

**EVALUATION DE LA CONTRIBUTION DES INDIVIDUS ISSUS DE REPRODUCTION
NATURELLE AUX EFFECTIFS DE SAUMONS ATLANTIQUES ACCOMPLISSANT
LEUR MIGRATION ANADROME SUR L'AXE DORDOGNE.**

Année 2020

O.MENCHI, I. CAUT, S.BOSC



M I G A D O

RESUME

EVALUATION DE LA CONTRIBUTION DES INDIVIDUS ISSUS DE REPRODUCTION NATURELLE AUX EFFECTIFS DE SAUMONS ATLANTIQUES ACCOMPLISSANT LEUR MIGRATION ANADROME SUR L'AXE DORDOGNE.

Depuis 2007, pour la première fois en France, une étude utilisant les dernières innovations en matière de génie génétique est réalisée à l'échelle d'un bassin versant, celui de Gironde-Garonne-Dordogne. Elle est mise en œuvre dans le cadre d'un plan de restauration d'espèce.

Bergerac

71 familles constituées lors de la saison de reproduction 2019-2020 avec :

- 30 géniteurs ont participé à leur première reproduction au centre (issus des piégeages 2019)
- 58 géniteurs déjà utilisés les années précédentes puis reconditionnés



Castels

37 familles constituées lors de la saison de reproduction 2019-2020 avec :

- Plus de 500 primo-reproducteurs ont participé à leur première reproduction et ont été génotypés.
- Près de 300 géniteurs déjà utilisés les années précédentes

Assignation

La base de données compte aujourd'hui 15 000 géniteurs et 1 260 migrants.

Sur les 748 saumons génotypés entre 2010 et 2016, 485 sont assignés à des géniteurs de pisciculture :
243 originaires du bassin de la Dordogne
242 originaires du bassin de la Garonne

Objectifs de l'étude

Les bénéfices pour le programme Saumon sont multiples :

- Evaluer la contribution de la reproduction naturelle au sein d'un échantillon de géniteurs migrants ;
- Evaluer le « succès » (en termes de représentation) des poissons déversés en fonction de leur site de production et/ou de déversement ;
- Améliorer les pratiques en cours dans les centres de production ;
- Mieux cerner les pistes de travail à privilégier pour les années à venir.

Principales améliorations constatées sur l'année

Sur les 748 saumons génotypés entre 2010 et 2016, 485 sont assignés à des géniteurs de pisciculture donc originaires des structures de productions pour le repeuplement. Il est possible de retrouver leur bassin d'origine à l'aide des données issues des plans d'alevinages. Tous les bassins identifiés à enjeu fort pour l'espèce ont produit des géniteurs de retour.

Les résultats sont encourageants car ils signifient que non seulement les repeuplements fonctionnent mais, qu'en plus, la reproduction naturelle est effective (poissons non assignés aux géniteurs de pisciculture).



Bilan axes de travail/perspectives

Depuis 2008, la base de données génétiques compte près de 15 000 géniteurs et 1 260 migrants. La traçabilité des juvéniles issus des piscicultures MIGADO et le suivi des pratiques de repeuplement permettent de mieux comprendre le fonctionnement de la population.

Une synthèse globale des résultats a été faite en 2020. Un premier article scientifique a été publié par la revue Aquatic Living Resources*. Un deuxième article sera publié fin 2021. *(Can we identify wild-born salmon from parentage assignment data ? A case study in the Garonne-Dordogne rivers salmon restoration programme in France.)

RESUME

Depuis 2007, pour la première fois en France, une étude utilisant les dernières innovations en matière de génie génétique est réalisée à l'échelle d'un bassin versant, celui de Gironde-Garonne-Dordogne. Elle est mise en œuvre dans le cadre d'un plan de restauration d'espèce. Les bénéfices pour le programme Saumon sont multiples :

- Evaluer la contribution de la reproduction naturelle au sein d'un échantillon de géniteurs migrants ;

- Evaluer le « succès » (en termes de représentation) des poissons déversés en fonction de leur site de production et/ou de déversement ;

- Améliorer les pratiques en cours dans les centres de production ;

- Mieux cerner les pistes de travail à privilégier pour les années à venir.

L'analyse des premières données récoltées montre que :

- parmi les géniteurs échantillonnés, toutes les rivières identifiées comme à enjeu pour l'espèce sont représentées dans la détermination de l'origine ;

- un nombre significatif de géniteurs sont d'origine naturelle et donc nés dans la rivière.

Ces résultats sont encourageants car ils signifient que non seulement les repeuplements fonctionnent mais, qu'en plus, la reproduction naturelle est effective.

SOMMAIRE

RESUME	I
SOMMAIRE	II
TABLE DES ILLUSTRATIONS	III
INTRODUCTION	1
DESCRIPTION DE L'ETUDE	2
1 LA TECHNIQUE D'ASSIGNATION PARENTALE.....	2
1.1 Définition.....	2
1.2 Méthode	2
2 DESCRIPTIF DE L'ETUDE REALISEE PAR MIGADO	4
2.1 Présentation.....	4
2.2 Partenariat	5
2.3 DEMARCHE TECHNIQUE.....	6
2.3.1 Rappel de l'organisation de la production MIGADO (Fig. 4).....	6
2.3.2 Constitution des familles.....	8
2.3.3 Déroulement des reproductions artificielles	9
2.3.4 Analyse génétique des parents élevés en pisciculture.	10
3 PREMIERS RESULTATS ET PERSPECTIVES.....	12
3.1 Génotypage des cheptels de géniteurs de la saison de reproduction 2018-2019	12
3.2 Assignation parentale des géniteurs migrants dans la Dordogne.....	13
CONCLUSION.....	14
BIBLIOGRAPHIE	15

