité	1	1,92	1,92	0,1184	0,7362713	1	0,0671	0,06707	0,1929	0,66770
Résidus	13	210,39	16,18			13	4,5195	0,34766		
Total	21	758,79				21	10,8915			

Finalement, la RDA a été réalisée afin d'expliquer la corrélation entre les communautés observées et les différents paramètres physico-chimiques (Figure 7). Les flèches indiquent la direction et l'importance des paramètres sur la variation entre les échantillons. Il est possible d'observer que les flèches de la salinité, la profondeur et la température sont les plus longues, ce qui montre leur fort pouvoir explicatif. Également, il est possible de constater que la température se retrouve dans la direction opposée à la salinité et la profondeur. La température est également dirigée dans le même sens que la fluorescence et l'oxygène. Ces paramètres semblent expliquer particulièrement le quatrième groupe, retrouvant seulement des échantillons de surface en eaux douces et saumâtres. En ce qui concerne les échantillons expliqués par la profondeur et la salinité, ils semblent aussi se distancer selon la turbidité et la conductivité.

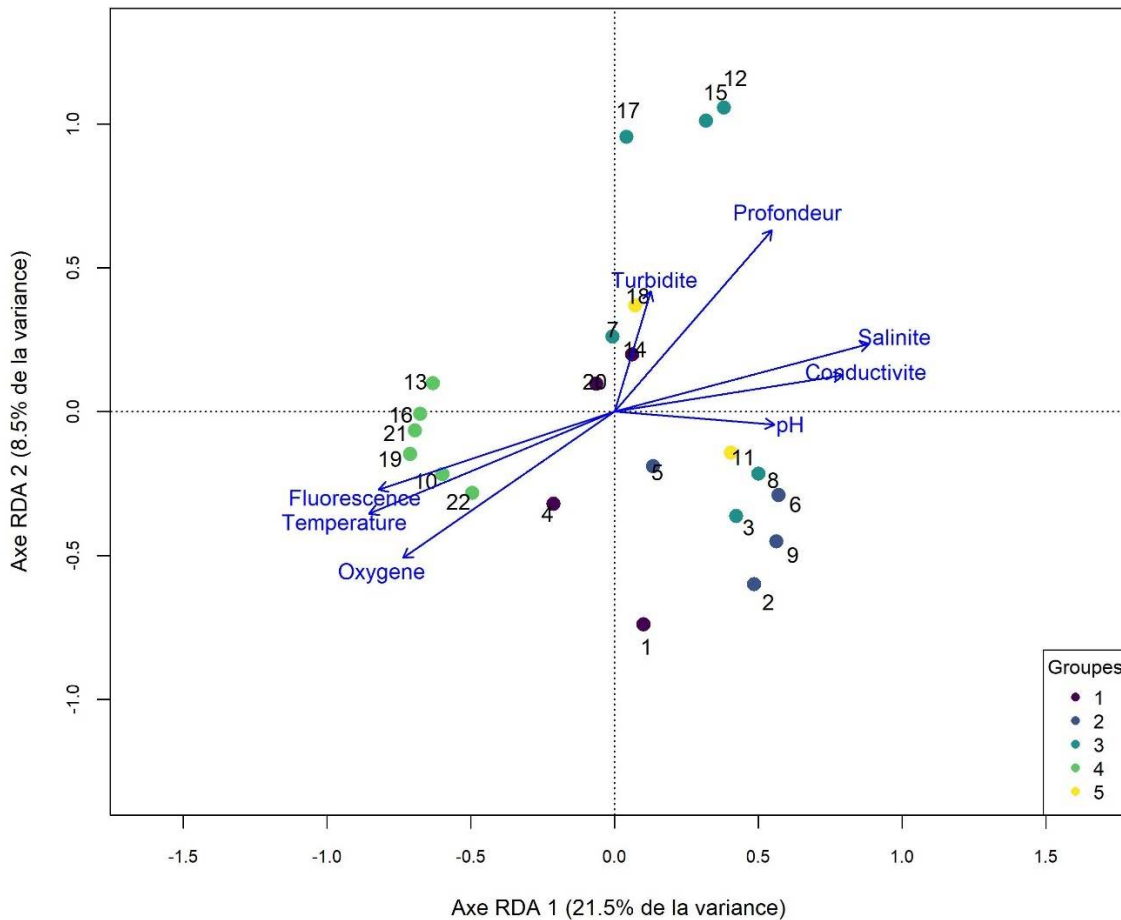


Figure 7 : Analyse de redondance des échantillons et des cinq groupes variant selon les paramètres physico-chimiques mesurés dans le fjord du Saguenay.

Les résultats d'inertie et de proportion de la variance expliquées par les facteurs contraints et non-contraints de l'analyse de redondance ont été calculés (Tableau 3). L'inertie présente l'influence de chaque paramètre sur la position relative des communautés dans l'ordination. Les facteurs contraints sont ceux fournis au modèle, soit les variables environnementales. Les facteurs non-contraints représentent la variation aléatoire non-expliquée par le modèle. Ainsi, il est possible de voir que les paramètres physico-chimiques expliquent 47,39 % de la variance des échantillons, soit pratiquement la moitié de celle-ci.

