

SUIVI GENETIQUE PAR ASSIGNATION PARENTALE DES SAUMONS DE RETOUR SUR LE BASSIN DE LA DORDOGNE

Année 2025
S. Bosc ; O. Menchi . I. Caut



M I G A D O

RESUME

Depuis 2008, 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.

Equipe de travail MIGADO

Coordination et Rédaction

Chargés de missions : Stéphane Bosc et Isabelle Caut

Suivi génétique :

Olivier Menchi, Stéphane Bosc

Production salmonicole et repeuplement :

Nicolas Delavaux, Jean Christophe Senamaud, Loïc Guilhen,

Dominique Sage, Alexia Charageat, Julien Bordes, Alexandre Favier, Maxime Martel,

Lénaïk Godinot et Isabelle Caut

SOMMAIRE

RESUME	I
SOMMAIRE	II
TABLE DES ILLUSTRATIONS	III
INTRODUCTION	1
1 DESCRIPTION DE L'ETUDE	2
1.1 Principe de l'étude	2
1.2 Partenariat	3
1.3 Analyses génétiques	3
1.3.1 Prélèvements sur les géniteurs en pisciculture.....	3
1.3.2 Traçabilité de la production.....	4
1.3.3 Rappel de l'organisation de la production MIGADO	5
1.3.4 Déroulement des reproductions artificielles	6
1.3.5 Analyse génétique de la descendance	7
2 RESULTATS	9
2.1 Synthèse des résultats du suivi génétique migrations 2010 à 2023	9
2.1.1 Influence du stade de repeuplement.....	10
2.1.2 Influence du nombre de génération en captivité.....	13
2.1.3 Influence du sous bassin de relâcher.....	14
2.1.4 Taux d'égarement.....	15
2.1.5 Evolution de la part de saumons « nés sauvages » par année de migration...	16
CONCLUSIONS	19
ANNEXE	21

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 : Démarrage et déroulement dans le temps du suivi génétique des saumons	2
Figure 2 : Prélèvement d'un bout de nageoire et marquage par pose sous-cutanée d'un transpondeur.	4
Figure 3 : Secteurs géographiques, piscicultures et stations de piégeages des saumons en lien avec le suivi génétique réalisés sur le bassin Garonne Dordogne.	4
Figure 4 : Les différents stades utilisés pour le repeuplement du bassin Garonne Dordogne : de gauche à droite œufs, alevins, tacons 1+ et smolts 1+.	5
Figure 5 : Organisation de la production de Saumon atlantique à MIGADO.	6
Figure 6 : Passage hebdomadaire et devenir des saumons contrôlés à Tuilières en 2025. Les prélèvements d'ADN ont été effectués sur les saumons piégés transférés à Bergerac et utilisés pour le radio pistage.	8
Figure 7 : Proportion des stades déversés en Dordogne et Garonne entre 2008 et 2019	11
Figure 8 Comparaison des proportions migrants/Eq alevins dont ils sont issus pour chaque stade.....	12
Figure 9 : Proportions d'alevin déversés pour chaque génération utilisée (F1 et F2) sur le bassin Garonne Dordogne de 2008 à 2019	13
Figure 10 : Comparaison des proportions migrants/effectifs repeuplés dont ils sont issus pour chaque génération repeuplée (F1 et F2)	13
Figure 11 : Comparaison des proportions de migrants/ par rapport aux effectifs repeuplés au stade alevin entre 2008 et 2019 dont ils sont issus pour chaque sous bassins repeuplés (égarés compris).....	14
Figure 12 : Proportion de saumons égarés par sous bassin	15
Figure 13 : Proportion et nombre de saumons égarés par année de migration	15
Figure 14 : Proportion de saumons « nés sauvages » et issus du repeuplement (Garonne, Ariège et égarés Dordogne ou Vézère) par année de migration sur le bassin de la Garonne	17
Figure 15 : Proportion de saumons « nés sauvages » et issus du repeuplement (Dordogne, Vézère et égarés Garonne ou Ariège) par année de migration sur le bassin de la Dordogne.....	17
Figure 16 : Effectifs de saumon potentiellement sur frayères par année de migration pour le bassin de la Dordogne	18
Tableau 1 : Nombre de saumons adultes en migration sur le bassin de la Dordogne et de tacons prélevés pour des tests d'assignation.....	8
Tableau 2 : Caractéristiques des échantillons d'ADN prélevés sur les adultes en migration à Golfech et Tuilière entre 2010 et 2023	10
Tableau 3 : Migrants assignés de 2010 à 2023 correspondants aux effectifs d'équivalent alevins repeuplés de 2008 à 2019.	12

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 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 de reproduction, captures accidentelles...). 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. Cette technique permet en outre d'évaluer le repeuplement et de mesurer le niveau de reproduction naturelle. Ces informations sont primordiales pour 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.

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 (OFB), le Syndicat des Sélectionneurs Avicoles et Aquacoles Français (SYSAAF), l'Institut National de la Recherche pour l'Agriculture, l'alimentation et l'Environnement (INRAE) et les laboratoires LABOGENA et GENTYANE.

1 DESCRIPTION DE L'ETUDE

Le présent rapport regroupe une présentation générale du protocole et des résultats de l'étude mise en place à l'échelle du Bassin Garonne Dordogne dans les structures de MIGADO.

1.1 Principe de l'étude

Cette étude a pour objectif l'évaluation de l'efficacité du programme de repeuplement en saumon atlantique réalisé sur le Bassin Garonne Dordogne. La technique d'assignation parentale, basée sur l'ADN des poissons a été utilisée pour connaître l'origine des saumons remontant sur le Bassin. Les bénéfices attendus sont multiples. Ce suivi génétique doit permettre de connaître la contribution des actions de repeuplement et la part de la reproduction naturelle dans la population de saumons de retour. Dans un second temps et selon les résultats obtenus, ce travail doit permettre une optimisation des stratégies de repeuplement et une amélioration des pratiques dans les piscicultures.

La technique d'assignation parentale utilisée demande plusieurs étapes :

- Le prélèvement d'ADN sur l'ensemble des géniteurs et l'enregistrement des croisements réalisés lors des pontes dans les piscicultures produisant les œufs de saumon destinés aux opérations de repeuplement du Bassin Garonne Dordogne.

- Le prélèvement d'ADN sur un échantillon représentatif des saumons adultes entrant dans le bassin Garonne Dordogne afin de s'y reproduire.

- Le génotypage de tous les prélèvements d'ADN réalisés et l'utilisation du logiciel d'assignation pour retrouver la filiation de chaque saumon échantillonné en montaison.

L'interprétation des résultats n'est possible que si la traçabilité des différents lots de saumon repeuplés aux différents stades est bien respectée.

Cette étude a débuté en 2008 (Figure 1). Des échantillons de tissus sont prélevés sur tous les géniteurs de saumons participant à la production de juvéniles destinés au repeuplement du bassin Garonne et Dordogne. L'empreinte génétique de chaque poisson ayant permis de produire les œufs, alevins, tacons et smolts destinés au repeuplement est ainsi connue. Il est nécessaire de conduire en parallèle ce suivi sur les deux bassins car, bien que le saumon ait un homing strict, le phénomène d'égarement est possible entre les deux axes. Si l'étude avait eu lieu sur un seul bassin, les saumons égarés de leur rivière d'origine auraient pu être classés comme issus de la reproduction naturelle car non assignés et donc conduire à une sous-estimation de la contribution des poissons de repeuplement dans la population naturelle.



Figure 1 : Démarrage et déroulement dans le temps du suivi génétique des saumons

Depuis 2010, des prélèvements de cellules (bout de nageoire) et d'écaillés sont réalisés sur les saumons adultes de retour capturés au niveau des pièges de Tuilières sur la Dordogne,

Golfech et Carbonne sur la Garonne. Les tests d'assignation parentale permettent de connaître leur origine : naturelle ou issue de repeuplement, mais aussi, grâce à la traçabilité des lots élevés et déversés dans le milieu naturel, de savoir s'ils proviennent du cheptel dit F0 de Bergerac poisson dit « F1 » ou d'un site multiplicateur de niveau 2 (Castels, Pont Crouzet ou Cauterets) pour les poissons dit « F2 ». Enfin, pour les poissons issus de repeuplement il est possible de déterminer la rivière où ils ont été déversés et le stade biologique au moment du lâcher. Les premières assignations sont possibles à partir des remontées des saumons ayant passé un hiver en mer en 2010 (Figure 1).

Depuis 2024, le passage à une technologie génomique appelée « puce à SNP » (Single Nucleotide Polymorphism) est mise en place avec le laboratoire GENTYANE. Cette technique présente l'avantage d'analyser plusieurs milliers de marqueurs SNP.

C'est la première fois, en France, qu'une étude, utilisant les dernières innovations en matière de génie génétique, est mise en œuvre dans un plan de restauration d'espèce piscicole migratrice. Preuve de concept réalisée sur 17 années (2008-2025), cette étude est unique au niveau mondial dans le domaine de la conservation. Elle représente près de 20 000 individus génotypés au total.

1.2 Partenariat

Trois autres structures spécialisées dans les techniques de génie génétique participent avec MIGADO à cette étude :

- Le SYSAAF (Syndicat des Sélectionneurs Avicoles et Aquacoles Français) qui gère l'interface avec les généticiens et les laboratoires d'analyses pour la mise en place des protocoles et l'interprétation des résultats ;

- L'INRAE de Montpellier qui apporte des compétences scientifiques en matière d'analyse des données génétiques et participe à l'interprétation des résultats ;

- Les laboratoires LABOGENA et GENTYANE INRAE (pour la 1ere fois en 2023) qui réalisent toute la partie technique en matière de génie-génétique.

Migado assure toute la partie échantillonnage en pisciculture et/ou sur le terrain et participe à l'analyse et à la restitution des résultats.

1.3 Analyses génétiques

1.3.1 Prélèvements sur les géniteurs en pisciculture

Lors des pontes, les échantillons de tissus prélevés sur les géniteurs sont classés, étiquetés et enregistrés dans la base de données Infaqua du Sysaaf. Cette base a été remplacée en 2023 par la nouvelle base de données Eucalyptus qui permet de mieux gérer notre suivi des individus et les plans de croisement. Les prélèvements sont ensuite expédiés au laboratoire de génie génétique Gentyane de l'INRAE depuis 2023 pour la réalisation du génotypage de chaque individu.

Depuis 2008, au total pour l'ensemble de l'étude sur les 2 bassins Garonne et Dordogne, ce sont plus de 19 500 géniteurs appartenant aux 4 piscicultures qui ont été prélevés et plus de 160 000 familles créées lors des pontes. Lors de ces opérations, chaque géniteur est marqué à l'aide d'un transpondeur (Figure 2).



Figure 2 : Prélèvement d'un bout de nageoire et marquage par pose sous-cutanée d'un transpondeur.

1.3.2 Traçabilité de la production

Chaque lot de juvéniles créé lors d'une ponte est identifié par un code. Ce code permet une traçabilité précise depuis la mise en incubation des œufs jusqu'aux secteurs de déversement pour chaque stade biologique utilisé lors des repeuplements. Ainsi, pour connaître la provenance de chaque adulte contrôlé à la remontée, les œufs produits par chaque femelle sont regroupés sous un même code de lot et sont élevés dans les mêmes structures d'élevage (incubateur, auge, bassin). Les saumons issus d'un même lot sont déversés sur un même secteur géographique découpé en 4 secteurs pour l'étude (Garonne amont, Ariège, Dordogne ou Vézère, Figure 3).

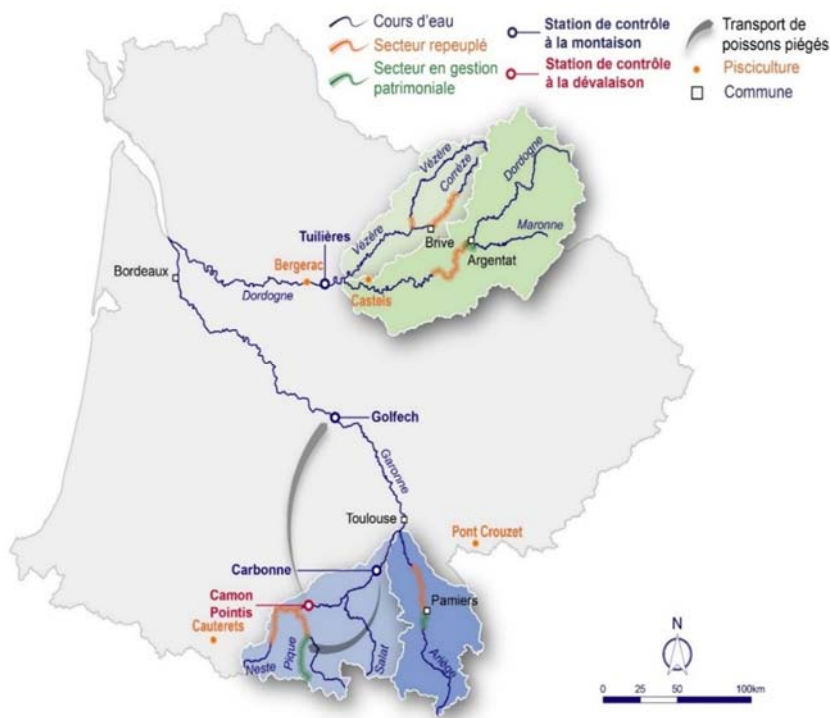


Figure 3 : Secteurs géographiques, piscicultures et stations de piégeages des saumons en lien avec le suivi génétique réalisés sur le bassin Garonne Dordogne.