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 : Restauration du saumon sur le Bassin Garonne Dordogne ; secteurs de repeuplement, piscicultures et stations de contrôle à la montaison.....	4
Figure 2 : Déroulement et principales étapes de l'étude d'assignation parentale	5
Figure 3 : Dynamique de la collaboration inter structures dans le projet.....	6
Figure 4 : Organisation de la production de Saumon atlantique à MIGADO.....	7
Figure 5 et Figure 6: Stripping pour la récolte des gamètes des femelles (à gauche) et d'un mâle (à droite).	11
Figure 7: Stockage de la semence de 30 mâles avant fécondation des œufs.	11
Figure 8 et Figure 9 : Pose d'une puce sous-cutanée (à gauche) pour identification et prélèvement d'un échantillon de nageoire pour génotypage (à droite).....	11
Figure 10 : Répartition des géniteurs migrants en fonction de leur origine natale sur l'axe Dordogne (résultats provisoires des migrants 2010-2016)	13
Tableau 1 : En-tête de la base de données d'enregistrement des croisements de géniteurs.	8
Tableau 2 : Quantité de géniteurs en reproduction dans les piscicultures Dordogne et nombre de familles constituées.	12
Tableau 3 : Composition du cheptel de reproducteurs saison 2019-2020 à Castels..	12
Tableau 4 : Composition du cheptel de reproducteurs saison 2019-2020 à Bergerac	12
Tableau 5 : Bilan des effectifs de saumons génotypés par classe d'âge et proportion de la population génotypée (résultats provisoires des migrants 2010-2016).....	13

INTRODUCTION

Les campagnes de marquage par ablation d'adipeuse ou par micromarque nasale réalisées ces dernières années ont permis de confirmer le retour d'individus issus du repeuplement sur le bassin. Cependant, il n'existait pas sur le bassin Gironde-Garonne-Dordogne de moyen pour déterminer de façon indéniable si les saumons adultes remontant dans nos cours d'eau étaient issus de reproduction naturelle. Cette question était d'autant plus importante que l'objectif du plan de restauration de l'espèce est, en premier lieu, de parvenir à amener un effectif suffisant de géniteurs adultes à se reproduire dans le milieu naturel et enfin de tendre vers une population la plus autonome possible.

L'effort réalisé depuis près de 30 ans par les organismes travaillant à la protection des poissons migrateurs, et notamment l'association MIGADO, permet aujourd'hui de cerner les menaces qui pèsent sur les saumons durant leur phase dulçaquicole. Celles-ci sont nombreuses et touchent l'espèce (principalement les jeunes stades) et sont de deux sortes : d'une part, celles qui portent atteinte au bon déroulement des phases biologiques précoces (notamment lors de la phase embryo-larvaire) et de la phase de croissance des juvéniles (dégradation des habitats, éclusées, ...) et, d'autre part, celles qui portent atteinte à la libre circulation de l'espèce (mortalités à la dévalaison et inaccessibilité des habitats, captures accidentelles à la migration...). Ainsi, l'impact des pressions cumulées d'origine anthropique nuit de façon récurrente à la survie des jeunes saumons atlantiques et, plus particulièrement, à ceux nés naturellement en rivière et, par conséquent, au nombre de saumons adultes de retour. De plus, demeure la question de leur participation réelle au renouvellement de la population.

Pour répondre à ces interrogations, il était nécessaire de réaliser une étude qui pouvant permettre de distinguer, parmi les géniteurs de retour, les individus nés en rivière de ceux produits dans les piscicultures de repeuplement gérées par MIGADO. Parmi les nouvelles techniques mises au point, la méthode la plus adaptée pour ce type d'étude est l'assignation de parenté ou « le marquage génétique ». Cette technique permettra en outre : d'évaluer le repeuplement, d'évaluer l'impact génétique sur la population sauvage, d'évaluer le niveau de reproduction naturelle et de donner les préconisations à suivre en termes de pratiques d'élevage et de stratégie de repeuplement pour la suite du programme de restauration de l'espèce.

Des études génétiques ont été développées ces dernières années pour mieux comprendre l'évolution des populations de poissons migrateurs. En France, le programme Génésalm (2006-2008) a montré que les populations de saumon atlantique étaient structurées par bassin versant. Celle du bassin Garonne-Dordogne (bassin GD) présente un profil original résultant d'un métissage des souches retrouvées dans l'Allier et l'Adour ; reflétant bien la stratégie de repeuplement initialement utilisée (Guyomard, 2008). Depuis 2008, une étude utilisant les dernières innovations en matière de génie génétique a été lancée à l'échelle d'un bassin versant Garonne-Dordogne. Elle est mise en œuvre par l'association MIGADO et est réalisée dans le cadre d'un partenariat technique entre l'Office Français de la Biodiversité, le Syndicat des Sélectionneurs Avicoles et Aquacoles Français, l'Institut National de la Recherche Agronomique de Jouy en Josas, et le laboratoire LABOGENA.

Elle s'inscrit dans le cadre des plans de restauration du saumon atlantique sur les bassins de la Garonne et de la Dordogne financés par l'Europe (fonds FEDER), l'Agence de l'Eau Adour Garonne, la Région Nouvelle Aquitaine et le Département de la Corrèze. Ce travail doit permettre l'évaluation des actions de repeuplement (mesure SS01 du PLAGEPOMI 2015-2019).

DESCRIPTION DE L'ETUDE

Le présent rapport regroupe une présentation générale du protocole et de la technique mis en place à l'échelle du Bassin Garonne Dordogne dans les structures de MIGADO.

1 LA TECHNIQUE D'ASSIGNATION PARENTALE

1.1 Définition

La technique d'assignation parentale permet de déterminer à partir d'échantillons d'ADN, s'il existe une filiation directe entre des géniteurs et leur progéniture. Ex : test de paternité chez l'homme.