Tableau 3 : Valeurs de l'inertie et le pourcentage de variance pour les paramètres physico-chimiques calculés avec l'analyse de redondance.

	Valeur de l'inertie	Proportion (%)
Contrainte	0,3663	47,39
Non-contrainte	0,4066	52,61
Inertie totale	0,7729	100

DISCUSSION

IDENTIFICATION DES TAXONS AVEC LE *METABARCODING* DE L'ADN ENVIRONNEMENTAL

Avec la technique moléculaire utilisée, il a été possible d'identifier 59 taxons différents, dont la majorité est identifiée à l'espèce. Ces taxons peuvent appartenir à la classe écologique marine, dulcicole ou migratrice. Ce sont 31 espèces marines, 21 espèces dulcicoles et 7 espèces migratrices qui ont été identifiées avec leurs séquences. Notamment, 22 nouveaux taxons ont été identifiés, qui n'avaient pas été répertoriés dans le Saguenay selon la revue de la littérature avec les techniques traditionnelles. Cela représente 10 espèces d'eau douce et 12 espèces d'eau marine. Ces résultats suggèrent d'emblée que le *metabarcoding* de l'ADNe est une technique complémentaire aux inventaires traditionnels et permet d'avoir un meilleur recensement de la diversité lorsqu'elle est aussi appliquée (Valdivia- Carrillo *et al.* 2021). Notamment, 37 espèces décrites dans la littérature n'ont pas été séquencées dans les analyses. Cela peut s'expliquer par les différentes migrations des espèces. Ainsi, la présence de ces espèces varie selon la saison, et donc peuvent être absentes lors de la période d'échantillonnage.

Les taxons observés se répartissent dans un axe amont-aval, influencés par les conditions environnementales de leurs habitats. L'hypothèse stipulant qu'il y aurait plus de séquences correspondant à des espèces dulcicoles identifiées en amont, et plus de séquences d'espèces marines seraient associées en aval, est soutenue. Toutefois, l'ADN du meunier rouge et noir a été séquencé sur tout le long du Fjord. Leur distribution avait déjà été observée par Drainville (1970). Également, des séquences du mullet à corne, le naseux des rapides et la ouitouche, la barbotte brune et le méné émeraude ont été retrouvées à plusieurs stations en aval. Généralement, ce sont des espèces retrouvées exclusivement dans les eaux douces. Aussi, elles peuvent être retrouvées dans plusieurs tributaires du Saguenay.

Le mullet à cornes et le naseux des rapides sont des espèces sténohalines (Lacasse et Magnan 1994). Cela indique qu'elles ont de la difficulté à supporter les différences de pressions osmotiques en passant de l'eau douce à l'eau salée, les contraignant ainsi à l'eau douce. Pour le mullet à corne, les séquences sont retrouvées avec une faible abondance relative, à la surface des stations à l'embouchure, dans le premier bassin et à Saint-Fulgence, où l'eau est saumâtre. De plus, des séquences de naseux des rapides ont été répertoriées pratiquement à la surface de toutes les stations, excepté à la troisième station. Celles-ci présentent une abondance relative faible. Seulement, les stations de Chicoutimi et Shipshaw présentent

à la surface de l'eau douce (Salinité < 2 PSU; Diab 2009). Également, il y a une plus grande abondance relative des séquences à Chicoutimi. Certaines séquences ont aussi été identifiées sous la thermo-halocline, pour les stations à l'embouchure et Saint-Fulgence, avec une faible abondance relative. La ouitouche est une espèce d'eau douce qui vit dans les rivières et les lacs (Page et Burr 2011). Ces séquences ont été trouvées aux stations 1, 4,6,7,8 et 9. Il y a une plus grande abondance relative des séquences à la station de Shipshaw. La barbotte brune et le méné émeraude sont aussi des espèces dont les séquences ont été détectées jusqu'au deuxième bassin.

La présence des séquences de ces différentes espèces aux stations plus en aval et en profondeur, ayant une salinité plus grande que 2 PSU, peut être causée par la circulation estuarienne, ainsi que par la présence de sédiments et de matière organique. Il est probable que des sédiments ou de la matière organique aient quitté les rivières environnantes du Fjord. L'ADN des poissons peut être conservé dans les sédiments pendant une longue période (Buxton *et al.* 2018). La matière organique ou les sédiments, avec la circulation estuarienne, se sont dirigés vers l'embouchure. Ainsi, lors de l'échantillonnage, ces derniers peuvent avoir été récoltés, ce qui a influencé les résultats. Cela peut aussi expliquer la faible abondance relative des séquences de certaines espèces pour les stations en aval, alors qu'en amont l'abondance est plus élevée. De plus, cette faible abondance peut correspondre avec la diminution des tributaires, et donc de l'apport de matière organiques ou sédiments avec l'ADN de ces espèces dulcicoles.