Les repeuplements suivis par cette étude concernent une quantité très importante de juvéniles plus de 22,3 millions d'individus ont été repeuplés entre 2008 et 2025 sur le Bassin Garonne Dordogne. Ils appartiennent à 2 générations (F1 et F2) et 4 stades ont été utilisés : œufs, alevins (regroupement des alevins nourris et pré estivaux pour l'étude), tacons 1+ et smolts 1+ (Figure 4).



Figure 4 : Les différents stades utilisés pour le repeuplement du bassin Garonne Dordogne : de gauche à droite œufs, alevins, tacons 1+ et smolts 1+.

1.3.3 Rappel de l'organisation de la production MIGADO

Les cheptels de géniteurs servant à la production d'œufs de saumon dans les structures gérées par MIGADO sont de natures différentes (Figure 5) :

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 et Cauterets (géniteurs enfermés F1 idem Castels).

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, 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 capturés dans le milieu naturel dits « F0 sauvages » ;

2/ de deuxième génération (F2), c'est-à-dire issus des géniteurs F1 enfermés en pisciculture d'eau douce.

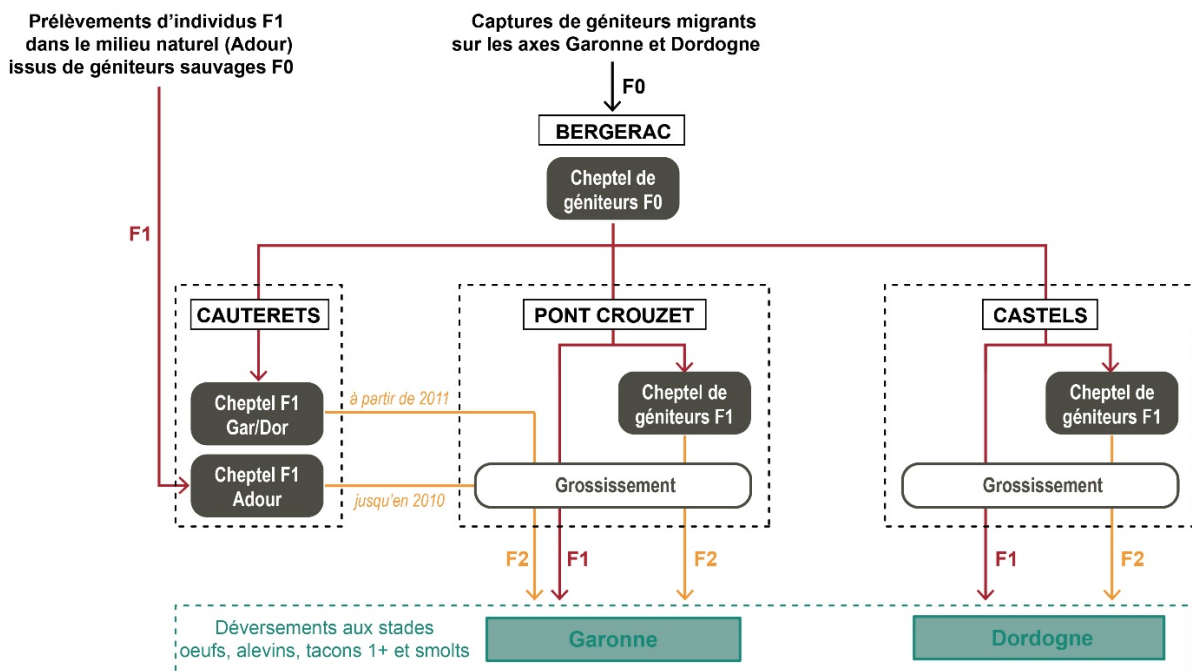


Figure 5 : Organisation de la production de Saumon atlantique à MIGADO.

1.3.4 Déroulement des reproductions artificielles

1.3.4.1 Centre de reconditionnement de 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 ; 1 femelle est généralement croisée avec 6 à 18 mâles.
3. La semence est récoltée dans un récipient stérile et conservée à 4°C à l'abri de la lumière ;
4. La femelle mature (anesthésiée) est strippée : on extrait les ovules de la cavité abdominale par des massages péristaltiques amples et lents ;
5. Les ovules 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 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 si nécessaire. En effet, certains poissons

peuvent être ré-échantillonnés car l'ADN initialement prélevé n'a pas pu être exploité pour diverses raisons.

1.3.4.2 Pisciculture de multiplication de 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 ovules 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 ;
6. Les sous-lots sont regroupés et mis à incuber ensemble, cela constituera une famille ;
7. Avant de retourner dans les bassins d'élevage et de se nourrir à nouveau, les poissons sont, comme à Bergerac, marqués individuellement avec une puce (Figure 2) pour les reconnaître l'année suivante et un échantillon de tissu est prélevé afin de caractériser leur empreinte génétique.

1.3.5 Analyse génétique de la descendance

Sur le bassin Garonne Dordogne, la majorité des jeunes saumons dévalent au bout de 1 et 2 ans et restent en eau salée de 1 à 3 années. Les premiers prélèvements d'échantillons réalisés sur les sites de piégeage en montaison pour retrouver les saumons adultes dont les parents ont participé aux reproductions artificielles suivies par cette étude ont débuté en 2010 (Figure 1).

Depuis 2010, un prélèvement d'écailles (pour connaître l'âge) et d'un bout de nageoire pour le génotypage est systématiquement effectué lors des biométries sur les adultes piégés à Tuilières, Golfech et Carbonne. Au total, pour la synthèse des résultats (§ 2.4), de 2010 à 2023, 1 357 saumons adultes en migration (appelés migrants) sur un total de 6 487 saumons contrôlés sur l'ensemble des 2 sous-bassins ont été piégés et leur ADN a été utilisé pour cette étude (échantillons conformes). Ces effectifs de 2010 à 2025, représentent 1 460 adultes en migrations sur un total de 6 761 saumons contrôlés.



Sur la Dordogne, 723 saumons adultes ont pu être prélevés au total depuis 2010 au niveau du piège de Tuilières (Tableau 1). Aussi des prélèvements sont effectués sur les juvéniles (tacons) capturés lors des pêches électriques, en amont des secteurs de repeuplement, sur les zones de reproduction naturelle pour vérifier l'origine sauvage de ces poissons.

Au total pour 2025, 30 saumons adultes à Tuilières ont pu être prélevés pour le suivi génétique en cours. La répartition des prélèvements dans la migration annuelle 2025 réalisée à Tuilières est représentée sur la Figure 6 (individus utilisés pour le radiopistage ou transférés à la pisciculture de Bergerac).

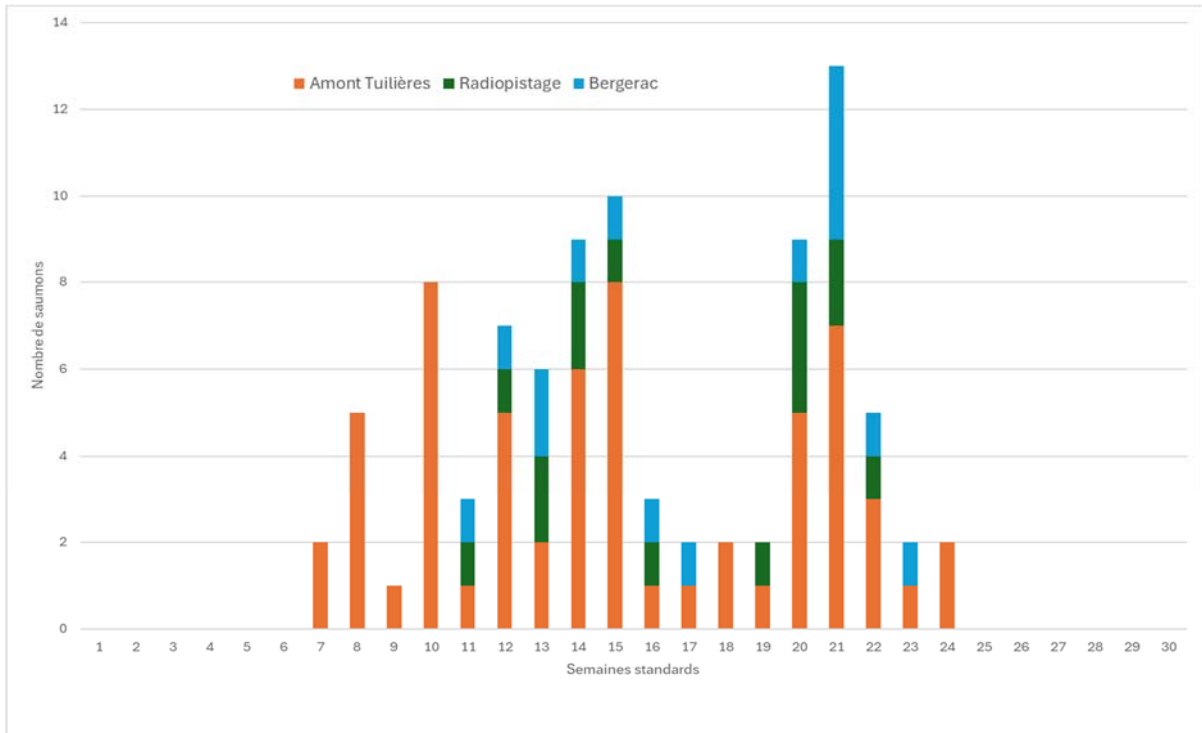


Figure 6 : Passage hebdomadaire et devenir des saumons contrôlés à Tuilières en 2025. Les prélèvements d’ADN ont été effectués sur les saumons piégés transférés à Bergerac et utilisés pour le radio pistage.

Site de piégeage / année	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023	2024	2025
Adultes Tuilières	92	38	39	43	86	85	61	22	60	27	55	23	14	11	37	30
Tacons Pêches elect.		31						12				92		7		

Tableau 1 : Nombre de saumons adultes en migration sur le bassin de la Dordogne et de tacons prélevés pour des tests d’assignation.

2 RESULTATS

2.1 Synthèse des résultats du suivi génétique migrations 2010 à 2023

En 2018, un contrôle et une validation de l'ensemble des tests d'assignation des différentes années de suivi ont été réalisés par les généticiens de l'INRAE et de LABOGENA.

En 2020, cet important travail de synthèse a été poursuivi, par les techniciens de Migado en collaboration avec les généticiens du SYSAAF et de l'INRAE, avec un stagiaire (étudiant en fin d'étude Ingénieur Agro) puis avec un technicien dédié (CDD). Ce travail a permis d'aller plus loin dans le traitement des données. Les nombreux résultats obtenus dans cette étude ont déjà fait l'objet d'une publication (article scientifique) paru en 2021 (Vandeputte M, Bestin A, Fauchet L, Allamellou J-M, Bosc S, Menchi O, Haffray P. 2021. Can we identify wild-born salmon from parentage assignment data ? A case study in the Garonne-Dordogne rivers salmon restoration programme in France. *Aquat. Living Resour.* 34: 710), (Cf. Annexe 1).

Cette étude a aussi été retenue en 2024 pour figurer dans un ouvrage sur la génétique des populations appliquée à la conservation et la restauration des populations naturelles d'espèces sauvages dans leur milieu et qui devrait être publié en 2026 par l'IFREMER aux éditions Quae.

Une deuxième publication a été rédigée par le collectif des partenaires de cette étude. Elle a été soumise aux relecteurs dans le courant de l'année 2025.

Les principaux résultats de cette étude ont pu être présentés en 2023 lors du colloque international « Des saumons et des hommes 3 » organisé par l'association SOS Loire Vivante à Brioude et en 2025 au colloque Logrami « Rencontres Migrateurs Loire ».

Cette étude permet une évaluation très complète des programmes de restauration du saumon sur les 2 sous bassins Garonne et Dordogne. Le travail de synthèse des données a permis de réaliser principalement 3 types d'analyse :

- Des analyses biologiques sur l'efficacité du repeuplement pour évaluer notamment les influences du stade de repeuplement, du nombre de générations en captivité et du sous bassin de relâcher
- Des Analyses biologiques sur les migrants de retour qui permettent d'appréhender l'héritabilité de l'âge de mer, l'impact du piégeage pour la filière sur l'âge de mer des migrants et l'égarément des migrants issus du repeuplement et l'évolution du pourcentage de saumons nés sauvages
- Des analyses sur la génétique des populations permettant de mesurer le nombre d'utilisation des géniteurs dans les cheptels, la diversité génétique comparée des cheptels F0 et F1 et d'en évaluer l'évolution de leur diversité génétique.

Les principaux résultats obtenus à partir des cohortes repeuplées entre 2008 et 2020 et les migrants correspondants échantillonnés lors des montaisons de 2010 à 2023 sont présentés dans les paragraphes suivants, dans le Tableau 2 et les annexes 11a et 11b. Au total, **1 402** saumons ont été échantillonnés entre 2010 et 2023. Parmi eux, l'ADN de **45** individus n'a pas pu être exploitée (soit 3% de non conformes).