D'un point de vue technique, dans notre étude, il suffit donc de prélever un fragment de tissu (ex : nageoire) ou de cellules épithéliales (ex : frottis de l'opercule) d'un individu X, d'en purifier l'ADN, d'en extraire les séquences microsatellites et de les analyser. L'empreinte génétique de X est comparée à celles des parents potentiels ayant participé à la production en pisciculture et dont l'empreinte génétique est connue. Ceci permettra de valider ou non la filiation et cette étape se fera par intégration. Ainsi, dans le panel de couples parentaux possibles, seuls les individus correspondant à 100 % seront identifiés comme issus de repeuplement et, si aucun couple n'est retenu, cela signifie que l'individu X est issu d'une reproduction en milieu naturel (Araki et al 2006).

1.2 Méthode

Elle repose sur des séquences particulières de l'ADN découvertes en 1989 : les séquences microsatellites. Les microsatellites sont des marqueurs génétiques se trouvant dans des zones de l'ADN non codantes. Ils sont caractérisés par la répétition d'un même motif de quelques bases constitutives de l'ADN (A pour adénine, C pour cytosine, G pour guanine et T pour thymine). C'est le nombre de répétitions de ce motif à un locus donné qui diffère entre les individus. On parle de polymorphisme, avec différents allèles possibles à un marqueur microsatellite donné. Ainsi, ce sont de très bons marqueurs pour différencier des individus morphologiquement identiques, un peu comme si chacun possédait naturellement un « code barre » interne unique : l'empreinte génétique.

Pour être valorisés en assignation de parenté, les marqueurs microsatellites choisis doivent présenter un fort polymorphisme au sein de la population d'étude. En effet, plus grand est le nombre d'allèles au marqueur, et plus grand est le nombre de marqueurs, et plus il sera facile de distinguer les individus les uns des autres.

Durant la reproduction et la transmission des gènes parentaux à la descendance, celle-ci reçoit une partie des séquences microsatellites de chaque parent : il en résulte une combinaison de séquences qui lui est propre. Néanmoins, la progéniture conserve une part identifiable de l'empreinte génétique des deux parents.

Pour définir l'empreinte génétique d'un individu, il faut préalablement choisir un « lot » de 10 à 12 séquences microsatellites aux caractéristiques particulières (Estoup et al., 1998). Parmi les 20 séquences connues et utilisées chez le saumon (Paterson et al, 2004 ; Herbingier et al, 2006 ; King et al, 2001), les généticiens du laboratoire LABOGENA en ont sélectionné 12. L'assignation de parenté a pu être conduite en utilisant les génotypes à 9 locus

microsatellites (marqueurs). Dans un premier temps, l’assignation a été faite par exclusion, en utilisant le logiciel Vitassign. Le principe de l’assignation par exclusion consiste à éliminer tous les couples parentaux incompatibles avec le descendant, et en théorie, avec suffisamment de marqueurs polymorphes, tous les couples sauf le vrai couple parental, peuvent être éliminés. Cependant, il est apparu au vu des premiers résultats que la puissance d’assignation du jeu de marqueurs (proportion des couples parentaux « vrais » pouvant être identifiés parmi tous les couples possibles) était largement trop faible pour permettre une assignation sans erreur par la méthode d’exclusion.

Dans le même temps, une nouvelle méthode d’assignation basée sur le maximum de vraisemblance (recherche du couple le plus probable) a été développée (Boichard et al., 2012) et mise en place chez Labogena au travers du logiciel AccurAssign. Avec la même information, cette méthode est plus précise. Pour mieux évaluer la puissance d’assignation concrète du jeu de marqueurs dans les conditions d’utilisation des plans de croisements MIGADO, des tests ont été effectués en utilisant ceux-ci. Ces assignations ont permis de montrer une puissance d’assignation satisfaisante du jeu de marqueurs avec la nouvelle méthode d’analyse. Cependant, la précision n’est pas encore parfaite, et il a été convenu de génotyper les animaux pour 8 marqueurs complémentaires à partir de 2016 pour les migrants et 2017 pour les géniteurs F1. Cependant, la pleine puissance de ces nouveaux génotypages ne sera pleinement réalisée que quand tous les géniteurs potentiels d’une assignation seront génotypés pour les 17 marqueurs.

L’assignation parentale nécessite la connaissance des plans de croisement des années de naissance potentielles des futurs géniteurs prélevés dans le milieu naturel. Or, le nombre d’année en rivière n’est pas connu pour ces individus. Cependant, leur nombre d’hivers passés en mer est déduit de leur taille mesurée aux stations de comptage et confirmée par la lecture d’écailles. La période antérieure correspondant à leur vie en rivière est estimée comme allant d’une à deux années pour ces saumons. De plus, les saumons remontant les rivières du bassin GD ont passé de 1 à 3 hivers en mer. De ce fait, les poissons prélevés l’année N peuvent être issus de reproduction datant de l’année N-5 à l’année N-2.

2 DESCRIPTIF DE L'ETUDE REALISEE PAR MIGADO

Cette étude est présentée dans sa globalité, c'est-à-dire en incluant le volet Garonne, car l'analyse des données doit être faite *in fine* avec l'ensemble des génotypages réalisés pour le bassin Garonne Dordogne. En effet, bien que le saumon ait un homing strict, le phénomène d'égaré est possible entre les deux axes et certains poissons lâchés initialement en Garonne peuvent remonter sur la Dordogne. Si le programme n'avait pas été conduit en parallèle sur les deux axes, certains égarés de leur rivière de déversement auraient pu être déclarés issus de reproduction naturelle car non assignés ; ceci pouvant conduire à une sous-estimation de la contribution des poissons issus de repeuplement.