Parmi les espèces détectées, le *Liparis miostomus* est une espèce jamais identifiée dans le Saguenay. Elle a été détectée dans les trois premières stations, situées en aval. Il s'agit d'une espèce marine, rare, habitant dans la mer du Japon, la mer d'Okhotsk et près des côtes du Pacifique d'Hokkaido (Masuda *et al.* 1984). Elle est associée à des profondeurs entre 0 et 10 m. Dans l'étude, ces séquences auraient été retrouvées dans l'échantillon de surface de la station 2, ainsi que ceux à 10 m du fond pour les stations 1 et 3. L'échantillon à la surface présente des eaux saumâtres (Salinité < 25 PSU), puis ceux au fond ont été récoltés à des profondeurs respectives de 103 et 60 m (Diab 2009). Ainsi, les séquences ne sont pas retrouvées à des conditions qui seraient favorables pour le *Liparis miostomus*. Il est donc possible de croire qu'il pourrait s'agir d'une mauvaise assignation des séquences à partir de la banque de données de référence. Effectivement, seulement une séquence de référence est disponible pour l'espèce, dans la banque de données NCBI (NCBI 2021). Il aurait été possible qu'il y ait eu une confusion avec une séquence d'un autre *Liparis* qui se retrouve dans le Saguenay. En effet, certains *Liparis* avaient été

identifiés avec les techniques traditionnelles, mais elles ne figurent pas dans les analyses de *metabarcoding*.

PARAMÈTRES INFLUENÇANT LA BIODIVERSITÉ DU SAGUENAY

La richesse spécifique est un paramètre qui sert à mesurer la diversité, en considérant le nombre total d'espèces différentes dans un échantillon (Vanpeene-Bruhier *et al.* 1998). L'indice de Shannon estime la diversité moyenne dans les échantillons, en tenant compte de la richesse et de l'équitabilité (Vanpeene-Bruhier *et al.* 1998). Plus la valeur de l'indice est élevée, plus la communauté est riche et équitable. Ainsi, la quatrième communauté est la plus diversifiée, alors que la cinquième est la moins diversifiée. La richesse spécifique et l'indice de Shannon pour les différents échantillons sont en relation significative et positive avec la température. Ainsi, la diversité dans un échantillon est plus élevée avec des grandes températures. L'indice de Shannon est aussi en relation significative et négative avec la salinité. À des plus faibles salinités, la diversité est plus grande. Il est permis de conclure que la diversité des échantillons est grandement dictée par la salinité et la température. En effet, il y a plus d'espèces retrouvées près de la surface dans des eaux chaudes et douces, que d'espèces retrouvées en profondeur avec des températures froides et une haute salinité. Cela indique l'importance de ces deux facteurs environnementaux dans le maintien de la biodiversité du Saguenay.

LA VARIABILITÉ SPATIALE DES COMMUNAUTÉS

Le premier objectif spécifique était d'examiner la variabilité spatiale des communautés le long du Fjord et ce, pour trois profondeurs différentes. Les échantillons ont été séparés en cinq groupes avec l'aide d'un dendrogramme, selon leur composition similaire des taxons. Cela représente les communautés différentes retrouvées au sein du Saguenay. Il est plus ou moins possible d'observer une variation spatiale. Également, dans la NMDS, ces groupes sont distancés, ce qui indique qu'ils ne sont pas similaires.

Le premier groupe est retrouvé à la surface avec une plus grande richesse spécifique pour les deux premières stations en aval. Également, il est situé sous la thermo-halocline pour le 1^{er} bassin et à Saint-Fulgence. Celui-ci est caractérisé par la présence particulière de l'hameçon Atlantique et du hareng Atlantique. Ce sont des espèces d'eau marine (Drainville 1970; Fedorov 1986). L'hameçon Atlantique se retrouve entre 35 m et 900 m de profond (Fedorov 1986). Il vit dans des eaux froides. Le hareng Atlantique a déjà été décrit par Drainville (1970), comme une espèce vivant principalement dans la couche superficielle du Saguenay. Cette espèce avait été identifiée par les techniques traditionnelles

jusqu'au Cap Jaseux, près de Saint-Fulgence. Cette communauté semble présenter des espèces d'eau marine, mais vivant pratiquement toutes dans des eaux plus saumâtres que salées (salinité < 25 PSU), donc près de la surface. Cela explique la présence de leurs séquences plus en aval du Saguenay, et jusqu'à Saint-Fulgence. Les conditions des échantillons suggèrent aussi que les espèces sont capables de supporter de grandes gammes de températures, variant entre 10°C et 2°C. Cela explique leur recensement à la surface et sous la thermo-halocline.

Le deuxième groupe se retrouve à 25 m et plus, pour les trois premières stations en aval. Celui-ci se démarque par la grande présence de capelan, du quatre-lignes Atlantique et l'unernak. Ce sont des espèces marines qui peuvent vivre à de très grandes profondeurs (Robins et Ray 1986; Fahay 2007). Le capelan évite les eaux chaudes (Fahay 2007). Le quatre-ligne Atlantique peut se retrouver à des profondeurs qui varie entre 5 m et 400 m (Robins et Ray 1986). L'unernak est une espèce marine qui peut vivre à des profondeurs variant entre 2 m et 256 m, et qui tolère des températures de -1.9°C à 4°C (Scott et Scott 1988). Cette communauté semble présenter des espèces marines pouvant vivre à des plus grandes profondeurs avec une salinité plus élevée que le groupe 1. Les résultats de la RDA vont dans le même sens, avec une explication plus grande pour la profondeur que pour la première communauté. La salinité pour les stations auxquelles ce groupe est présent est élevée (salinité > 25 PSU). Également, cette communauté ne dépasse pas la thermo-halocline.