Années de migration	Echantillons prélevés	Echantillons Non Conformes	Echantillons Conformes	Echantillons Assignés dans le plan	Echantillons provenant d'individus nés sauvages
2010	112	2	110	49	61
2011	86	1	85	58	27
2012	64	0	64	52	12
2013	52	1	51	37	14
2014	142	6	136	99	37
2015	190	9	181	132	49
2016	123	1	122	89	33
2017	62	5	57	40	17
2018	75	3	72	43	29
2019	143	7	136	96	40
2020	100	4	96	80	16
2021	89	3	86	72	14
2022	141	3	138	115	23
2023	23	0	23	15	8
Total	1 402	45	1 357	977	380

Tableau 2 : Caractéristiques des échantillons d'ADN prélevés sur les adultes en migration à Golfecch et Tuilière entre 2010 et 2023

L'assignation à parenté a donc été conduite sur **1 357** adultes migrants qui ont pu être génotypés (conformes) entre 2010 et 2023. Parmi eux, **977** ont été assignés à un couple parental unique dans le plan de croisement et correspondent à des individus repeuplés entre 2008 et 2020. Le restant, soit **380** individus, correspondent à des saumons nés sauvages (issus de reproduction naturelle).

Les traitements qui vont suivre dans ce rapport sont réalisés à partir d'individus assignés aux cohortes dont on est sûr qu'il n'y a plus d'individus encore susceptibles de remonter. Il s'agit des cohortes (années de naissances) de 2008 à 2019 correspondant à 1305 saumons échantillonnés conformes parmi lesquels **963** individus assignés ont été trouvés.

L'évaluation de la proportion de migrants issus de reproduction naturelle, pour lesquelles les différents âges de mer correspondent à des cohortes prises en compte dans l'étude (§ 1.1 et Figure 1), a été réalisée par année de migration pour les saisons de montaison de 2012 à 2023 (1162 échantillonnés dont 870 assignés) et par année de naissances pour les cohortes de 2008 à 2019 (1 305 saumons échantillonnés dont 963 assignés).

2.1.1 Influence du stade de repeuplement

Cette étude a été conduite sur les saumons adultes échantillonnés identifiés comme assignés, c'est-à-dire provenant des piscicultures de Bergerac ou de multiplication, entre 2008 et 2019 (n=963).

Pour chaque stade (œuf, alevin, tacon et smolt), nous avons calculé la capacité à revenir défini en divisant le nombre de migrants de retour pour chaque stade par le nombre d'individus repeuplés. Nous avons ensuite comparé l'efficacité relative de chaque stade par rapport au stade alevins. L'efficacité relative est obtenue en divisant la capacité à revenir des migrants d'un stade donné par la capacité à revenir des alevins.

Afin de faire une analyse du point de vue gestionnaire de pisciculture, il était nécessaire de transformer les effectifs repeuplés par stade en équivalents alevins. Pour calculer ces équivalents nous avons utilisés les taux de survie observés en pisciculture suivants : 75% de l'œuf à l'alevin et 83% de l'alevin au tacon et smolt 1+ (moyenne des taux de survie obtenu en pisciculture MIGADO entre 2010 et 2020). Les stades tacons et smolts ont été rassemblés dans une même catégorie, saumon 1+, car ces deux stades passent le même temps en pisciculture.

Le nombre de juvéniles de saumon tous stades confondus relâchés entre 2008 et 2019 représente 14,9 millions d'individus avec 7,7 millions sur le sous bassin de la Dordogne et 7,2 millions sur le sous bassin Garonne.

La répartition des 4 stades de développement utilisés pour l'ensemble des 2 sous bassin est la suivante : 7% d'œufs, 88% d'alevins, 1,7% de tacons 1+ et 3,3% de smolts 1+

Figure 7 donne le détail de la répartition des stades utilisés pour chacun des 2 sous bassin.

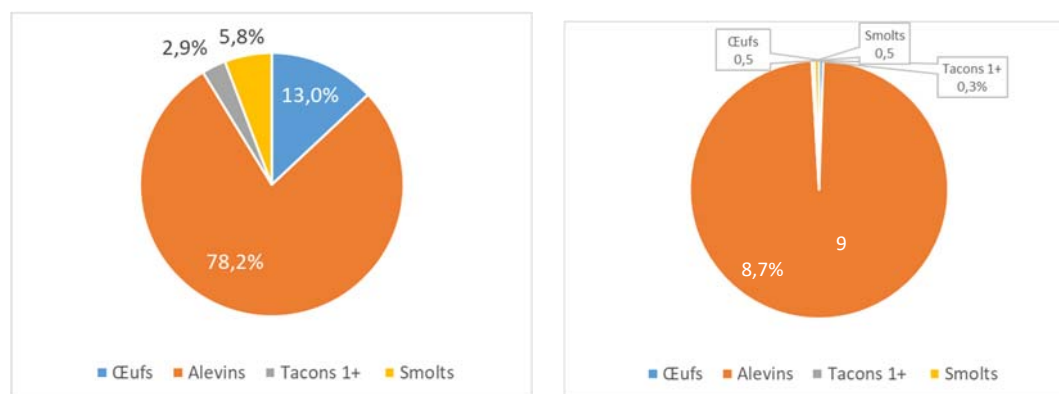


Figure 7 : Proportion des stades déversés en Dordogne et Garonne entre 2008 et 2019

Le stade alevin a été très majoritairement utilisé sur les 2 sous bassins. En Dordogne, la stratégie du programme a opté pour déverser une plus grande diversité de stade notamment avec de nombreux œufs et smolts.

La capacité à revenir de chaque stade de repeuplement ainsi que leur efficacité relative est donnée dans le Tableau 3. Les résultats de cette analyse sont aussi présentés dans les histogrammes de la Figure 8. La comparaison des proportions des migrants par rapport à la proportion de chaque équivalents alevins dont ils sont issus pour chaque stade repeuplé montre d'une part que chaque stade de repeuplement a bien produit des migrants de retour et d'autre part que le stade alevin présente une efficacité relative 1/3 supérieure à celle du stade saumon 1+ et 3 fois plus importante que celle obtenue par le stade œuf.

Pour les gestionnaires, et sur notre bassin, le stade alevin serait donc plus intéressant à utiliser que les autres stades car il présente une meilleure efficacité d'un point de vue biologique. De plus, le stade alevin est aussi plus économique à produire que le stade smolt.

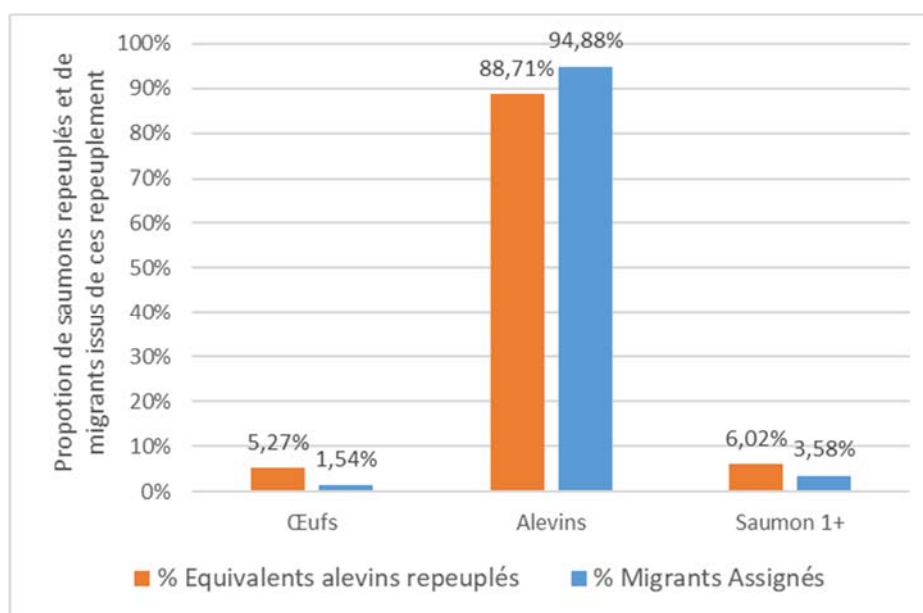


Figure 8 Comparaison des proportions migrants/Eq alevins dont ils sont issus pour chaque stade

	Œuf	Alevin	Saumon 1+
Migrants assignés	15	927	35
Effectifs repeuplés	1 040 757	13 129 337	739 011
Equivalentes alevins*	780 567	13 129 337	890 375
% Migrants assignés	1,54%	94,88%	3,58%
% Repeuplés (effectifs)	6,98%	88,06%	4,96%
% Equivalentes alevins	5,27%	88,71%	6,02%
Capacité à revenir**	1,44126E-05	7,06052E-05	4,73606E-05
Efficacité relative	0,29	1,07	0,60

*basé sur les taux de survie 1 œuf = 0,75 alevin et 1 saumon 1+ = 1,205 alevin)

**ratio entre le nombre de migrants assignés et le nombre d'individus repeuplés

Tableau 3 : Migrants assignés de 2010 à 2023 correspondants aux effectifs d'équivalent alevins repeuplés de 2008 à 2019.

2.1.2 Influence du nombre de génération en captivité

Pour éviter des biais que pourraient engendrer les différences de taux de survie qu'il peut y avoir entre les individus appartenant aux différents stades biologiques repeuplés. Cette analyse a été réalisée uniquement avec les individus déversés au stade alevin sur l'ensemble des 2 sous bassins de 2008 à 2019 (n=13,1 millions d'alevins).

Parmi les 13,1 millions d'alevins repeuplés de 2008 à 2019), 21% étaient de la génération F1 et 79 % de la génération F2 (Figure 9).

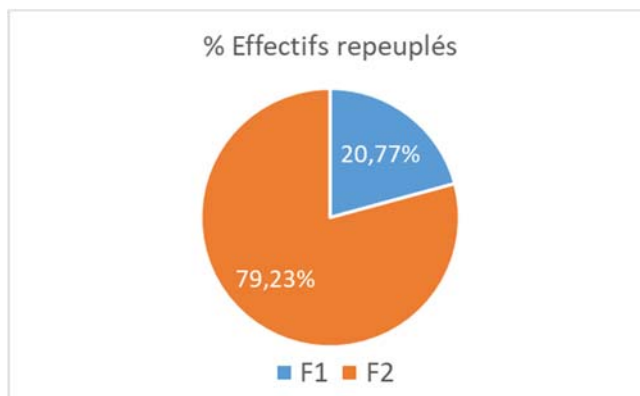


Figure 9 : Proportions d'alevin déversés pour chaque génération utilisée (F1 et F2) sur le bassin Garonne Dordogne de 2008 à 2019

Dans cette période, 913 adultes ont été assignés à ce stade. Parmi eux, 163 étaient de génération F1 (œufs produits à la pisciculture de Bergerac) et 750 de génération F2 (issus des productions d'œufs des cheptels F1 de Castels, Pont Cruzet et Caunterets).

La Comparaison de la proportion d'adulte migrants par rapport à la proportion des effectifs repeuplés dont ils sont issus pour chaque génération F1 et F2 nous indique que l'efficacité du repeuplement est la même quel que soit leur génération d'élevage (Figure 10).

En effet, les proportions de migrants F1 et F2 sont respectivement 17,85% et 82,15% pour des proportions d'individus déversés correspondantes de 20,77% et 79,23%. Il n'apparaît donc pas ici de différence significative dans la capacité à revenir entre les individus de génération F1 et les F2 repeuplés au stade alevin. Ce résultat est important car les saumons de génération F2 représentent dans le mode de gestion utilisé 80% du repeuplement.

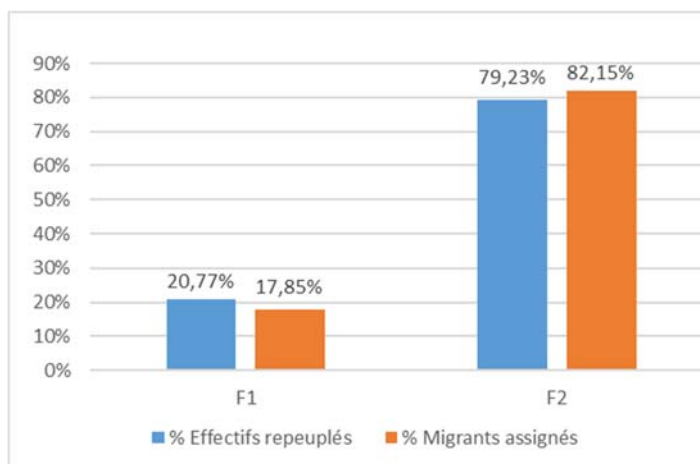


Figure 10 : Comparaison des proportions migrants/effectifs repeuplés dont ils sont issus pour chaque génération repeuplée (F1 et F2)

2.1.3 Influence du sous bassin de relâcher

Comme pour l'analyse de l'influence du nombre de génération en captivité, l'influence du sous bassin utilisé pour les repeuplements a été testé uniquement avec les individus repeuplés au stade alevin de 2008 à 2019. Cette analyse a de plus été faite en écartant les lots d'alevins issus d'œufs produits à Bergerac et qui ont été de 2008 à 2013 partagés sur les 4 sous bassins. Le sous bassin de provenance des migrants issus de ces lots ne peut pas être garanti. Au total cela représente 12,1 millions d'alevins qui ont pu être assignés à 820 migrants (adultes migrants égarés compris).

Cette analyse décrite par la Figure 11 permet de comparer les proportions de migrants assignés de retour et des effectifs repeuplés sur les 4 sous bassins : Garonne (Garonne amont et Neste), Ariège, Dordogne et Vézère.