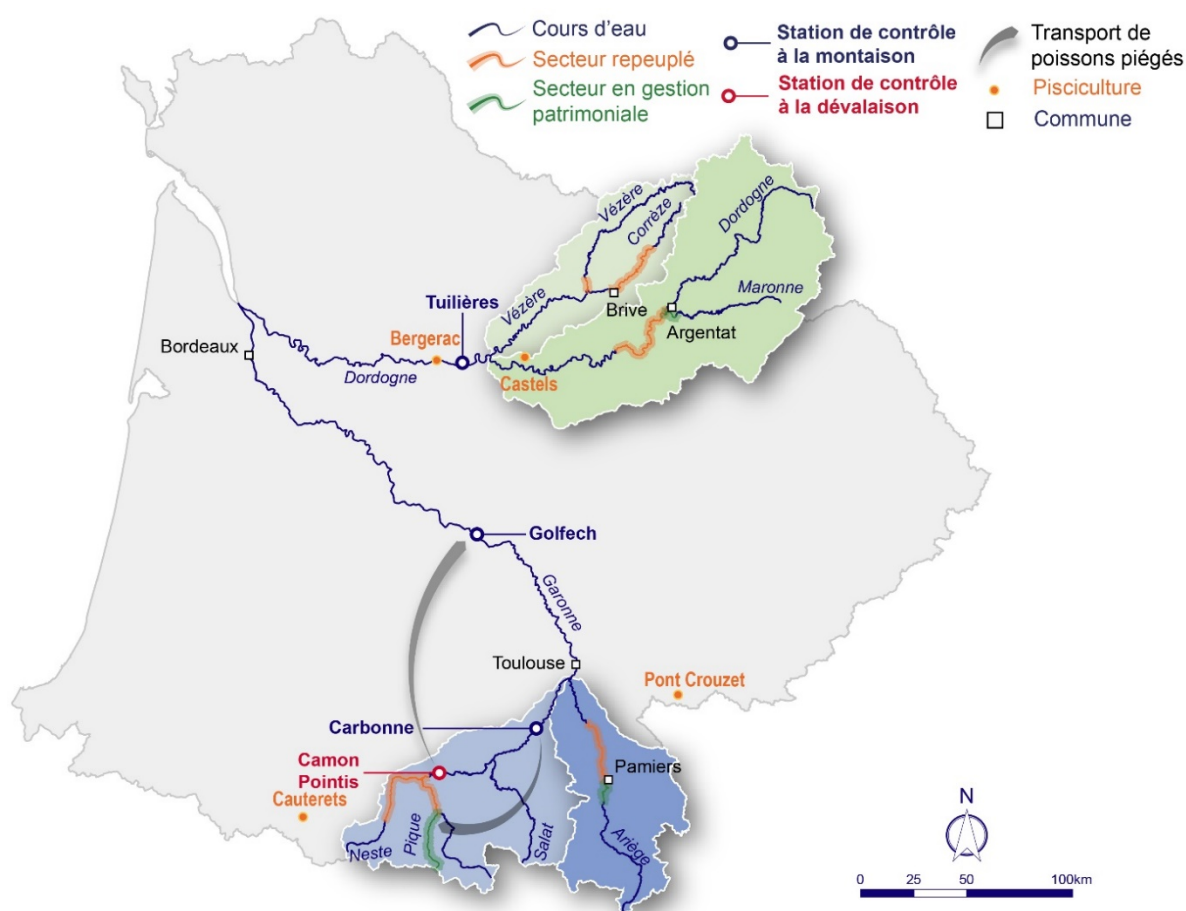


Figure 1 : Restauration du saumon sur le Bassin Garonne Dordogne ; secteurs de repeuplement, piscicultures et stations de contrôle à la montaison

2.1 Présentation

Cette étude a débuté en 2008. Durant les premières années, des échantillons de tissus sont prélevés sur tous les géniteurs utilisés lors des reproductions artificielles sur les sites MIGADO. Ainsi, nous connaissons l'empreinte génétique de tous les poissons ayant permis de produire les œufs, alevins, tacons et smolts de trois années de déversement. Puis, à partir de 2010 et jusqu'à cette année, des prélèvements de tissus et d'écaillés sont réalisés sur les saumons adultes capturés au niveau des pièges de Tuilières et Mauzac sur la Dordogne et de Golfech et Carbonne sur la Garonne. Les tests d'assignation parentale effectués à partir de ces prélèvements, permettent de connaître l'origine de ces saumons et leur âge.



Figure 2 : Déroulement et principales étapes de l'étude d'assignation parentale

2.2 Partenariat

Si l'étude est portée par MIGADO, il s'avérait néanmoins nécessaire au vu des techniques de pointe employées, de faire appel à des structures extérieures spécialisées :

- Le SYSAAF (Syndicat des Sélectionneurs Avicoles et Aquacoles Français) dont les compétences en matière d'élevage et de sélection ont permis d'assurer l'interface avec les généticiens pour la mise en place des protocoles ;

- L'INRA de Jouy-en-Josas qui apporte des compétences scientifiques en matière d'analyse des données génétiques ;

- LABOGENA, laboratoire qui assure toute la partie technique en matière de génie-génétique.

MIGADO assure toute la partie échantillonnage en pisciculture et, sur le terrain, participe à l'analyse des résultats, à leur restitution et mise en perspective vis-à-vis du contexte local.

Les échanges techniques entre les structures participant au projet sont décrits dans la figure 3.