Le troisième groupe est localisé à plusieurs stations et profondeurs. Toutefois, ce groupe n'est pas présent aux stations plus en amont. Le genre *Sebastes* contribue particulièrement à ce groupe. Ce taxon marin peut être retrouvé à des profondeurs variables (Fahay 2007). Le sébaste est benthique, mais il se déplace dans la colonne d'eau. Cela explique la présence du groupe à des profondeurs variables et l'absence aux stations plus en amont. Ainsi, la présence de ce genre à des profondeurs faibles dans les eaux saumâtres en aval peut être expliquée par le brassage des eaux de surface du Saguenay avec l'eau de l'estuaire du Saint-Laurent qui se produit pendant l'été (Scallon-Chouinard *et al.* 2007). Le genre *Sebastes* est retrouvé dans les eaux de l'estuaire. Cela indique que des séquences provenant de l'estuaire auraient pu être récoltées à la surface, à la suite d'un brassage. Cette communauté semble présenter des taxons marins qui peuvent se déplacer grandement dans la colonne d'eau, mais retrouvés principalement à de grandes profondeurs.

Le quatrième groupe est associé à la surface du Saguenay, et couvre la station de Shipshaw jusqu'au deuxième bassin. L'anguille d'Amérique, le meunier noir, l'épinoche à trois épines et le naseux des rapides sont particulièrement abondants dans ce groupe. L'anguille d'Amérique a été observée avec les techniques traditionnelles partout dans le Saguenay et dans la couche superficielle (Drainville 1970). Elle est une espèce migratrice, qui peut vivre dans les rivières, ruisseaux, lacs et estuaires. Elle peut facilement s'adapter à diverses températures, salinités et turbidités (Fahay 2007). Les anguilles sont plus actives pendant l'été (Scott et Scott 1988). Le meunier noir est une espèce dulcicole qui a déjà été observée à la surface des eaux du Saguenay, et couvrant jusqu'à l'Anse Saint-Jean, près de l'échantillon 4, ayant été récolté dans le deuxième bassin (Drainville 1970). L'épinoche à trois épines est retrouvée partout sur le Saguenay, à la surface (Drainville 1970). C'est une espèce migratrice, qui peut être associée aux eaux douces, saumâtres et marines (Arai *et al.* 2020). Le naseux des rapides est une espèce sténohaline (Lacasse et Magnan 1994). De plus, dans cette communauté, plusieurs autres espèces associées à l'eau douce ont été séquencées, comme la ouitouche, le méné émeraude ou la barbotte brune. Cette communauté semble présenter des espèces dulcicoles et migratrices, dont certains taxons migrateurs réussissent à survivre aux changements de température et de salinité dans la couche superficielle leur permettant de coloniser jusqu'au deuxième bassin. La présence des espèces sténohalines dans le deuxième bassin peut aussi être expliquée par la récolte d'ADNe provenant des tributaires du Saguenay, comme expliqué plus haut. Toutefois, leur présence aux stations de Shipshaw et Chicoutimi est justifiée par l'eau douce qui est seulement retrouvée à ces endroits.

Le cinquième groupe possède une très faible richesse spécifique. Il est limité au 2^e bassin et à la Baie, se retrouvant à 100 m et moins. Il est caractérisé par la grande présence des séquences de la morue franche. La morue franche est une espèce marine qui peut vivre à des profondeurs très variables, soit de la surface jusqu'à 457 m (Scott et Scott 1988). Les températures favorables pour l'espèce sont entre -0.5°C et 10°C. Cette communauté se différencie du troisième groupe, par une plus faible dispersion dans la colonne d'eau. Également, elle se retrouve à de plus faibles profondeurs.

Les hypothèses initiales ont été plus ou moins acceptées. Celle stipulant que la composition et la diversité des communautés des poissons varient entre la surface et la profondeur est acceptée. À la surface, des séquences d'espèces migratrices et dulcicoles sont retrouvées. Alors qu'en profondeur, des séquences d'espèces marines vivant à des températures plus froides et salinités plus élevées sont identifiées. Les communautés observées avec l'ADNe sont celles qui étaient attendues avec les différents milieux, ce qui

donne une grande confiance dans les données obtenues par *metabarcoding*. Toutefois, il est plus difficile d'affirmer que les communautés varient entre les trois bassins. En effet, les bassins changent graduellement de conditions environnementales, ce qui ne permet pas de délimiter finement le changement dans la composition des communautés le long du Fjord entre les trois bassins. Cependant, avec les divers groupes, il est possible d'affirmer qu'il y a une variation dans la composition en espèces dans le gradient amont-aval.

LES CONDITIONS ENVIRONNEMENTALES ET LA VARIABILITÉ SPATIALE

Le second objectif spécifique visait à associer la variabilité spatiale observée aux conditions environnementales mesurées. Avec les résultats, il est possible d'affirmer que la distribution des cinq communautés est influencée par certaines conditions environnementales du milieu. Les résultats de la RDA indiquent que 47,39% de la variance entre les échantillons est expliquée par les conditions environnementales. Avec les résultats, il est possible de constater qu'il y a une grande répartition selon la température, la profondeur et la salinité. Ainsi, l'hypothèse initiale a été acceptée. En effet, malgré la complexité des mouvements des masses d'eau dans le Saguenay, les communautés observées corrèlent avec les conditions environnementales attendues, dont la température, la profondeur et la salinité qui contrastent les différents habitats.