Chaque sous bassin de repeuplement a produit des migrants de retour. Les saumons repeuplés en Garonne et sur la Vézère ont les capacités à revenir les plus importantes. Ce résultat est d'autant plus intéressant pour la Garonne que les saumons issus de ce secteur ont bénéficié du piégeage transport à la dévalaison depuis les stations de piégeage à la dévalaison de Camon et Pointis. Une perte de homing aurait pu être envisagée du fait du transfert de ces poissons.

Les sous bassins Dordogne et Ariège présentent une légère sous-efficacité avec une production de migrants en proportion moins importante que les effectifs repeuplés. Ces sous efficacités pourraient être dues à l'impact des éclusées et/ou la présence de zones simplement moins productives pour la Dordogne et la Vézère. L'Ariège quant à elle possède des zones de grossissement moins favorables d'un point de vue thermique sur ses parties basses et les dispositifs de dévalaison étaient encore non optimisés pour une majorité des cohortes étudiées dans ce suivi (mortalités lors de la dévalaison des smolts dans les turbines).

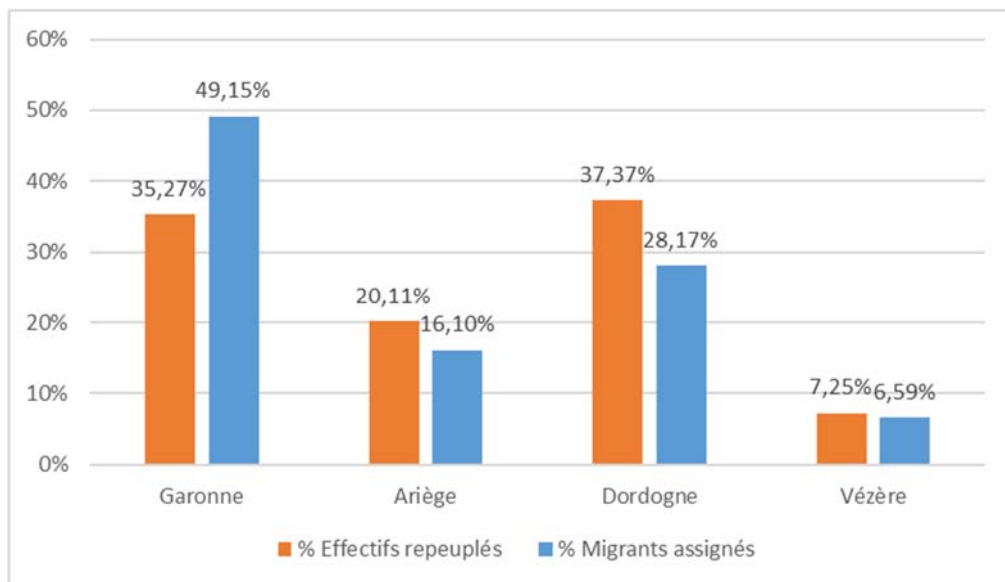


Figure 11 : Comparaison des proportions de migrants/ par rapport aux effectifs repeuplés au stade alevin entre 2008 et 2019 dont ils sont issus pour chaque sous bassins repeuplés (égarés compris).

2.1.4 Taux d'égaré

Le taux d'égaré par grand sous bassin (saumons repeuplés dans un bassin et revenus dans l'autre au stade adulte) et globalement pour chaque année de migration ont pu être évalués. Cette analyse a été faite à partir de l'ensemble des migrants assignés contrôlés entre 2010 et 2023 (n=864) provenant de lots repeuplés sur uniquement un seul bassin (§ 2.4.3) et pour tous les stades biologiques utilisés en repeuplement de 2008 à 2019.

Cette proportion de saumons issus du repeuplement sur un bassin et qui « se trompent » de bassin lors de la montaison représente un peu moins de 10% pour les saumons lâchés sur la Garonne et remontés sur la Dordogne et 17% pour les saumons déversés sur la Dordogne et contrôlés sur la Garonne.

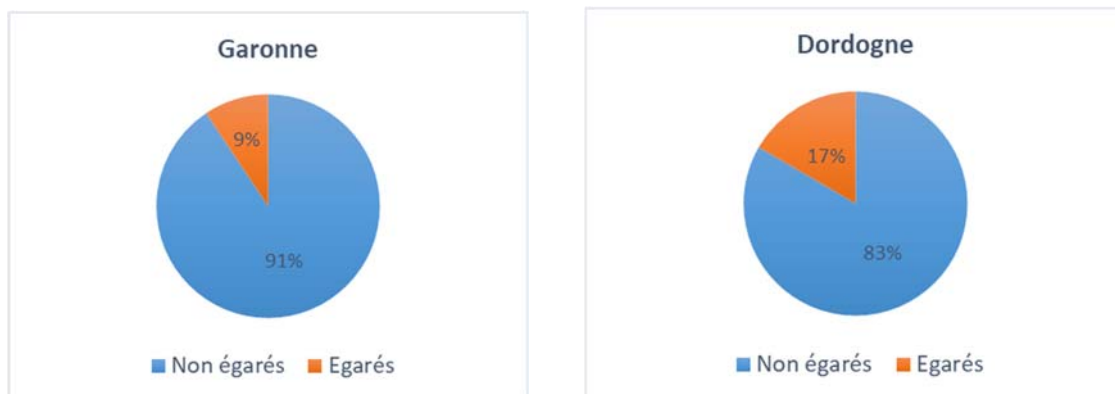


Figure 12 : Proportion de saumons égarés par sous bassin

L'égaré par année de migration et présenté par la Figure 13, il est très variable suivant les années (1% en 2020 et 17% en 2021). Ce phénomène est multifactoriel, aucune variable ne permet de l'expliquer directement.

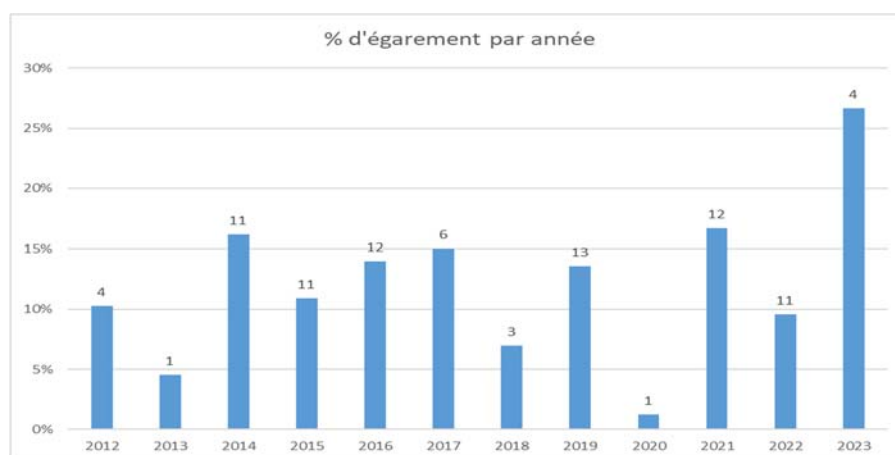


Figure 13 : Proportion et nombre de saumons égarés par année de migration

En comparaison, B. Jonsson et N. Jonsson (2011*) indiquent que le taux de divagation moyen estimé pour le saumon atlantique quittant la rivière lmsa entre 1976 et 1999, était de 15 % pour les poissons d'élevage et de 6 % pour leurs congénères sauvages (B. Jonsson et al. 2003*). Ce taux était aussi très variable selon les années et indépendant des débits s'écoulant dans les rivières. Le taux d'errance des saumons atlantiques des grands fleuves de la Baltique est généralement de l'ordre de 2 % (Carlin, 1969*), semblable à celle de River West, en Nouvelle-Écosse. L'égaré du saumon de l'Atlantique dans les rivières britanniques et irlandaises a été signalé de l'ordre de 3 % (Thorpe et Mitchell 1981*).

*Bibliographie

Jonsson, Bror & Jonsson, Nina. (2011). *Ecology of Atlantic salmon and Brown Trout: Habitat as A Template For Life Histories*. 10.1007/978-94-007-1189-1.

Jonsson, B., N. Jonsson and L.P. Hansen, 2003. *Atlantic salmon straying from the River Imsa*. *J. Fish Biol.* 62(3):641-657

Carlin B (1969) *Salmon tagging experiments*. *Swedish Salmon Res Inst Rep* 2(4):8–13

Thorpe JE, Mitchell KA (1981) *Stocks of Atlantic salmon (Salmo salar) in Britain and Ireland discreteness, and current management*. *Can J Fish Aquat Sci* 38:1576–1590

Homing mesuré sur la Garonne à Carbonne

Parmi les saumons assignés contrôlés à Carbonne (n=66) seulement 1 individu provient d'un lot repeuplé sur l'Ariège. Les 65 autres saumons sont issus exclusivement d'alevinage effectués sur la Garonne amont ou la Neste et font partie des saumons qui ont bénéficié du piégeage transport à la dévalaison depuis les stations de Pointis et Camon.

2.1.5 Evolution de la part de saumons « nés sauvages » par année de migration

Le retour des saumons nés sauvages pour chaque année de migration a pu être évalué entre 2012 et 2023 par le nombre de saumons piégés et génotypés qui ne sont pas assignés au repeuplement. Les saumons qui sont revenus en 2010 et 2011 ont été retirés des analyses car ils pouvaient provenir soit de reproduction naturelle, soit d'anciens plans de croisement en pisciculture lors des pontes 2006 et 2007 lorsque les géniteurs n'étaient encore pas génotypés. L'évaluation de la proportion de saumons nés sauvages dans les deux bassins a été calculée par année de montaison. Notons que c'est le bassin de montaison qui est pris en compte pour tous les saumons migrants lors des analyses par bassin. En effet, il est impossible de déterminer si les saumons nés sauvages sont des individus égarés.

Au total, 292 saumons nés sauvages ont été identifiés entre 2012 et 2023 sur de 1 162 migrants piégés sur les deux sous bassins. La Figure 14, montre pour chaque sous bassin l'évolution annuelle pour chaque migration de la proportion de saumons sauvages depuis 2012.

Pour la Garonne, nous avons en moyenne 18% de saumons « nés sauvages ». les meilleures années ces pourcentages ont atteint 32% et 33% (années 2019 et 2023, Figure 14). Ces années de migration correspondent respectivement à 121 et 111 adultes qui ont potentiellement pu atteindre les frayères de l'Ariège en 2015 et 2019. **Erreur ! Source du renvoi introuvable.**

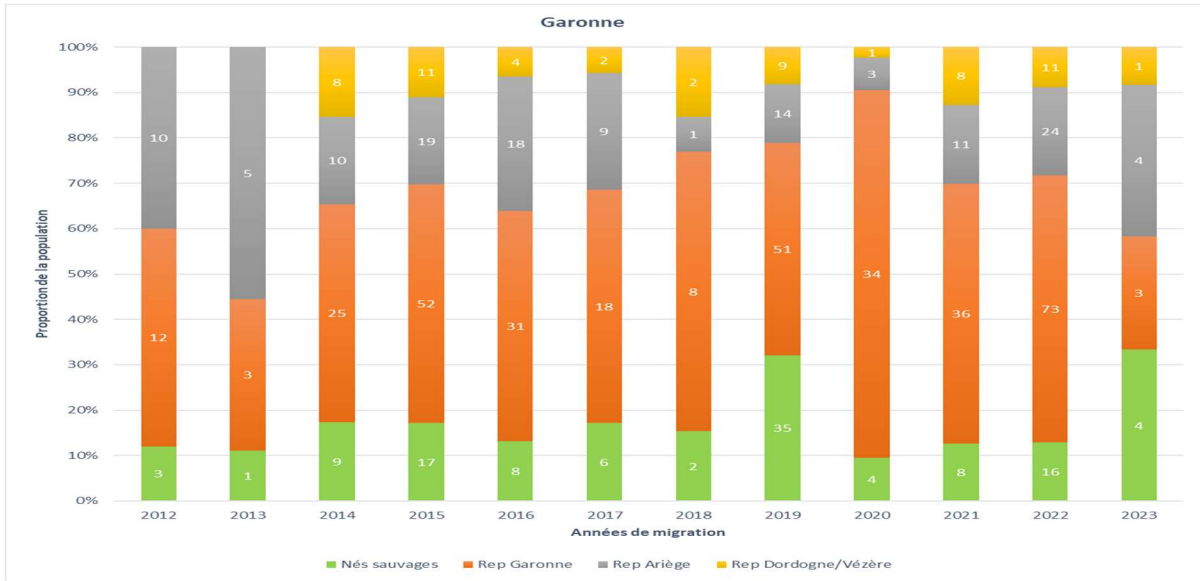


Figure 14 : Proportion de saumons « nés sauvages » et issus du repeuplement (Garonne, Ariège et égarés Dordogne ou Vézère) par année de migration sur le bassin de la Garonne

Sur la Dordogne, la proportion de saumon « nés sauvages » est en moyenne de 35%. Elle atteint un maximum de 50% en 2017 puis chute en 2019. Cette situation semble s'améliorer depuis même si le nombre de poissons qui ont pu être échantillonnés a été faible lors des migrations 2022 et 2023 (14 et 11 individus prélevés sur 200 saumons en 2022 et 37 saumons en 2023 contrôlés à Tuilières).