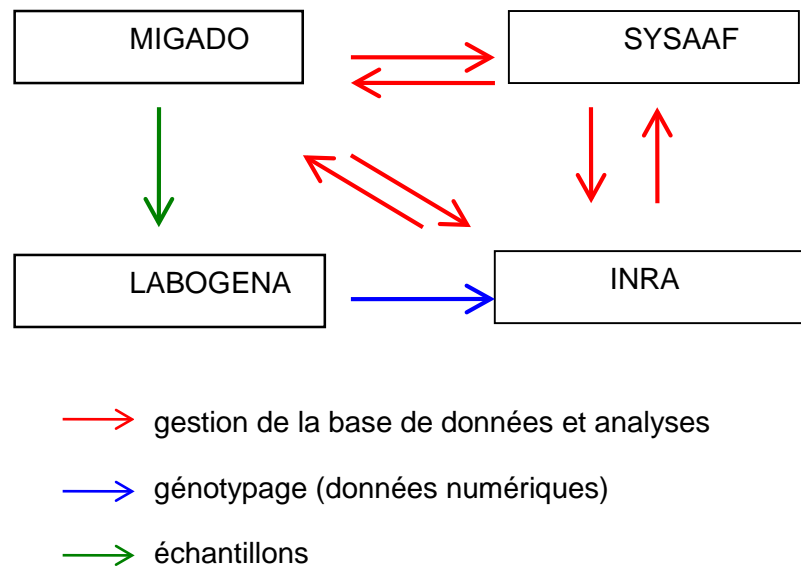


Figure 3 : Dynamique de la collaboration inter structures dans le projet.

2.3 DEMARCHE TECHNIQUE

2.3.1 Rappel de l'organisation de la production MIGADO (Fig. 4)

Les cheptels de géniteurs servant à la production d'œufs de saumon dans les structures gérées par MIGADO sont de natures différentes :

1) le cheptel conservé à la pisciculture de Bergerac (dit F0) est constitué de géniteurs « sauvages » capturés dans le milieu naturel et ayant effectué un cycle biologique complet avec croissance dans les eaux froides de l'Atlantique Nord. Ces effectifs vont de 50 à 140 individus selon les années ;

2) le cheptel élevé à la pisciculture de Castels (dit F1) a été produit à partir d'œufs issus de Bergerac. Ce sont des poissons dits « enfermés de 1ère génération » car ils sont issus de parents sauvages et ont atteint leur maturité sexuelle sans avoir migré en eau salée. Les effectifs sont de 800 à 1200 individus selon les années.

NB : côté Garonne, les juvéniles déversés sont produits à partir d'œufs produits à Bergerac (F0), à Pont-Crouzet (F1 idem Castels) et par des géniteurs « enfermés de 1ère génération » de souche Adour, mais dont la contribution est minoritaire.

Les cheptels de Bergerac et de Castels sont à l'origine de tous les individus déversés sur le bassin de la Dordogne. Cela représente, ces dernières années, environ 500 000 individus déversés en moyenne par an. En termes de génétique (ou plutôt de généalogie), les juvéniles repeuplés en Dordogne sont donc de deux types :

1/ de première génération (F1), c'est-à-dire qu'ils descendent directement de poissons « sauvages » ;

2/ de deuxième génération (F2), c'est-à-dire que leurs grands-parents étaient des poissons sauvages.