La quatrième communauté, dans laquelle on retrouve principalement des séquences à la surface des espèces migratrices et dulcicoles est expliquée davantage par la température. Les températures à la surface sont plus élevées. La température est aussi positivement corrélée avec la fluorescence et l'oxygène dissout. Il y a une plus grande présence d'organismes phototrophes par l'accès plus facile à la lumière solaire (Cavicchioli *et al.* 2019). Ainsi, ceux-ci contribuent à une concentration plus grande d'oxygène dissout. Également, à la surface la salinité est moindre pour le Fjord. Cette corrélation avec ces paramètres correspond bien aux conditions attendues pour ces espèces d'eau douce.

En ce qui concerne la profondeur et la salinité, les communautés 1, 2, 3 et 5 divergent selon l'influence plus ou moins grandes de la turbidité et la conductivité. La première communauté présente des séquences d'espèces marines vivant près de la surface dans les eaux saumâtres de l'aval du Saguenay. Ainsi, cela affirme que la température, la turbidité, la salinité et la profondeur soient des paramètres qui expliquent ce groupe. De ce fait, le groupe se retrouvant à la surface est dans un environnement avec de plus grandes

températures qu'au fond. Toutefois, les températures sont plus froides en aval qu'en amont. Par la suite en aval à la surface, la salinité est plus grande que pour les stations en amont. En ce qui concerne la profondeur et la turbidité, il est possible de retrouver le groupe sous la thermo-halocline pour les stations 5 et 7, en respect à la tolérance des espèces pour la salinité et la température. Ainsi, en amont la communauté ne se retrouve pas à la surface. Avec les résultats, la turbidité à ces endroits est similaire des stations en aval, indiquant une similarité en termes des particules en suspension, affectant la pénétration de la lumière (Brezonik 1978).

La deuxième communauté est constituée d'espèces marines pouvant vivre à de plus ou moins grandes profondeurs et salinité. Les résultats de la RDA vont dans le même sens, ce groupe est particulièrement expliqué par la salinité et la conductivité, avec une moins grande explication pour la profondeur. Le troisième groupe présente des taxons marins pouvant être retrouvés à de grandes profondeurs. La RDA illustre une explication majoritairement par la profondeur et la turbidité. Le cinquième groupe présente des espèces marines, mais avec une faible dispersion des taxons le long du Fjord. Celui-ci est expliqué moins fortement par la salinité et la profondeur que les autres communautés. Ces différences d'explication des paramètres physico-chimiques s'expriment par le fait que la deuxième et cinquième communauté sont retrouvées seulement à de plus faibles profondeurs que la troisième communauté. En grande profondeur, les mesures des paramètres physico-chimique illustrent une turbidité et une salinité plus élevées. Toutefois, le deuxième groupe est seulement retrouvé dans les trois premières stations en aval, indiquant une plus grande explication par la salinité. Alors que la troisième communauté se retrouve à plusieurs stations en amont aussi, où la salinité peut être plus faible. Le cinquième groupe se localise aussi à de faibles profondeurs, mais seulement pour des stations plus au centre du Saguenay, donc plus éloignées de l'embouchure et de Shipshaw.

LIMITATIONS DE L'ÉTUDE

Pour cette étude, ce ne sont pas tous les taxons qui avaient été décrits dans la littérature qui ont été identifiés par *metabarcoding* de l'ADN environnemental. Cela peut s'expliquer par le fait qu'un seul échantillon d'environ 2 litres d'eau a été prélevé par profondeur pour les neuf différentes stations. Il aurait été préférable d'augmenter la taille des échantillons afin d'augmenter le nombre de séquences et également de recenser plus de taxons. Cette suggestion pourrait aussi être appliquée pour les échantillons en profondeur, qui sont moins riches en matière organique, et de ce fait moins d'ADNe. En effet, il a été observé que moins de séquences ont été répertoriées sous la thermo-halocline. Également, il serait

intéressant de se questionner si la variation plus accrue des températures et de la salinité, à la thermo-halocline, influence la qualité des séquences et leur dégradation. De plus, le nombre de stations ciblées pourrait augmenter pour avoir un meilleur portrait de la distribution des communautés. La qualité et l'identité des séquences obtenues sont, avec le metabarcoding, très influencée par l'amorce universelle utilisée. Par exemple, l'amorce utilisée (MiFish-U) cible majoritairement les téléostéens et peut amplifier certains élasmobranches, toutefois l'amorce MiFish-E a été spécifiquement développée pour cibler plus spécifiquement ces taxons (Miya *et al.* 215). Ainsi, l'absence de ces taxons est plutôt liée à ce choix méthodologique qu'à leur absence dans le milieu. Afin d'améliorer ce point, il pourrait être envisagé d'utiliser les deux amorces lors de l'amplification de l'ADNe des échantillons, de manière indépendante ou en multiplex (plusieurs amorces simultanément). Également, il pourrait être possible d'échantillonner à différentes saisons afin d'y retrouver les espèces migratrices qui peuvent être absente pendant l'été. De plus, le manque de séquences de référence dans la banque de données influence directement la capacité d'identification. Ultimement, il serait à envisager de séquencer plus d'espèces afin d'augmenter la fiabilité des identifications.