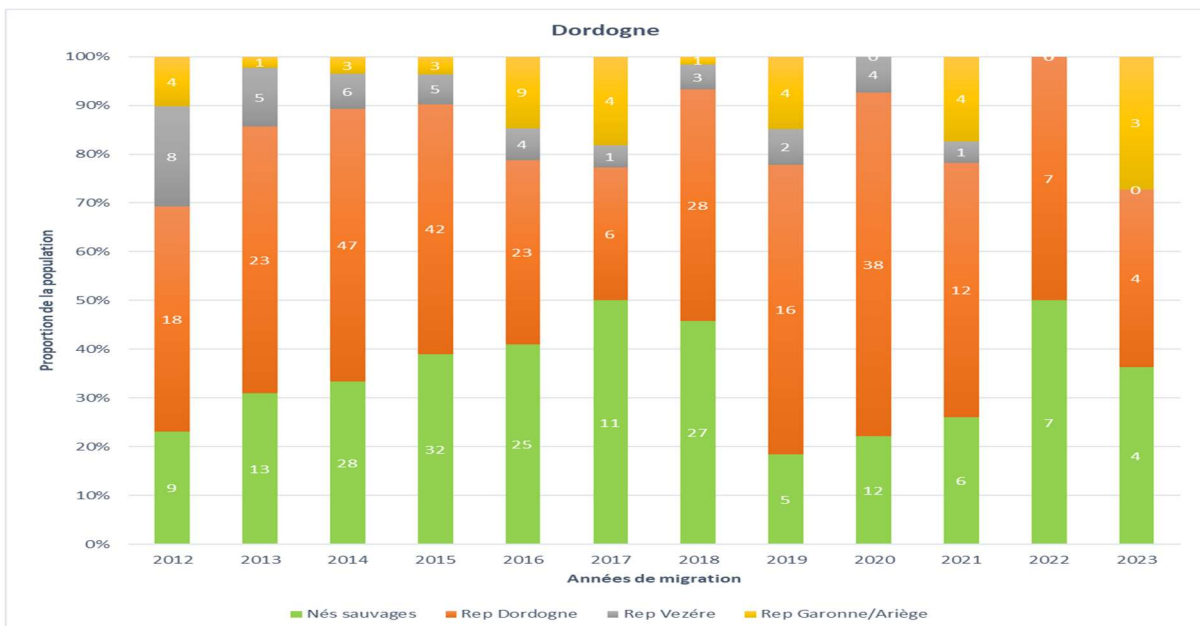


Figure 15 : Proportion de saumons « nés sauvages » et issus du repeuplement (Dordogne, Vézère et égarés Garonne ou Ariège) par année de migration sur le bassin de la Dordogne

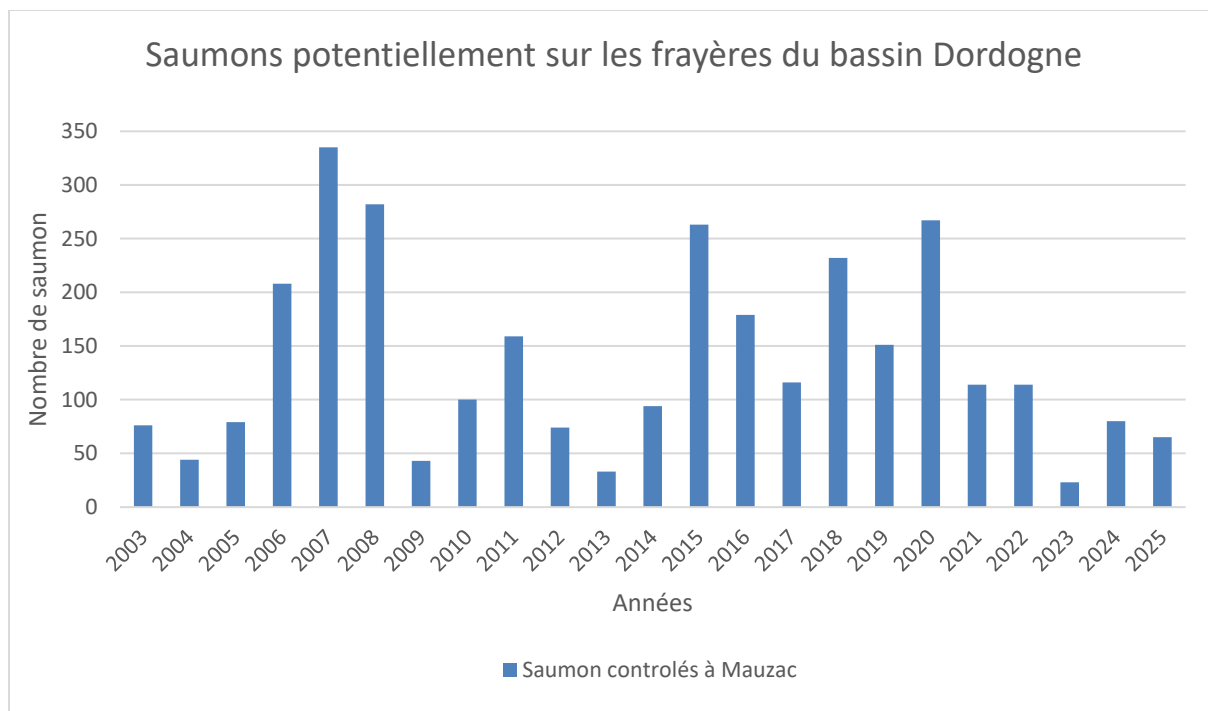


Figure 16 : Effectifs de saumon potentiellement sur frayères par année de migration pour le bassin de la Dordogne

Ces résultats sont essentiels et montre la fragilité de nos programmes de restauration. La reproduction naturelle n'arrive pas à prendre le pas sur le repeuplement.

CONCLUSIONS

L'étude par suivi génétique de la population des saumons du bassin Garonne Dordogne est d'une ampleur inédite par son échelle (bassin Garonne Dordogne), par le nombre d'individus génotypés, le nombre de plan de croisement enregistrés ainsi que par sa durée (17 années).

En 2025, **30 adultes en migration sur la Dordogne** ont pu être échantillonnés pour le suivi par assignation de parenté.

Ce suivi a permis d'acquérir de réelles connaissances sur nos pratiques et la composition de notre population de saumon. Ce dernier point est essentiel pour compléter nos connaissances et mettre en place de nouvelles orientations.

Les principaux résultats sont positifs : notamment dans les pratiques qui ont été mises en place : repeuplement majoritaire avec le stade alevin, utilisation d'individus appartenant à 2 générations (F1 et F2) et plus globalement la gestion de la diversité génétique au sein de la filière. De plus, ces résultats valident, en cohérence avec les suivis biologiques, la fonctionnalité des habitats de grossissement et de reproduction de l'ensemble de nos sous bassins.

Cette étude montre aussi que des saumons « vrais sauvages » composent notre population mais pas en quantité suffisante. Il apparaît ainsi que le repeuplement fonctionne mais qu'il reste toujours indispensable pour avoir des saumons de retour. Cette situation apparaît comme le problème majeur des programmes sur les 2 bassins. Des actions ont pu être développées pour améliorer les conditions de migration et permettre au saumon d'accéder jusqu'aux frayères. (Piégeage/transfert depuis Golfech, nouvelles passes à Malause et Mauzac, lâchers d'eau sur la Dordogne...). Sur la Garonne, des études sont en cours pour cerner les causes de la perte de ces géniteurs et valider les possibilités d'atteindre nos objectifs. Ces résultats seront déterminants pour décider de la poursuite des programmes dans le prochain PLAGEPOMI (2028).

A retenir :

- Le suivi génétique par assignation parentale des saumons du Bassin Garonne Dordogne s'est poursuivi en 2025. Un premier article scientifique a été publié en 2021, un second a été soumis aux relecteurs cette année.
- Au total, pour 2025, les assignations de parenté pourront être réalisées sur 30 saumons adultes prélevés lors de leur migration de montaison sur la Dordogne sur 91 adultes contrôlés à Tulières.
- Le laboratoire Labogéna, partenaire depuis le début de cette étude, a arrêté ce type d'analyse. Le Laboratoire Gentyane a repris le travail de génotypage et les assignations sont désormais réalisées par le SYSAAF.
- Les résultats de cette étude montrent principalement que des saumons « vrais sauvages » composent notre population mais ne sont pas en quantité suffisante. Il apparaît ainsi que le repeuplement fonctionne mais qu'il reste toujours indispensable pour avoir des saumons de retour.

ANNEXE

Can we identify wild-born salmon from parentage assignment data? A case study in the Garonne-Dordogne rivers salmon restoration programme in France

Marc Vandeputte^{1,2,*}, Anastasia Bestin³, Louarn Fauchet^{3,5}, Jean-Michel Allamellou⁴, Stéphane Bosc⁵, Olivier Menchi⁵ and Pierrick Haffray³

¹ Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, GABI, 78350 Jouy-en-Josas, France

² MARBEC, Univ. Montpellier, CNRS, Ifremer, IRD, 34250 Palavas-les-Flots, France

³ SYSAAF Section Aquacole, INRAE LPGP, Campus de Beaulieu, 32042 Rennes, France

⁴ Labogena-DNA, Domaine de Vilvert, 78352 Jouy-en-Josas, France

⁵ Association Migado, 18ter rue de la Garonne, 47520 Le Passage d'Agen, France

Received 25 November 2020 / Accepted 8 March 2021

Handling Editor: Carlos Saavedra

Abstract – Parentage assignment with genomic markers provides an opportunity to monitor salmon restocking programs. Most of the time, it is used to study the fate of hatchery-born fish in those programs, as well as the genetic impacts of restocking. In such analyses, only fish that are assigned to their parents are considered. In the Garonne-Dordogne river basin in France, native salmon have disappeared, and supportive breeding is being used to try to reinstate a self-sustained population. It is therefore of primary importance to assess the numbers of wild-born returning salmon, which could appear as wrongly assigned or not assigned, depending on the power of the marker set and on the size of the mating plan. We used the genotypes at nine microsatellites of the 5800 hatchery broodstock which were used from 2008 to 2014, and of 884 upstream migrating fish collected from 2008 to 2016, to assess our ability to identify wild-born salmon. We simulated genotypes of hatchery fish and wild-born fish and assessed how they were identified by the parentage assignment software Accurassign. We showed that 98.7% of the fish assigned within the recorded mating plan could be considered hatchery fish, while 93.3% of the fish in other assignment categories (assigned out of the mating plan, assigned to several parent pairs, not assigned) could be considered wild-born. Using a Bayesian approach, we showed that 31.3% of the 457 upstream migrating fish sampled from 2014 to 2016 were wild-born. This approach is thus efficient to identify wild-born fish in a restoration program. It remains dependent on the quality of the recording of the mating plan, which we showed was rather good (<5% mistakes) in this program. To limit this potential dependence, an increase in the number of markers genotyped (17 instead of 9) is now being implemented.

Keywords: Parentage assignment / restocking / fisheries

1 Introduction

The ability to identify the parents of an individual fish using multilocus genotypes has been a game changer in the management of both fisheries and aquaculture stocks (Vandeputte and Haffray, 2014; Steele et al., 2019). In aquaculture breeding, it enabled the use of pedigree information without investment in numerous family tanks,

strongly improving the precision of estimated breeding values and the possibility to control inbreeding. In fisheries management and stock enhancement programs, tracing an individual's origin back to its parents, combined with traceability on where and when the offspring of those parents was released, gives opportunities to assess the efficiency of releasing fish in the wild at various sites and life stages for supplementation (McGinnity et al., 2003; Aykanat et al., 2014; Steele et al., 2019). Provided the set of markers used has sufficient assignment power (*sensu* Vandeputte, 2012, i.e. taking into account the number of potential parents), all the

*Corresponding author: marc.vandeputte@inrae.fr

Table 1. Types of assignments and errors in parentage assignment with genomic markers, depending on the availability of parental genotypes.

Assignment software result:	True parents' genotypes available?	
	Yes	No
Assigned	True positive: assigned to the true parent pair	False positive (Type I error): assigned to a wrong parent pair
Not assigned	False negative (Type II error): not assigned although true parents present	True negative: not assigned as true parents absent

offspring of genotyped broodstock fish can be considered genetically “tagged”, as their parents can be identified with a very low error rate (Beacham et al., 2019). The advantages of genetical tagging over physical tagging are 1) that genetically tagged fish are intrinsically tagged, while physical tagging requires a minimum size at tagging and thus at release, and 2) that it is easier to genotype the majority of the broodstock than to individually tag a large proportion of the fish released, thus reducing the necessary sampling and tagging efforts (Steele et al., 2019).

One of the key requirements to identify the parents of an individual is that the genotype of the parents for the markers genotyped in the offspring are available. When parental genotypes are missing, there are two types of consequences. First, the immediate effect of missing parental genotypes is that the parents of the tested individual cannot be readily identified. Second, if either only one of the true parents, or some relatives of the parents, are present in the set of genotyped parents, it is likely that, in a significant proportion of cases, there may be a wrong identification of parents (false assignment) due to similarities between the genotype of the unknown true parent(s) and the genotype of the available parents (Griot et al., 2020). This is especially true if the assignment power of the marker set used is not very high. If assignment power is not high enough, it is also likely that the true parent pair may not be discriminated from other parents with relatively similar genotypes, leading to poly-assigned (potentially assigned to several parent pairs) offspring, which in the end has the same result: the true parents cannot be assigned with reasonable certainty.

The different cases are summarized in Table 1.