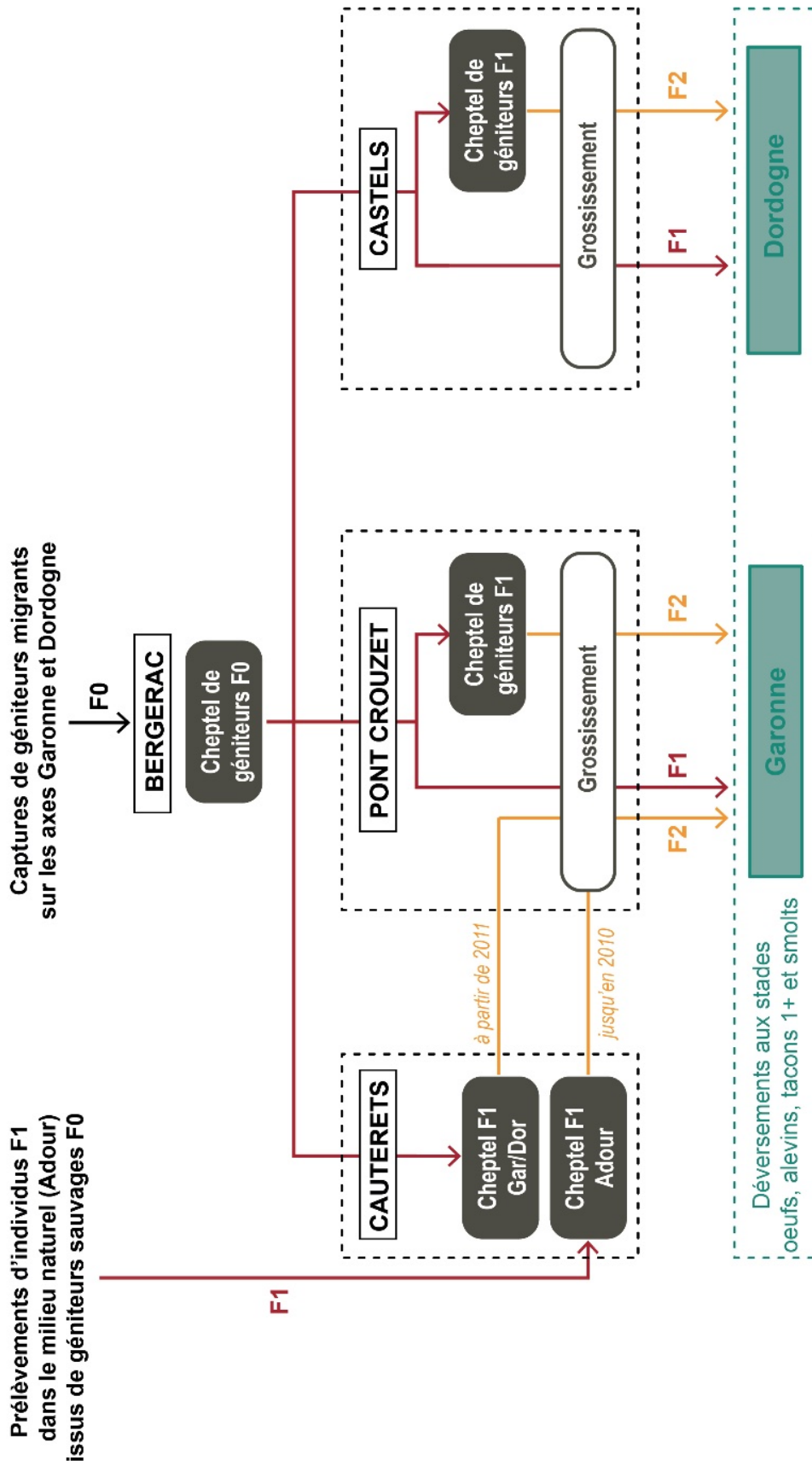


Figure 4 : Organisation de la production de Saumon atlantique à MIGADO.

2.3.2 Constitution des familles

Les cheptels de MIGADO sont constitués d'un ratio mâle/femelle de 0,66 environ, ce qui signifie que, si l'on raisonne à l'échelle du cheptel, le nombre de couples ou de croisements possibles à Bergerac est de l'ordre de 2 200 et de 220 000 à Castels (soit environ 450 000 à l'échelle du bassin). Aussi, pour limiter ces nombres et fiabiliser le processus d'assignation, ont été constituées des « familles » de géniteurs au sein de chaque cheptel. C'est-à-dire que les femelles sont croisées avec un nombre défini de mâles et que ces croisements sont enregistrés.


Le choix des poissons à l'intérieur de chaque famille a été fait, dans un premier temps, pour les femelles en fonction de la synchronisation dans les dates de maturation et, pour les mâles, en fonction de l'âge des femelles matures. Ceci a pour but d'éviter des croisements de poissons potentiellement frères et sœurs. Cette méthode permet non seulement de contrôler et maximiser la diversité génétique des produits, mais aussi d'établir des lots de juvéniles de parents connus. La traçabilité dans les élevages permet ensuite de retrouver les sites de déversement des lots de juvéniles.

Structure quantitative d'une « famille » de géniteurs :

- Centre de Bergerac => 1 femelle est croisée avec 6 à 18 mâles ;
- Centre de Castels => 10 à 15 femelles sont croisées avec 6 mâles.

Les familles et les croisements qui en découlent ont été répertoriés dans une base de données générale sous format Excel (cf. tableau 1) où apparaissent également les dates, lieux de pontes, etc.

Tableau 1 : En-tête de la base de données d'enregistrement des croisements de géniteurs.

		FO Garonne=1 FO Dordogne=2 F1 Garonne/Dor dogne=3 F1 Adour=4	enfermé Garonne- Dordogne=0 enfermé Adour=1 Castillon=2 PHM(2)=3 PHM(3)=4	M=1 F=2 I=3	première ponte=1 deuxième ponte=2 etc.	Pas de repro=0 famille=i	2008=1 2009=2 2010=3	Pont- Crouzet = 1 Cauterets = 2 Castels =3 Bergerac = 4	Inconnu=0 Garonne = 1 Ariège = 2 Dordogne =3 Vézère = 4		
	N°analyseG	Origine géniteur	Qualité	Sexe	Cohorte	Unité génétique	Date de ponte	Année ponte	Lieu de ponte	Numéro de ponte	lieu d'alevinag
1	MISSAG000003	3	0	1	1	1	29/11/2007	1	1	1	2
2	MISSAG000011	3	0	1	1	1	29/11/2007	1	1	1	2
3	MISSAG000016	3	0	1	1	1	29/11/2007	1	1	1	2
4	MISSAG000019	3	0	1	1	1	29/11/2007	1	1	1	2
5	MISSAG000020	3	0	1	1	1	29/11/2007	1	1	1	2
6	MISSAG000021	3	0	1	1	1	29/11/2007	1	1	1	2
7	MISSAG000029	3	0	2	2	1	29/11/2007	1	1	1	2
8	MISSAG000030	3	0	2	2	1	29/11/2007	1	1	1	2
9	MISSAG000031	3	0	2	2	1	29/11/2007	1	1	1	2
10	MISSAG000032	3	0	2	2	1	29/11/2007	1	1	1	2
11	MISSAG000033	3	0	2	2	1	29/11/2007	1	1	1	2
12	MISSAG000034	3	0	2	2	1	29/11/2007	1	1	1	2

2.3.3 Déroulement des reproductions artificielles

2.3.3.1 Bergerac

Dans le centre de reconditionnement de Bergerac, les poissons se voient administrer dès leur arrivée une marque individuelle (transpondeur) qui permet de les reconnaître pendant toute la durée de leur conservation dans le centre. Un échantillon de tissu est prélevé (fig. 9) afin de caractériser leur empreinte génétique.

Une ponte classique se déroule ainsi :

1. Si après le test de maturité, une femelle est déclarée mature, elle est sélectionnée et isolée ;
2. Par ailleurs, en fonction de l'âge de la femelle, des mâles sont sélectionnés, anesthésiés et prélevés ;
3. La semence est récoltée (fig. 6) dans un récipient stérile et conservée à 4°C à l'abri de la lumière ;
4. La femelle mature (anesthésiée) est strippée (fig. 5) c'est-à-dire que l'on extrait les œufs de la cavité abdominale par des massages péristaltiques amples et lents ;
5. Les œufs sont collectés dans une bassine sèche puis égouttés et divisés en sous-lots d'environ 1000 unités ;
6. Chaque sous-lot est fécondé par la semence de deux mâles injectée sur les œufs au moyen d'une seringue ;
7. Les sous-lots sont regroupés et mis à incuber ensemble, cela constituera une famille ;
8. Avant de retourner dans leur bac d'élevage respectif, les poissons sont mesurés, pesés et un échantillon de tissu est prélevé (fig. 9) si nécessaire. En effet, certains poissons peuvent être ré-échantillonnés car l'ADN initialement prélevé n'a pas pu être exploité pour diverses raisons.