CONCLUSION

L'étude de la distribution latitudinale et longitudinale, et de la diversité des communautés du Saguenay ont été réalisées avec l'aide des analyses de *metabarcoding*. Au départ, la littérature décrivait 76 espèces dans le Saguenay. Les analyse de l'ADNe ont identifiées 59 taxons, dont 22 qui ne figuraient pas dans la littérature. Des études plus approfondies devront être envisagées pour approfondir ces résultats et valider la présence des différents taxons obtenus avec l'ADNe. Également, cinq communautés ont été identifiées. Celles-ci sont influencées par différents paramètres physico-chimiques. Une plus forte présence de taxons marins a été retrouvée en aval qu'en amont, comme attendu. Alors que plus de taxons dulcicoles sont retrouvés en amont et à la surface des eaux du Saguenay. Ainsi, les espèces se répartissent principalement selon la salinité, la profondeur et la température. Ensuite, la diversité et la composition des communautés varient selon la profondeur. Toutefois, l'hypothèse indiquant qu'il y aurait une distribution distinguable des communautés pour les trois bassins a été réfutée. Cependant, il est possible d'affirmer que les communautés diffèrent graduellement de l'embouchure du Saguenay jusqu'à l'amont du site d'étude (Shipshaw). La présence de ces communautés identifiées par metabarcoding est donc probablement résultat du mouvement des eaux et des conditions environnementales, représentant un portait très similaire à ce qui aurait pu être obtenu par des pêches avec les méthodes traditionnelles. À la suite de ces résultats, il sera plus facile d'identifier les sites qui sont les plus à risques d'une perte de biodiversité face à des perturbations qui modifient la salinité et la température d'un milieu. Dans l'optique d'adopter de meilleurs plans pour la conservation et de la gestion de la biodiversité. Cela est particulièrement intéressant dans le contexte des changements climatiques qui risquent d'augmenter la température des eaux, et influencés indirectement sur la salinité dans l'écosystème du Saguenay.

RÉFÉRENCES

- Arai T, Ueno D, Kitamura T et Goto A. 2020. Habitat preference and diverse migration in threespine sticklebacks, *Gasterosteus aculeatus* and *G. nipponicus*. Scientific reports, 10: 143311
- Belzile M, Galbraith PS et Bourgault D. 2016. Water renewals in the Saguenay Fjord. Journal of Geophysical Research: Oceans, 120: doi:10.1002/2015JC011085.
- Bougas B, Collin LP, Normandeau E et Moore JS. 2023. Analyse métagénomique en 12S et COI des échantillons d'ADNe prélevés dans les lacs du parc de la Gaspésie (Québec) pour le projet CREA. Institut de Biologie Intégrative et des Systèmes, Université Laval, Québec, 10 p.
- Brezonik LP. 1978. Effect of organic color and turbidity of Secchi disk transparency. Journal of the Fisheries Research Board of Canada, 35: 1410- 1416.
- Buxton AS, Groombridge JJ et Griffiths RA. 2018. Seasonal variation in environmental DNA detection in sediment and water sample. PLoS ONE, 13: e0191737
- Caron F, Laporte M et Bernatchez L. 2022. Inventaire ichtyologique du bassin versant de la zone du Chêne et de la forêt de la Seigneurie de Lotbinière au moyen de l'ADN environnemental. Le Naturaliste canadien, 146 : 3- 18.
- Cavicchioli R, Ripple WJ, Timmis KN, Azam F, Bakken LR, Baylis M, Behrenfeld MJ, Boetius A, Boyd PW, Classen AT, Crowther TW, Danovaro R, Foreman CM, Huisman J, Hutchins DA, Jansson JK, Karl DM, Koskella B, Mark Welch DB, Martiny JBH, Moran MA, Orphan VJ, Reay DS, Remais JV, Rich VI, Singh BK, Stein LY, Stewart FJ, Sullivan MB, van Oppen MJH, Weaver SC, Webb EA, Webster NS. 2019. Scientists' warning to humanity: microorganisms and climate change. Nature Reviews Microbiology, PubMed PMID: 31213707.
- Cilleros K, Valentini A, Allard L, Dejean T, Etienne R, Grenouillet G, Iribar A, Taberlet P, Vigouroux R et Brosse S. 2019. Unlocking biodiversity and conservation studies in high-diversity environments using environmental DNA (eDNA): A test with Guianese freshwater fishes. Molecular Ecology Resources, 19: 27-46.
- Diab G. 2009. Croissance et recrutement larvaire de l'éperlan arc-en-ciel dans le fjord du Saguenay. Mémoire de maîtrise, Université du Québec à Chicoutimi, Chicoutimi, 67 p.
- Drainville G. 1968. Le Fjord du Saguenay : I. Contribution à l'océanographie. Le Naturaliste Canadien, 95: 810-855.
- Drainville G. 1970. Le fjord du Saguenay : II. La faune ichtyologique et les conditions écologiques. Le Naturaliste Canadien, 97: 623-666.
- Fahay MP. 2007. Early stages of Fishes in the Western North Atlantic Ocean. Northwest Atlantic Fisheries Organization, Dartmouth, Northwest Atlantic Fisheries Organization, Dartmouth, 931 p.
- Fedorov VV. 1986. Cottidae. Dans Whitehead PJP *et al.* eds. Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean. UNESCO, Paris, p. 1243 – 1260.