In most applications, the main aim is to maximize the rate of true positives while controlling the amount of false positives, so that the animals declared as “assigned” by the software are as reliably assigned as possible. Assignment software often gives the possibility to control Type I error *a priori* like CERVUS (Kalinowski et al., 2007) or APIS (Griot et al., 2020), which set a reliability threshold for assignments, or *a posteriori* like COLONY which associates a probability to each parent pair (Wang, 2012). Controlling Type II error is essentially necessary for cost reasons, because a high type II error implies a higher genotyping effort to achieve the same number of usable records. In general, in all applications, there is little interest for true negatives, and the way to avoid them is to ensure collecting DNA samples and genotyping of all potential parents. In the context of salmon restoration programs, hatchery juveniles released in the river are generally adipose fin clipped or tagged with a coded wire tag, and unclipped/untagged individuals are considered wild-born

(Hess et al., 2012; Evans et al., 2015). Alternatively, in a few programs, all individuals are trapped at dams and sampled for DNA before being allowed to move to the spawning grounds, so that all parents of the wild-born individuals are also known (Araki et al., 2009), and thus wild-born individuals can be assigned as true positives. However, this obviously requires a large investment and depends on site equipment and morphology, and then cannot be applied in all programs. Moreover, some precocious male parr may mature and contribute to reproduction, escaping sampling if sampling is, as usually done, focused on migrating fish, thus further limiting the completeness of this approach (Aykanat et al., 2014).

The number of true negatives can be a key issue in the case of the genetic monitoring of a restoration programme where the wild population to be restored has been heavily depleted, or has even disappeared. In such programs, the final aim is to re-establish a self-sustaining population, and it is thus of primary importance to assess the proportion of fish that derive from natural reproduction, and hence from parents which are not hatchery broodstock. Indeed, there may be, in many cases, a positive relationship between fitness and population size, known as the Allee effect, which implies that a minimum population size is necessary for a population to be self-sustainable (Stephens and Sutherland, 1999; Kuparinen et al., 2014).

In France, Atlantic Salmon disappeared from the Garonne-Dordogne basin during the late 19th – early 20th century, due to the building of hydropower dams (Thibault, 1994). Following the establishment of fish passes, the first attempts to reintroduce Atlantic salmon in this river system date back to the 1980's, first with fish from Canada, Scotland and Norway, then in a second phase with fish from French origin (Loire-Allier and Adour), which resulted in the return of limited numbers of potentially spawning adults. Since 1995, a captive broodstock has been established by Association Migado, which manages the restoration programme. Each year, migrating adults (F0) are captured in the Garonne and Dordogne rivers, kept in a breeding center in Bergerac, then stripped to produce F1 offspring by artificial fertilization. The F1 fish are (1) released at different points of the two basins for direct restocking and (2) sent to multiplication hatcheries where they are grown to the broodstock stage to produce F2 offspring, which are then released in the wild at different stages (5% as eyed eggs, 90% as first-feeding fry, 3% as smolts and 2% as 1+ parr). Since 2008, all F0 migrants kept in Bergerac, and all F1 broodstock in the multiplication hatcheries have been genotyped for nine microsatellite markers. In addition, all crosses performed to produce the F1 and F2 families have been

Table 2. Variability and assignment power of the nine microsatellite markers estimated from the F0 salmon broodstock present in Bergerac hatchery from 2010 to 2014 (156 individuals).

Marker	N _A	Ho	He	Exclusion probability unrelated parents (Q ₃)	Exclusion probability one parent known (Q ₁)
SSOSL311 ^a	19	0.865	0.843	0.876	0.702
SSOSL85 ^a	12	0.877	0.867	0.895	0.735
SSspG7 ^b	14	0.858	0.819	0.839	0.655
SSsp1605 ^b	8	0.729	0.743	0.728	0.534
SSsp2201 ^b	21	0.942	0.898	0.937	0.798
SSsp2210 ^b	12	0.742	0.796	0.811	0.620
SSsp2213 ^b	19*	0.787	0.900	0.937	0.800
SSsp2215 ^b	13	0.858	0.873	0.904	0.747
SSSp2216 ^b	14	0.852	0.865	0.894	0.733
All nine markers combined				0.999999957	0.99998683

NA=number of alleles per locus, Ho=observed heterozygosity, He=expected heterozygosity, Q₃=exclusion probability for an unrelated parent pair, Q₁=exclusion probability for one parent when the other parent is known (Jamieson, 1965).

*Including one null allele at $p=0.10$.

^aSlettan et al. (1995).

^bPaterson et al. (2004).

recorded. As hatchery fish are often released at very young stages (eyed eggs or first feeding fry), they cannot be tagged by adipose fin clipping or Coded Wire Tag. In addition, only a limited proportion of fish are sampled in the fish passes. Thus, the genotypes of potential wild parents are unknown.

We investigated the possibility to use parentage assignment data to qualify “wild-born” individuals, when only hatchery parents are genotyped, and hatchery offspring are not tagged. To this end, using real parental genotypes, we simulated the genotypes of F1 and F2 offspring from hatchery or non-hatchery parents, and examined how they were discriminated by the parentage assignment software Accurassign (Boichard et al., 2014) used to monitor the Garonne-Dordogne Atlantic salmon program. Using a Bayesian approach, we used these results to estimate the proportion of wild-born individuals among the 2014–2016 upstream migrating adults, and to assess the reliability of assigning a “hatchery” or “wild-born” origin to an individual, conditional on its qualification by the parentage assignment software.

2 Material and methods

2.1 Base data

The base data were the genotypes at nine microsatellites of a total of 5800 F0 and F1 hatchery broodstock used from 2008 to 2014, and of 884 upstream migrating fish collected from 2008 to 2016. The nine microsatellite markers used were SSOSL85 and SSOSL311 (Slettan et al., 1995), SSspG7, SSsp1605, SSsp2201, SSsp2210, SSsp2213, SSsp2215 and SSSp2216 (Paterson et al., 2004). Basic statistics and exclusion power of these markers are given in Table 2. Using combined Q₃ and Q₁ exclusion probabilities from Table 2, we inferred, following formula (7) in Vandeputte (2012), that the exclusion power of the marker set was 0.902 in a design with 3500 potential female parents and 2000 potential male parents, which is representative of what has to be resolved in this

restoration programme (see below). The mating plans were recorded for all F0 and F1 hatchery crosses performed from 2008 to 2014.

2.2 Simulation process

The aim of the simulation process was to generate genotypes which are representative of the salmon run of a given year, with a similar age structure, in order to assess how parents can be identified by the parentage assignment software.

In a given salmon run, there is a mixture of one sea-winter (1SW), two sea-winter (2SW) and three sea-winter (3SW) individuals. Reproduction happens in winter (December year N-1 to January year N), juveniles (parr) stay in the river and then migrate to the sea as smolts, generally in the spring of year N+1, but up to year N+3 for a small proportion of them. Migration back to the river happens in summer of year N+2 for 1SW salmon, and spring of years N+3 and N+4 for 2SW and 3SW salmon, respectively. Thus, in the 2014 salmon run, 1SW salmon are mostly from the 2012 winter reproduction season, 2SW from 2011 and 3SW from 2010. A small proportion of animals, having spent 2 or 3 year in the river, might be from the 2008 and 2009 reproduction seasons. Thus, parentage of individuals from the 2014 salmon run thus has to be tested on all hatchery broodstock used in the 2008–2012 reproduction seasons.

For every salmon run, there is a specific proportion of 1SW, 2SW and 3SW fish. The proportions for the 2014–2016 runs are given in Appendix A.

For each of those three run years, we simulated potential offspring genotypes from four different origins:

- F1 fish from F0 parents, from Bergerac hatchery
- F2 fish from F1 parents born in Bergerac, from Castels hatchery
- F2 fish from F1 parents born in Bergerac, from Pont-Crouzet-Cauterêts hatchery

Table 3. Mating plans used to simulate salmon offspring from years of birth 2010–2014 in the Garonne-Dordogne basin restocking program.

Origin	Year of birth	Number of factorials mating plans	N males per factorial	N females per factorial	Total males	Total females
Bergerac	2010	79	11.4 (2–20)	1.7 (1–15)	24 F0	68 F0
	2011	88	12.5 (1–20)	1.7 (1–13)	34 F0	75 F0
	2012	89	9.6 (1–16)	1.7 (1–16)	29 F0	79 F0
	2013	85	8.2 (1–16)	1.7 (1–11)	23 F0	72 F0
	2014	75	10.6 (1–17)	1.7 (1–14)	27 F0	63 F0
Castels	2010	54	6.3 (5–12)	12.4 (7–27)	338 F1	656 F1
	2011	41	6.3 (4–8)	14.7 (5–24)	243 F1	603 F1
	2012	47	6.0 (2–8)	12.8 (1–29)	271 F1	587 F1
	2013	31	7.4 (6–12)	27.0 (12–38)	229 F1	609 F1
	2014	40	6.1 (3–19)	15.7 (6–109)	244 F1	625 F1
Pont –Crouzet-Cauterets	2010	36	6.4 (3–16)	12.1 (3–23)	232 F1	435 F1
	2011	19	5.6 (2–7)	8.8 (1–14)	106 F1	168 F1
	2012	42	5.9 (5–6)	11.4 (7–15)	251 F1	488 F1
	2013	55	6.1 (5–11)	13.7 (2–17)	330 F1	753 F1
	2014	70	5.4 (1–6)	12.2 (2–22)	261 F1	853 F1
Wild	2010	1	3	2	3 F0	2 F0
	2011	1	18	17	18 F0	18 F0
	2012	1	13	12	13 F0	12 F0
	2013	1	15	16	15 F0	16 F0
	2014	1	26	26	26 F0	26 F0

Number of males and females per factorial mating plan given as mean (minimum–maximum). Mating plans for hatchery fish represent the real, recorded mating plans, while for wild-born fish they are hypothetical panmictic factorial designs.

- Wild-born individuals from F0 parents sampled in fish traps but not collected to renew the F0 stock of Bergerac.

We considered that, as the vast majority of young salmon migrate to the sea at 1 year, only the mating plans of years N-2, N-3 and N-4 would be used to generate offspring. In all hatcheries, the typical mating plan is a series of small factorial designs, each performed on a given day. Statistics on the mating plans are given in Table 3. In a given year, in general females are used in two factorial designs in Bergerac, and in one factorial design in F1 hatcheries, while males are used on average in 30 factorials in Bergerac, and in only one factorial in F1 hatcheries.

For each salmon run, 1000 individuals were simulated from each hatchery, using an in-house VBA script in Microsoft Excel (provided as Supplementary Material 1). For each individual from that hatchery, the simulation process was the following: (1) a year of birth was assigned to the individual following the distributions of 1SW, 2SW and 3SW fish corresponding to that salmon run year (Appendix A) (2) a factorial cross was randomly chosen among the ones performed that year in that hatchery, (3) a male and a female were randomly chosen among the ones in that factorial and (4) for each locus, one allele from the male and one allele from the female were randomly chosen to obtain the offspring's genotype. The real mating plans described in Table 3 were used as the basis for these simulations.

For wild-born individuals, the process was the same, with 1000 offspring generated, except that the “broodstock” of year

N was composed of wild individuals sampled at fish traps in year N-1, that were genotyped but released to the river after sampling and thus not used to renew the Bergerac F0 broodstock. We considered panmixia, thus the mating plan was one factorial design with all males and females from a given brood year. As the sex of trapped and released fish was unknown, a random arbitrary sex was assigned to each of them to achieve a balanced sex ratio.

2.3 Parentage assignment

All 4000 simulated individuals from a given salmon run (1000 wild-born and 1000 per hatchery) were assigned using Accurassign, a likelihood-based parentage assignment software (Boichard et al., 2014), with 10.000 simulations to set up assignment thresholds. Missing genotype rate was set to 1%, close to the observed value of 1.16% in the genotypes database, and genotyping error rate was set to 1%. According to Boichard et al. (2014), genotyping error rate is not a key parameter in their algorithm, and has to be low enough to penalize mismatches, but not too low to avoid exclusion based on a single marker incompatibility, and 1% is the default value. For the salmon run in year N, potential parents against which individual genotypes were tested included all hatchery broodstock used in years N-2 to N-6. This was done to have the same mating plan as the one used to analyse real returning salmon, for which the possibility that a juvenile may stay up to three years in fresh water is considered. However, simulated genotypes were only from parents in years N-2 to N-4, as the vast majority of salmon is expected to stay only one year in

freshwater. To mimic reality, the genotypes of the parents of the simulated wild-born offspring were not included in the parent genotype database. The total number of potential parents was 5093 (3274 ♀, 1819 ♂) for the 2014 run, 5584 (3532 ♀, 2052 ♂) for the 2015 run and 5796 (3643 ♀, 2153 ♂) for the 2016 run.

Only offspring and parents which had a minimum of six properly genotyped loci out of the nine were included in the analysis, the other were qualified as non-compliant (NC).

Fish were assigned to their parents solely based on their genotype, and mating plan information was used only *a posteriori* to classify assignments as follows:

- Assigned within mating plan (AssW) when the software assigned the individual to a single parental pair, which was part of the recorded mating plan
- Assigned out of mating plan (AssO) when the software assigned the individual to a single parental pair, which was out of the recorded mating plan
- Polyassigned (Poly) when two or more parent pairs were compatible with the offspring, but likelihood differences did not permit to rank them with sufficient confidence
- Not assigned (Nass) when no parent pair was compatible with the offspring.

Given that the true parent pair was known for all simulated hatchery offspring, all assignments could be qualified as true or false.