2.3.3.2 Castels

Une ponte classique se déroule ainsi :

1. Après test de maturité, un certain nombre de femelles sont déclarées matures ;
2. En fonction du nombre de femelles et de leur âge, des mâles sont choisis, anesthésiés et prélevés ;
3. Chaque récolte de semence est conservée individuellement dans un récipient stérile ;
4. Dix à 15 femelles (anesthésiées) sont strippées, les œufs récoltés sont mélangés dans une grande bassine puis ce « pool » d'œufs est divisé en 3 sous-lots ;

5. Chaque sous-lot est fécondé par la semence de deux mâles, soit 6 en tout, injectée sur les œufs au moyen d’une seringue (fig. 7) ;

6. Les sous-lots sont regroupés et mis à incuber ensemble, cela constituera une famille ;

7. Avant de retourner dans l’étang d’élevage et de se nourrir à nouveau, les poissons sont, comme à Bergerac, marqués individuellement avec une puce (fig. 8) pour les reconnaître l’année suivante et un échantillon de tissu est prélevé afin de caractériser leur empreinte génétique.

2.3.4 Analyse génétique des parents élevés en pisciculture.

Les échantillons prélevés (fig. 9) durant la saison de ponte sont classés et étiquetés suivant la typologie définie dans la base de données (tab. 1). Ils sont ensuite expédiés aux laboratoires de Labogena qui réalise le génotypage de chaque individu (plus d’un millier chaque année pour les deux bassins depuis 2008) selon un protocole éprouvé.

Au terme des trois années de prélèvement, MIGADO disposera d’un fichier référence exhaustif répertoriant tous les croisements réalisés dans les piscicultures gérées par l’organisme.



Figure 5 et Figure 6: Stripping pour la récolte des gamètes des femelles (à gauche) et d'un mâle (à droite).

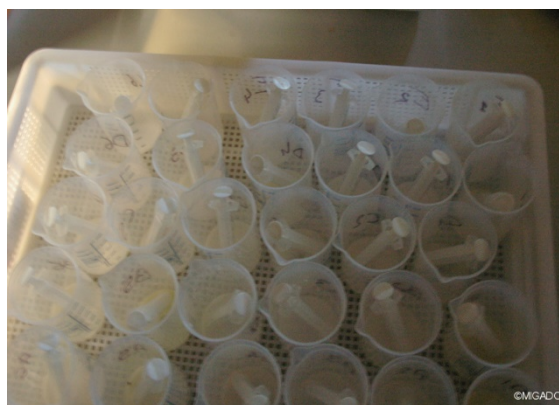


Figure 7: Stockage de la semence de 30 mâles avant fécondation des œufs.



Figure 8 et Figure 9 : Pose d'une puce sous-cutanée (à gauche) pour identification et prélèvement d'un échantillon de nageoire pour génotypage (à droite).

3 PREMIERS RESULTATS ET PERSPECTIVES

Outre le marquage individuel de tous les géniteurs participant à la production de juvéniles, la réalisation de l'action SDGENE a permis des améliorations en termes de technique de production.

3.1 Génotypage des cheptels de géniteurs de la saison de reproduction 2018-2019

Les tableaux ci-dessous présentent les quantités de géniteurs utilisés lors de la production d'œufs 2020 ainsi que le nombre de familles constituées. *A noter que les géniteurs de Bergerac ont été génotypés l'année de leur arrivée au centre pour être assignés et pour tester leur origine.*

Tableau 2 : Quantité de géniteurs en reproduction dans les piscicultures Dordogne et nombre de familles constituées.

Pisciculture	Femelles	Mâles	Famille
Castels	519	264	37
Bergerac	60	28	71

Pour la production 2020 de saumons atlantiques à Castels, 510 primo-reproducteurs ont été utilisés et génotypés. A ces poissons s'additionnent 252 géniteurs ayant déjà été utilisés les années précédentes, le cheptel est donc très jeune. Lors des reproductions, 37 familles ont été enregistrées dans la base de données. *NB : 1 famille = 16 à 22 lignes de saisie de données. Une petite cinquantaine d'individus n'ont pas été utilisés en fin de saison de ponte en raison des températures de l'eau trop élevées pour la période.*

Tableau 3 : Composition du cheptel de reproducteurs saison 2019-2020 à Castels

Nb géniteurs 2019-2020	2013	2014	2015	2016	2017	Total général
Males			8	45	222	275
Femelles	23	32	51	124	324	554
Total général	23	32	59	169	546	829

Tableau 4 : Composition du cheptel de reproducteurs saison 2019-2020 à Bergerac

		2016		2017		2018		2019		TOTAL
		1HM	PHM	1HM	PHM	1HM	PHM	1HM	PHM	
Garonne	Mâle			1	1	1	1	2	5	11
	Femelle	1			4		25		5	35
Dordogne	Mâle					2	8	7		17
	Femelle		3		10		1		11	25
		4		16		38		30		88

3.2 Assignment parentale des géniteurs migrants dans la Dordogne.

Les assignations parentales 2017 et 2019 n'étant pas disponibles lors de la rédaction du présent rapport, les résultats présentés sont les résultats des années 2010 à 2016.