Gauthier J. 2018. Le programme de suivi de la pêche récréative hivernale aux poissons de fond dans le fjord du Saguenay : un effort collectif. *Le Naturaliste canadien*, 142: 115 – 126.

Geneviève Parent, MPO, *communication personnelle*, 2023.

Holmlund CM et Hammer M. 1999. Ecosystem services generated by fish populations. *Ecological Economics*, 29: 253-268.

Hufnagel L. 2022. *Biodiversity of Ecosystems*. IntechOpen, London, 222 p.

Irfan S et Alatawi AMM. 2019. Aquatic Ecosystem and Biodiversity: A Review. *Open Journal of Ecology*, 9: 10.4236/oje.2019.91001

Lacasse S et Magnan P. 1994. Distribution post-glaciaire de l'omble de fontaine dans le bassin hydrographique du fleuve Saint-Laurent: Impact des interventions humaines. *Laboratoire de recherche sur les communautés aquatiques*, Université du Québec à Trois-Rivières, Québec, 83 p.

Laporte M, Reny-Nolin E, Chouinard V, Hernandez C, Normandeau E, Bougas B, Côté C, Behmen S et Bernatchez L. 2021. Proper environmental DNA metabarcoding data transformation reveals temporal stability of fish communities in a dendritic river system. *Environmental DNA*, 3 : 1007-1022.

Lévêque C et Mounolou JC. 2008. *Biodiversité : Dynamique biologique et conservation*. Dunod, Paris, 259 p.

Levrel H. 2006. *Biodiversité et développement durable : quels indicateurs?* Thèse de doctorat, École des hautes études en sciences sociales, Paris, 406 p.

Maltais P. 2015. *Description de projet : Terminal maritime en rive nord du Saguenay*. Administration portuaire du Saguenay, La Baie, 60 p.

Masuda H, Amaoka, K, Araga C, Uyeno T et Yoshino T. 1984. *The fishes of the Japanese Archipelago*. Tokai University Press, Tokyo, 437 p.

Mathon L, Guérin P-E, Normandeau E, Valentini A, Noel C, Lionnet C, Linard B, Thuiller W, Bernatchez L, Mouillot D, Dejean T, Manel S. 2021. Benchmarking bioinformatic tools for fast and accurate eDNA metabarcoding species identification. *Molecular Ecology Resources*, 21: 2565-2579.

Miya M, Sato Y, Fukunaga T, Sado T, Poulsen JYm Sato K, Minamoto T, Yamamoto S, Yamanaka H, Araki H, Kondoh M et Iwasaki W. 2015. MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: detection of more than 230 subtropical marine species. *Royal Society Open Science*, 22: 150088

Miya M, Gotoh RO et Sado T. 2020. MiFish metabarcoding: a high-throughput approach for simultaneous detection of multiple fish species from environmental DNA and other samples. *Fisheries Science*, 86 : 939-970.

Mousseau. P et Armellin. A. 1995. *Synthèse des connaissances sur les communautés biologiques du*

Saguenay. Environnement Canada, Conservation de l'environnement, Québec, 256 p.

Musée du fjord, envoi d'une liste Excel par Myriam Coulombe tirée du MPO, *communication personnelle*, 2004.

Musée du fjord. 2019. Les espèces du fjord du Saguenay : Les poissons les plus pêchés et des spécimens qui peuvent vous surprendre! Consulté le 2023-05-29, <https://contact-nature.ca/wp-content/uploads/2021/04/Poissons-du-fjord-2021.pdf>

Naeem S, Thompson LJ, Lawler SP, Lawton JH et Woodfin RM. 1994. Declining biodiversity can alter the performance of ecosystems. *Nature*, 368: 734- 737.

NCBI. 2021. *Liparis miostomus* mitochondrial genes for 12S rRNA, tRNA-Val, 16S rRNA, partial and complete sequence, specimen_voucher: CBM:ZF:17887. Consulté le 26 mars 2024, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/2005592611>

Normandeau E. (2024). Barque. Consulté le 26 mars 2024, https://github.com/enormandeau/barque/blob/master/03_databases/12S_common_names.csv

Olivier Morissette, Ph. D. Biologie aquatique, *communication personnelle*, 2023.

Page LM et Burr BM. 2011. Peterson field guide to freshwater fishes of North America north of Mexico. Houghton Mifflin Harcourt, Boston, 663 p.

R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, <https://www.R-project.org/>.

Robins CR et Ray GC. 1986. A field guide to Atlantic coast fishes of North America. Houghton Mifflin Company, Boston, 354 p.

Ruan HT, Wang RL, Li, HT, Liu L, Kuang TX, Li M, Zou KS. 2022. Effects of sampling strategies and DNA extraction methods on eDNA metabarcoding: A case study of estuarine fish diversity monitoring. *Zoological Research*, 43: 192-204.