Parentage assignment was also carried out for all returning individuals sampled at fish traps in 2014 to 2016 salmon runs following same approach (i.e. using the same parental genotype data set and the same mating plans).

Finally, in order to assess the reliability of the recorded mating plans, F1 individuals from the F1 hatcheries were assigned to their F0 parents from Bergerac, from years of birth 2008 to 2014.

2.4 Statistical analysis

Our aim was to estimate the true number of wild-born individuals among returning fish in a given salmon run, using assignment results from both the returning and simulated individuals, as well as to evaluate the reliability of assigning an individual fish to a “hatchery” or “wild-born” origin, depending on parentage assignment results.

Parentage assignment results from simulated offspring were summarized as proportion of individuals assigned within the mating plan $P(\text{AssW})$ and proportion of individuals with other assignment results $P(\text{other})$, which included all results (AssO, Poly, Nass) other than AssW.

From simulated hatchery fish, we could estimate $P(\text{other})$, conditional on the fact that animals were from hatchery origin, which was noted $P(\text{other}|\text{hatch})$. Similarly, from simulated wild-born fish, we could estimate $P(\text{other}|\text{wild})$. This was done for each simulated salmon run from 2014 to 2016.

The proportion of individuals with other assignment results in real data $P(\text{other})$ was estimated from the returning individuals of each salmon run from 2014 to 2016. Using Bayes’ theorem, we could derive the probability of being wild for a returning individual, conditional on being assigned

as “other”:

$$P(\text{wild}|\text{other}) = \frac{P(\text{other}|\text{wild})P(\text{wild})}{P(\text{other})} \quad (1)$$

Similarly, we could derive the probability of being from hatchery origin, conditional on being assigned as “other”:

$$P(\text{hatch}|\text{other}) = \frac{P(\text{other}|\text{hatch})P(\text{hatch})}{P(\text{other})} \quad (2)$$

Similar formulae were derived for:

$$P(\text{wild}|\text{AssW}) = \frac{P(\text{AssW}|\text{wild})P(\text{wild})}{P(\text{AssW})} \quad (3)$$

$$P(\text{hatch}|\text{AssW}) = \frac{P(\text{AssW}|\text{hatch})P(\text{hatch})}{P(\text{AssW})} \quad (4)$$

Since

$$P(\text{hatch}|\text{other}) + P(\text{wild}|\text{other}) = 1 \quad (5)$$

and

$$P(\text{hatch}) + P(\text{wild}) = 1 \quad (6)$$

Equations (1), (2), (5) and (6) can be combined to obtain an estimate of the proportion of wild-born individuals in a given salmon run:

$$P(\text{wild}) = \frac{P(\text{other}) - P(\text{other}|\text{hatch})}{P(\text{other}|\text{wild}) - P(\text{other}|\text{hatch})} \quad (7)$$

This proportion $P(\text{wild})$ of wild-born returning salmon was estimated for the 2014 to 2016 salmon runs. This estimate may be modified if non-compliant parents are excluded from the analysis because they have only six or less loci genotyped (or have not been sampled). If $P(\text{NC})$ is the proportion of non-compliant hatchery parents, a reasonable hypothesis is that a proportion $P(\text{NC})$ of the hatchery offspring will be identified as wild (i.e. from unknown parents). If $P'(\text{wild})$ and $P'(\text{hatch})$ are the proportions of wild-born and hatchery fish taking into account the fact this proportion of non-compliant parents, then

$$P'(\text{wild}) = P(\text{wild}) - P(\text{NC})P'(\text{hatch}) \quad (8)$$

As $P'(\text{hatch}) + P'(\text{wild}) = 1$ (Eq. (7)) and thus $P'(\text{hatch}) = 1 - P'(\text{wild})$, equation (6) can be re-arranged as:

$$P'(\text{wild}) = \frac{P(\text{wild}) - P(\text{NC})}{1 - P(\text{NC})} \quad (9)$$

3 Results

Globally, the parentage assignment procedure was very accurate in all simulated salmon runs (Tab. 4). These formulae are implemented in the spreadsheet provided as

Table 4. Parentage assignment of Atlantic salmon offspring with simulated genotypes at 9 microsatellite markers, for three salmon run years (2014–2016) in the Garonne-Dordogne Basin.

Year	Origin	<i>N</i>	Assigned within mating plan (AssW %)	Assigned out of mating plan (AssO %)	Poly assigned (Poly %)	Not assigned (Nass %)	Other than AssW (%)	% True couple found among AssW (%)
2014	BG sim	1000	97.1	0.2	2.7	0.0	2.9	99.8
	CS sim	1000	93.9	0.3	5.8	0.0	6.1	100.0
	PCC sim	1000	97.9	0.2	1.9	0.0	2.1	100.0
	<i>Average hatchery sim</i>	3000	96.3	0.2	3.5	0.0	3.7	99.9
	Wild sim	1000	2.2	22.6	57.6	17.6	97.8	–
	Real captured	144	63.2	17.4%	11.8	7.6	36.8	–
2015	BG sim	1000	94.6	0.5	4.9	0.0	5.4	99.8
	CS sim	1000	95.5	0.1	4.4	0.0	4.5	100.0
	PCC sim	1000	98.3	0.0	1.7	0.0	1.7	100.0
	<i>Average hatchery sim</i>	3000	96.1	0.2	3.7	0.0	3.9	99.9%
	Wild sim	1000	3.3	21.0	58.6	17.1	96.7	–
	Real captured	189	67.2	9.5	21.7	1.6	32.8	–
2016	BG sim	1000	96.7	0.7	2.6	0.0	3.3	100.0%
	CS sim	1000	98.0	0.0	2.0	0.0	2.0	100.0
	PCC sim	1000	98.3	0.1	1.6	0.0	1.7	100.0
	<i>Average hatchery sim</i>	3000	97.7	0.3	2.1	0.0	2.3	100.0
	Wild sim	1000	2.7	25.0	58.7	13.6	97.3	–
	Real captured	124	69.4	16.1	10.5	4.0	30.6%	–
	Total hatchery sim	9000	96.7	0.2	3.1	0.0	3.3	99.9
	Total wild sim	3000	2.7	22.9	58.3	16.1	97.3%	–

Three hatchery origins were simulated, Bergerac (BG) with F0 parents, Castels (CS) and Pont-Crouzet-Cauterêts (PCC) from F1 parents, using the real genotypes of hatchery parents and the recorded mating plans. Wild-born individuals were simulated from non-hatchery parents. Real captured returning individuals from each salmon run were assigned with the same set of potential parents.

Table 5. Probabilities associated to the 2014–2016 salmon runs (real data) in the Garonne-Dordogne basin.

Probability	Equation	Year of salmon run			Average (%)
		2014 (%)	2015 (%)	2016 (%)	
$P(\text{wild})$	[7]	35.2	31.2	29.8	32.1
$P(\text{wild} \text{other})$	[1]	93.5	91.9	94.7	93.3
$P(\text{hatch} \text{AssW})$	[4]	98.8	98.5	98.8	98.7
$P(\text{NC})$		1.8	1.7	2.2	1.9
$P'(\text{wild})$	[9]	34.0	30.0	28.3	30.7

$P(\text{wild})$ is the estimated proportion of wild-born fish, $P(\text{wild}|\text{other})$ is the probability that a given animal is wild-born if it is assigned as “other” than AssW, $P(\text{hatchery}|\text{AssW})$ is the probability that a given animal is hatchery-born if it is assigned within the mating plan (AssW), $P(\text{NC})$ is the proportion of non-compliant parents in the reference hatchery mating plan for a given run year, and $P'(\text{wild})$ is the estimated proportion of wild-born fish taking into account the proportion of non-compliant parents.

Supplementary Material 1. The vast majority of hatchery-born simulated offspring was assigned within the mating plan (96.7%), contrary to wild-born simulated offspring (2.7%). However, assignment success was not symmetrical for non-assigned fish, which were 0% of the hatchery simulated offspring, but only 16.1% of the wild-born simulated offspring. Indeed, the most represented category among wild-born simulated offspring was poly-assigned fish (58.3%) followed by fish assigned out of the mating plan (22.9%). When assignment results were grouped in the “other than assigned within the mating plan” category, there was a clear differentiation between hatchery and wild-born simulated

fish, with 3.3% of hatchery fish and 97.3% of wild-born fish classified as “other”.

Real returning salmon were assigned in significant numbers both to the AssW category (typical of hatchery simulated salmon) and to the “other than AssW” category (typical of wild-born simulated salmon), showing that these returning fish were a mixture of wild-born and hatchery salmon. Using equation (7), we could estimate the proportion of wild salmon in the 2014, 2015 and 2016 salmon runs (Tab. 5), which was 32.1% on average. Taking into account the proportion of non-compliant parents in the reference mating plans for the different runs, which was 1.8% for 2014, 1.7% for

Table 6. Assignment of F1 salmon broodstock to their F0 parents.

Year of birth	N F0 parents			NC F1 (%)	F1 offspring assignment types			
	N	Males	Females		AssW (%)	AssO (%)	Poly (%)	NAss (%)
2008	601	20	40	0.8	98.5	0.5	0.7	0.3
2009	1154	32	60	1.2	95.9	2.4	0.3	1.5
2010	1296	24	68	0.4	95.0	0.2	1.0	3.9
2011	831	34	75	0.2	96.3	0.4	0.4	3.1
2012	414	29	79	0.5	92.5	0.5	0.5	6.5
2013	1922	23	72	0.5	87.4	4.7	0.8	7.1
2014	809	27	63	0.5	92.0	4.3	0.6	3.0
2008–2014 average		27	65	0.6	93.9	1.9	0.6	3.6

NC F1: proportion of non-compliant genotypes (<7 markers) in F1 offspring. Assignment rates are given for compliant offspring. AssW: assigned within mating plan; AssO: assigned out of mating plan; Poly: assigned to several parent pairs; NAss: not assigned.

2016 and 2.2% for 2016, the corrected proportion was 30.7% wild-born fish on average.

The probability that a given individual was from hatchery origin if it was assigned within the mating plan (AssW) was very high, 98.7% on average. The probability that a given individual was wild-born if assigned as “other” (AssO, Poly, NAss) was also very high (93.3% on average).

Assignment rates of F1 hatchery individuals to their F0 parents were high, 95.8% on average, with 93.9% assigned within the mating plan and 1.9% assigned out of the mating plan (Tab. 6). Assignment out of the mating plan was rather variable, 0.5% or lower in four years, 2.4% in 2009, 4.7% in 2013 and 4.3% in 2014. Poly assignments were more stable across years, around 0.6%. Unassigned offspring were 3.6% on average.

4 Discussion

We showed that the parentage tracing system (9 microsatellites, analysed with Accurassign) used to monitor the Garonne-Dordogne Atlantic salmon restocking program was highly efficient, as 96.7% of the simulated hatchery fish could be traced back to a single parental pair belonging to the mating plan, and among those, the right parent pair was identified in 99.9% of cases (Tab. 4). This was true, despite the very large number of potential parents tested, which was higher than 5000 in all cases. For the 2016 salmon run, there were 5796 parents (3643 ♀, 2153 ♂) which corresponds to 7843379 potential families, considering the fact that the mating plan was not used in the assignment procedure *per se*, but only *a posteriori* to differentiate animals that were assigned within or outside of the mating plan. This is an excellent result, which is in line with those obtained in other salmonid restocking programmes (Steele et al., 2019). For example, 91.6–94.8% assignment rates were obtained by Beacham et al. (2019) in the coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) program of British Columbia with 304 SNPs genotyped. Interestingly, in the present study, the observed assignment rate (96.7%) was higher than the theoretical exclusion power (90.2%) that we estimated in Material and Methods for the marker set used, in a design with 5500 potential parents (3500 ♀, 2000 ♂), using the formula from Vandeputte (2012). This is most likely due to the fact that

Accurassign uses a maximum likelihood algorithm, which is more efficient than simple exclusion (Boichard et al., 2014).