Tableau 5 : Bilan des effectifs de saumons génotypés par classe d'âge et proportion de la population génotypée (résultats provisoires des migrants 2010-2016)

Année	Garonne				Dordogne					
	1HM	2HM	3HM	Total	1HM	2HM	3HM	Total		
2010	7	8	3	18	17,8%	79	10	3	92	48,9%
2011	0	40	7	47	28,5%	0	34	4	38	12,3%
2012	7	14	4	25	18,8%	6	29	4	39	11,1%
2013	0	8	1	9	17,6%	21	13	8	42	20,6%
2014	0	50	2	52	36,6%	0	80	4	84	25,1%
2015	9	81	9	98	44,7%	2	76	4	82	12,2%
2016	13	44	4	61	40,9%	15	39	7	61	10,7%
Total	36	244	30	310	32,3%	123	281	34	438	16,6%

Le tableau ci-dessus fait état d'un bilan provisoire des poissons génotypés dans le cadre de l'étude. Sur les 748 saumons génotypés entre 2010 et 2016, 485 sont assignés à des géniteurs de pisciculture donc originaires des structures de productions pour le repeuplement. Il est possible de retrouver leur bassin d'origine à l'aide des données issues des plans d'alevinages. Tous les bassins identifiés à enjeu fort pour l'espèce ont produit des géniteurs de retour.

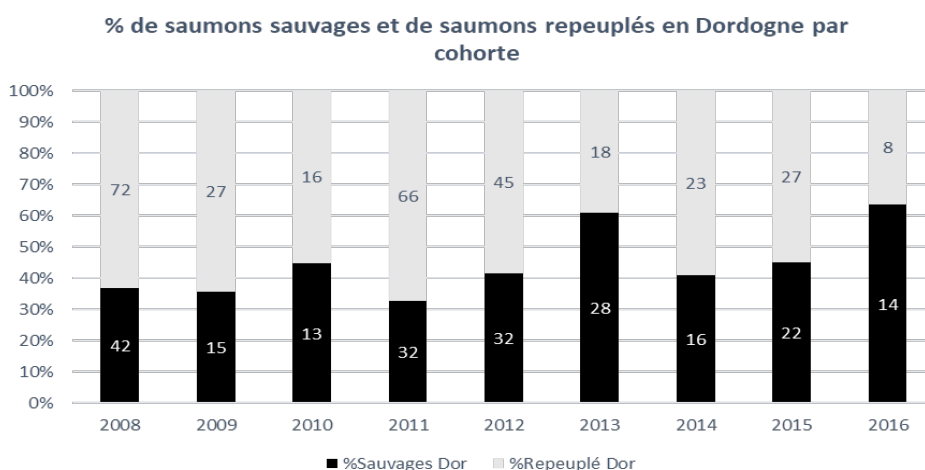


Figure 10 : Répartition des géniteurs migrants en fonction de leur origine natale sur l'axe Dordogne (résultats provisoires des migrants 2010-2016)

L'ensemble des résultats seront présentés dans le document de synthèse dont la publication est planifiée pour le dernier trimestre 2020.

CONCLUSION

Les génotypages des cheptels de géniteurs lors des pontes en pisciculture de 2020 permettront d'assigner les saumons de montaison des années 2021, 2022 et 2023.

Les assignations parentales obtenues jusque-là nous permettent d'identifier clairement les poissons produits en pisciculture.

Depuis 2008, la base de données génétiques compte près de 15 000 géniteurs et 1 260 migrants. La traçabilité des juvéniles issus des piscicultures MIGADO et le suivi des pratiques de repeuplement permettent de mieux comprendre le fonctionnement de la population.

Une synthèse globale des résultats a été faite en 2020. Un premier article scientifique a été publié par la revue *Aquatic Living Resources**. Un deuxième article sera publié fin 2021. *(Can we identify wild-born salmon from parentage assignment data ? A case study in the Garonne-Dordogne rivers salmon restoration programme in France.)

BIBLIOGRAPHIE

Araki H., Ardren W.R., Olsen E., Cooper B. and Blouin M.S. Reproductive success of captive-bred steelhead trout in the wild : evaluation of three hatchery programs in the Hood river. *Conservation Biology* (2006) Volume 21, No. 1, 181–190

Helland M., Dumas J. Ecologie et comportement des juvéniles. In Guegen J.C. et Prouzet P. Le Saumon atlantique, biologie et gestion de la ressource. IFREMER (1994), p.29-46.

Paterson S., S.B. Piertney, D. Knox, J. Gilbey, E. Verspoor .Characterization and PCR mutliplexing of novel highly variable tetranucleotide Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) microsatellites. *Molecular Ecology Notes* (2004) 4, 160-162

Herbinger C.M., P.T. O'Reilly, E. Verspoor. Unravelling first-generation pedigrees in wild endangered salmon populations using molecular genetic markers. *Molecular Ecology* (2006) 15, 2261-2275.

King T.L., S.T. Kalinowski, W.B. Schill, A.P. Spidle, A. Lubinski. Population structure of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) : a range-wide perspective from microsatellite DNA variation. *Molecular Ecology* (2001) 10, 807-821

Estoup A., Gharbi K., Sanchristobal M., Chevalet C., Haffray P. ang Guyomar R. Parentage assignment using microsatellites in Turbot (*Scophthalmus maximus*) and ainbow trout (*Onchorynchus mykiss*) hatchery population. *Can. J. fish Aquat.* (1998) Sci 55 : 715-725

Les données figurant dans ce document ne pourront être exploitées de quelque manière que ce soit, sans l'autorisation écrite préalable de MI.GA.DO. et de ses partenaires financiers.

Opération financée par :



RÉGION
**Nouvelle-
Aquitaine**



Autre partenaire :



Association MIGADO

18 ter rue de la Garonne - 47520 LE PASSAGE D'AGEN - Tel : 05 53 87 72 42 - mail : contact@migado.fr

www.migado.fr