Scallon-Chouinard PM, Dutil JD et Hurtubise S. 2007. Liste des espèces de poissons inventoriés dans l'estuaire maritime du Saint-Laurent entre 1930 et 2005. Pêches et Océans Canada, Direction régionale des Sciences, Mont-Joli, 58 p.

Scott WB et Scott MG. 1988. Atlantic Fishes of Canada. Fisheries and Oceans Canada, Ontario, 731 p.

Sévigny JM, Valentin A, Talbot A et Ménard N. 2009. Connectivité entre les populations du fjord du Saguenay et celles du golfe du Saint-Laurent. *Revue des Sciences de l'Eau*, 22 : 315-339.

Sylvain, G. 1988. La pêche blanche à ville de la Baie: Étude du milieu environnemental et rétrospective de l'année 1987-1988. Action Baieriveraine, La Baie, 128 p.

Taberlet P, Coissac E, Hajibabaei M et Rieseberg LH. 2012. Environmental DNA. *Molecular ecology*, 21 : 1789- 1793.

Valdivia-Carrillo T, Rocha-Olivares A, Reyes-Bonilla H, Dominguez-Contreras JF et Munguia-Vega A. 2021. Integrating eDNA metabarcoding and simultaneous underwater visual surveys to describe complex fish communities in a marine biodiversity hotspot. *Molecular Ecology Resources*, 21 : 1558 – 1574.

Vanpeene-Bruhier S, Moyne ML et Brun JJ. 1998. La richesse spécifique : un outil pour la prise en compte de la biodiversité dans la gestion de l'espace : Application en Haute Maurienne (Aussois, Savoie). *Ingénieries- EAT*, 15 : 47-59.

ANNEXES

Annexe 1 : Espèces décrites dans le fjord du Saguenay recensées dans la littérature et leur classe écologique.

Migratrice	Marine	Dulcicole
Alose savoureuse Anguille d'Amérique Bar rayé Éperlan arc-en-ciel Épinoche à deux épines Épinoche à neuf épines Épinoche à trois épines Esturgeon noir Gaspereau Omble de fontaine Poulamon Atlantique Saumon Atlantique	Agone atlantique Aiglefin Baudroie d'Amérique Capelan Chaboisseau à épines courtes Cotte polaire Crapaud de mer nain Crochet atlantique Faux-Trigle maillé Flétan de l'Atlantique Flétan du Groenland Goberge Grosse poule de mer Hareng Atlantique Hémiptère Atlantique Lamproie marine Lançons d'Amérique Limace Limace à longues nageoires Limace du Groenland Limace marbrée Limande à queue jaune Lompénie serpent Loup à tête large Loup atlantique	Loquette d'Amérique Loup tacheté Lycode arctique Lycode de Laval Lycode pâle Lycode polaire Lycode Vahl Merluche blanche Merluche écureuil Morue franche Morue ogac Morue Saïda Motelle à quatre barbillons Petite limace de mer Petite poule de mer Plie Canadienne Plie grise Plie lisse Plie rouge Poisson-alligator atlantique Raie épineuse Requin du Groenland Sébaste acadien Sébaste atlantique Sigouine de roche Tricorne arctique Uernak\ Anguille de mer
		Achigan à petite bouche Cisco de l'est Doré jaune Fondule barré Fouille-roche zébré Grand brochet Grand corégone Meunier noir Meunier rouge Ouitouche Perchaude

Annexe 2 : Séquences 5' – 3' des amorces MiFish-U-F et MiFish-U-R utilisées dans la PCR pour cibler le gène mitochondrial 12S.

Amorces	Direction	Séquences 5'-3'	Référence
MiFish-U-F	Sens	GTCGGTAAACTCGTGCCAGC	Miya <i>et al.</i> 2015
MiFihsh-U-R	Anti-sens	CATAGTGGGGTATCTAATCCCAGTTTG	Miya <i>et al.</i> 2015

Annexe 3 : Répartition des classes écologique des taxons séquencés avec le *metabarcoding* dans les échantillons prélevés en aout 2023 dans le Saguenay.

Migratrice	Marine	Dulcicole
Anguille d'Amérique Bar rayé Éperlan arc-en-ciel Épinoche à trois épines Omble de fontaine Poulamon atlantique Saumon atlantique	Capelan Ammodytes sp. Careproctus sp. Chaboisseau à épines courtes Cyclothone à petites dents Eumicrotremus sp. Flétan du Groenland Grosse poule de mer Hameçon atlantique Hameçon neigeux Hareng Atlantique Limace marbrée <i>Liparis miostomus</i> Liparis sp. Loquette d'Amérique Lycode du Labrador Lycode polaire Lycode Vahl Maquereau Merluche blanche Morue franche Morue ogac Motelle à quatre barbillons Pleuronectidae Poisson-alligator atlantique Quatre-lignes atlantique Sebastes sp. Tricorne arctique Unernak Sigouine de roche Raie épineuse	Achigan à petite bouche Barbotte brune Cisco de lac Cottus sp. Doré jaune Fondule barré Fouille-roche zébré Grand brochet Grand corégone Méné à nageoires rouges Méné émeraude Méné jaune Meunier noir Meunier rouge Naseux des rapides Osmico Ouitouche Perchaude Mulet à cornes Mulet de lac Mulet perlé