Not unexpectedly, we showed that data were at first sight more difficult to interpret for wild-born simulated animals. By construction, the parents of those wild-born fish were not present among the potential parents. Despite this, 25.6% of these wild-born fish were assigned to a single parental pair, 58.3% were assigned to multiple parental pairs, and only 16.1% were declared unassigned. It is not surprising that among the several millions of possible parental pairs, some present a likelihood to be compatible with the offspring that may cheat the assignment software. However, we could see that those wild-born individuals which were assigned to a single pair were spread across the full factorial mating scheme with all possible male-female combinations, and only a small proportion of them was within the effectively performed mating scheme. Only 2.7% of the wild fish were assigned to a single pair within the real mating scheme, and 22.9% were assigned out of the mating scheme. Thus, 89.4% of the wild fish that were assigned to a single pair were assigned to families that were not supposed to exist. This gave a rather efficient solution to identify these animals as not being of hatchery origin, especially as only 0.2% of the real hatchery fish were assigned to those “out of plan” families. Indeed, the real mating plan used to analyse the 2016 salmon run was composed of 28430 families out of a theoretical total of 7843379 in 2016 (thus 0.4% of the total number of families). If families of the wrongly assigned wild fish were really randomly spread all across the full factorial mating plan, we would expect that 99.6% of them would be assigned as “out of plan” instead of 89.4%. It is probably due to the fact that many of the returning salmon used as parents for the wild simulated individuals are from hatchery origin, and therefore have genotypes that are closer to those of effectively used families than random crosses. Nevertheless, the classification remains highly efficient for discriminating wild-born from hatchery individuals (Tab. 5), and enabled us to estimate that an average 32.1% of the returning fish were wild-born in the three salmon runs studied. This estimate could be refined by taking into account the proportion of parental fish with missing genotype, which was 1.9% on average. The potential offspring of those fish could not be assigned to their parents, and thus were

considered wild-born. When this issue was accounted for, the proportion of wild-born fish reduced to 30.7%. With this level of missing data, the consequences are limited, however this highlights the necessity to collect parental DNA with particular care, as it can lead to very high numbers of unassigned fish when parents sampling is incomplete (Araki et al., 2009). One more potential issue here is the fact that we assigned individuals as “wild-born” (implicitly from reproduction events in the Garonne-Dordogne river system) when they could not be assigned to Migado hatchery broodstock. An alternative explanation may be that those individuals were straying from other river systems. Indeed, it was shown in Southern France that up to 12–23% of returning salmon in the river Nivelle were from the nearby Bidasoa river population (Valiente et al., 2010). However, the distance between Nivelle and Bidasoa estuaries is very short (10 km), while in the case of Garonne-Dordogne, the closest salmon rivers are Loire (210 km to the North) and Adour (230 km to the South), which makes straying much more unlikely. Indeed, proven examples of recolonization by straying individuals from other river systems mostly imply nearby rivers: 7 km in Vasemägi et al. (2001) and Grandjean et al. (2009), mostly less than 60 km in Jonsson et al. (2003), but distant straying (>100 km), although less frequent, can also happen (Jonsson et al., 2003; Perrier et al., 2009). It is also suggested that straying salmon tend to stray more in unoccupied habitats than in rivers with an existing population (Vasemägi et al., 2001). Taken together, these observations suggest that while straying from other river systems cannot be ruled out, it is unlikely to represent the majority of the “wild-born” salmon identified here.

The efficiency of our approach to identify wild-born fish is also very much dependent on the exactness of the mating plan, which allowed to classify as “wild-born” those individuals which were assigned by the software to a parent pair that was not in hatchery records. However, if the mating plan was poorly recorded, individuals from families that were not recorded would have appeared as “assigned out of plan”, and thus as wild-born. We did not have data to evaluate the exactness of the mating plan of F2 individuals, but could do it for the F1. “Out of plan” assignments were 1.9% on average, showing that the recording system put in place was globally efficient in the Bergerac hatchery, and is thus likely to be equally efficient in the other hatcheries. We could see that “out of plan” assignments were very low (0.5% or less) in four of the years studied, corresponding to the expected values obtained in simulated offspring, for which the mating plan is exact by nature (BG sim in Tab. 4). However, these “out of plan” assignments reached significant values (2.4–4.7%) in three years. This is indicative that some mistakes happen in the recording of mating plans, albeit at low levels. Specifically, in 2013, 85 of the 90 “out of plan” offspring came from a single male, which was thus most probably participating, but was not recorded as such. In addition, we could see that unassigned individuals were more numerous (3.6% on average) than expected by simulation (0.0%, see BG sim in Tab. 4). This is likely due to the fact that F1 individuals from several years may coexist in F1 hatchery tanks, and that their DNA is sampled at the time of first reproduction, year of birth being assessed based on their size and maturity status. In a given year of DNA collection, it is thus likely that a few individuals are

not from the alleged year of birth, which leads to their parents not being considered as potential parents in the analysis, and then to lack of assignment. However, this is not the case for the mating plans used to analyse migrants, where all potential parents are recorded. Nevertheless, if the power of the marker set was higher, the reliance on the mating plan could be minimized, as we would expect to see much less “assigned” (and polyassigned) individuals among wild-born ones, and many more “unassigned” ones. Therefore, since 2015, all individuals are genotyped for 17 microsatellite markers, but it will take several years before all potential parents of a given run have genotypes at 17 markers, thus the present approach remains useful, especially since we expect that even with more markers, the proportion of assigned and polyassigned fish within the wild ones will be strongly reduced but may not fall to zero.

5 Conclusion

We showed that in the context of the Garonne-Dordogne Atlantic salmon restocking programme, parentage tracing with microsatellite markers was efficient to discriminate hatchery-born from wild-born individuals when DNA samples of wild-born parents are not available. Practically speaking, we showed that individuals assigned within the known mating plan were from hatchery origin with 98.7% certainty. As traceability of the age and place of release of all mating plans is implemented in the recording system, this will enable the study of the most suitable sites and stages for restocking, including very young stages (eyed eggs, fry) at which physical tagging is not possible. In addition to those classical approaches, identifying wild-born animals, also with a high level of certainty (93.3%), will pave the way to studies on the abundance of those wild reproduction events, and on possible divergence between the wild-born and the hatchery individuals. It is of special importance to properly identify wild-born fish in such a restoration program, as establishing a self-sustained population is the final aim of the program. In this program, as the choice was made to stock mostly first-feeding fry, for logistic reasons, it is not possible to use adipose fin-clipping or coded wire tags to identify hatchery-born fish, and then, by difference, wild-born ones. Thus, demonstrating that they may be identified using genetic tagging, as we did in this study, is a key step to an efficient monitoring of the progress of the Migado program towards its objectives. A second potential benefit of the ability to identify wild-born individuals would be to use them (instead of randomly sampled migrants, most of which are presently of direct hatchery origin) as F0 parents in the Bergerac breeding center. This could be an interesting option to increase genetic diversity and counteract domestication selection in Migado hatcheries.

6 Data availability

Genotypes and mating plans available as: Vandeputte, Marc; Bestin, Anastasia; Fauchet, Louarn; Allamellou, Jean-Michel; Bosc, Stéphane; Menchi, Olivier; Haffray, Pierrick, 2020, “data for “Can we identify wild-born salmon from

parentage assignment data? A case study in the Garonne-Dordogne rivers salmon restoration programme in France.””, <https://doi.org/10.15454/VXSILB>, Portail Data INRAE.

Supplementary Material

Workbook with macros to simulate salmon offspring genotypes and estimate the proportion of wild-born salmon.

The Supplementary Material is available at <https://www.alr-journal.org/10.1051/alr/2021008/olm>.

Acknowledgements. We wish to thank the personnel of the Migado hatcheries in Bergerac, Castels and Pont Crouzet and of the hatchery of the Fishermens’ Federation of Hautes Pyrénées in Cauterêts for efficient management and data collection. We also thank Matthieu Chanseau from Office Français de la Biodiversité, Patrick Chèvre and René Guyomard from INRAE, for their initial contribution to the project. This work was financed by the “Programme général de restauration du saumon en Nouvelle Aquitaine” (European Union FEDER programme grant n° 2019–8015210, Agence de l’Eau Adour Garonne grant n°240.24.2120, Région Nouvelle Aquitaine grant n°EL8949220) and the “Programme de restauration des migrateurs du bassin de la Garonne en Occitanie” (European Union FEDER programme grant n° MP0025359, Agence de l’Eau Adour Garonne grant n°240.31.2335) as well as by Office Français de la Biodiversité.

Appendix A

Proportion of one sea winter, two sea winters and three sea winters salmon recorded in the 2014–2016 salmon runs in the Garonne-Dordogne river system.

	Sea age of salmon for each run		
	1SW (%)	2SW (%)	3SW (%)
2016 run	43	53	3
2015 run	16	78	6
2014 run	9	87	4

References

- Araki H, Cooper B, Blouin MS. 2009. Carry-over effect of captive breeding reduces reproductive fitness of wild-born descendants in the wild. *Biol Lett* 5: 621–624.
- Aykanat T, Johnston SE, Cotter D, Cross TF, Poole R, Prodöhl PA, Reed T, Rogan G, McGinnity P, Primmer CR. 2014. Molecular pedigree reconstruction and estimation of evolutionary parameters in a wild Atlantic salmon river system with incomplete sampling: a power analysis. *BMC Evol Biol* 14: 68.
- Beacham TD, Wallace C, Jonsen K, McIntosh B, Candy JR, Willis D, Lynch C, Moore J-S., Bernatchez L, Withler RE. 2019. Comparison of coded-wire tagging with parentage-based tagging and genetic stock identification in a large-scale coho salmon fisheries application in British Columbia, Canada. *Evol Appl* 12: 230–254.
- Boichard D, Barbotte L, Genestout L. 2014. AccurAssign, software for accurate maximum-likelihood parentage assignment, in: Proceedings of the 10th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, p. 397.
- Evans ML, Johnson MA, Jacobson D, Wang J, Hogansen M, O’Malley KG. 2015. Evaluating a multi-generational reintroduction program for threatened salmon using genetic parentage analysis. *Can J Fish Aquat Sci* 73: 844–852.
- Grandjean F, Verne S, Cherbonnel C, Richard A. 2009. Fine-scale genetic structure of Atlantic salmon (*Salmo salar*) using microsatellite markers: effects of restocking and natural recolonization. *Freshw Biol* 54: 417–433.
- Griot R, Allal F, Brard-Fudulea S, Morvezen R, Haffray P, Phocas F, Vandeputte M. 2020. APIS: An auto-adaptive parentage inference software that tolerates missing parents. *Mol Ecol Resour* 20: 579–590.
- Hess MA, Rabe CD, Vogel JL, Stephenson JJ, Nelson DD, Narum SR. 2012. Supportive breeding boosts natural population abundance with minimal negative impacts on fitness of a wild population of Chinook salmon. *Mol Ecol* 21: 5236–5250.
- Jamieson A. 1965. The genetics of transferrins in cattle. *Heredity* 20: 419–441.
- Jonsson B, Jonsson N, Hansen LP. 2003. Atlantic salmon straying from the River Imsa. *J Fish Biol* 62: 641–657.
- Kalinowski ST, Taper ML, Marshall TC. 2007. Revising how the computer program cervus accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Mol Ecol* 16: 1099–1106.
- Kuparinen A, Keith DM, Hutchings JA. 2014. Allee effect and the uncertainty of population recovery. *Conserv Biol* 28: 790–798.
- McGinnity P, Prodöhl P, Ferguson A, Hynes R, O’Maoileidigh N, Baker N, Cotter D, O’Hea B, Cooke D, Rogan G, Taggart J, Cross T. 2003. Fitness reduction and potential extinction of wild populations of Atlantic salmon, *Salmo salar*, as a result of interactions with escaped farm salmon. *Proc R Soc B Biol Sci* 270: 2443–2450.
- Paterson S, Piertney SB, Knox D, Gilbey J, Verspoor E. 2004. Characterization and PCR multiplexing of novel highly variable tetranucleotide Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) microsatellites. *Mol Ecol Notes* 4: 160–162.
- Perrier CP, Evanno GE, Belliard JB, Guyomard RG, Baglinière J-LB-L. 2009. Natural recolonization of the Seine River by Atlantic salmon (*Salmo salar*) of multiple origins. *Can J Fish Aquat Sci* 67: 1–4.
- Slettan A, Olsaker I, Lie Ø. 1995. Atlantic salmon, *Salmo salar*, microsatellites at the SSOSL25, SSOSL85, SSOSL311, SSOSL417 loci. *Anim Genet* 26: 281–282.
- Steele CA, Hess M, Narum S, Campbell M. 2019. Parentage-based tagging: reviewing the implementation of a new tool for an old problem. *Fisheries* 44: 412–422.
- Stephens PA, Sutherland WJ. 1999. Consequences of the Allee effect for behaviour, ecology and conservation. *Trends Ecol Evol* 14: 401–405.
- Thibault M. 1994. Aperçu historique sur l’évolution des captures et des stocks. In: Le Saumon Atlantique, Biologie et Gestion de La Ressource. Guegen, J.C. & Prouzet, P., Plouzané, Ifremer, pp. 173–183.

- Valiente AG, Beall E, Garcia-Vazquez E. 2010. Population genetics of south European Atlantic salmon under global change. *Global Change Biol* 16: 36–47.
- Vandeputte M. 2012. An accurate formula to calculate exclusion power of marker sets in parentage assignment. *Genet Sel Evol* 44: 36.
- Vandeputte M, Haffray P. 2014. Parentage assignment with genomic markers: a major advance for understanding and exploiting genetic variation of quantitative traits in farmed aquatic animals. *Front Genet* 5: 432.
- Vasemägi A, Gross R, Paaver T, Kangur M, Nilsson J, Eriksson L-O. 2001. Identification of the origin of an Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) population in a recently recolonized river in the Baltic Sea. *Mol Ecol* 10: 2877–2882.
- Wang J. 2012. Computationally efficient sibship and parentage assignment from multilocus marker data. *Genetics* 191: 183–194.

Cite this article as: Vandeputte M, Bestin A, Fauchet L, Allamellou J-M, Bosc S, Menchi O, Haffray P. 2021. Can we identify wild-born salmon from parentage assignment data? A case study in the Garonne-Dordogne rivers salmon restoration programme in France. *Aquat. Living Resour.* 34: 7

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 :



Union Européenne



RÉGION
**Nouvelle-
Aquitaine**

*La Nouvelle-Aquitaine et l'Europe
agissent ensemble pour votre territoire*



RÉPUBLIQUE
FRANÇAISE

*Liberté
Égalité
Fraternité*

eAU

GRAND SUD-OUEST
AGENCE DE L'EAU ADOUR-GARONNE



RÉGION
**Nouvelle-
Aquitaine**


CORREZE
Conseil Général

Autre partenaire :



Association MIGADO

18 ter rue de la Garonne - 47520 LE PASSAGE D'AGEN - Tel : 05 53 87 72 42

www.migado.fr -    