

Projet Laurentia

PROGRAMME DE RECHERCHE DE L'APQ SUR LA REPRODUCTION DU BAR RAYÉ VISANT À CONTRIBUER AU PROGRAMME DE RÉTABLISSEMENT ET PLAN D'ACTION POUR LA POPULATION DE BAR RAYÉ DU FLEUVE SAINT-LAURENT

Novembre 2020

**Campagnes de terrain 2020 - Présentation
méthodes et résultats**

046-P-0022085-0-01-EN-R-0100-00

VERSION FINALE



Préparé par : <Original signé par>

Jean Carreau, biol., M. Sc.
Chargé de projet
Études environnementales et relations
avec les communautés

Vérifié et
approuvé par : <Original signé par>

Marc Gendron, biol., M. Sc.
Directeur de projet
Études environnementales et relations
avec les communautés

Registre des révisions et émissions		
N° de révision	Date	Description
0A	25 septembre 2020	Émission de la version préliminaire
00	27 novembre 2020	Émission de la version finale

Propriété et confidentialité

« Ce document est destiné exclusivement aux fins qui y sont mentionnées. Toute utilisation du rapport doit prendre en considération l'objet et la portée du mandat en vertu duquel le rapport a été préparé ainsi que les limitations et conditions qui y sont spécifiées et l'état des connaissances scientifiques au moment de l'émission du rapport. Englobe Corp. ne fournit aucune garantie ni ne fait aucune représentation autre que celles expressément contenues dans le rapport.

Ce document est l'œuvre d'Englobe Corp. Toute reproduction, diffusion ou adaptation, partielle ou totale, est strictement prohibée sans avoir préalablement obtenu l'autorisation écrite d'Englobe et de son Client. Pour plus de certitude, l'utilisation d'extraits du rapport est strictement interdite sans l'autorisation écrite d'Englobe et de son Client, le rapport devant être lu et considéré dans sa forme intégrale.

Aucune information contenue dans ce rapport ne peut être utilisée par un tiers sans l'autorisation écrite d'Englobe et de son Client. Englobe Corp. se dégage de toute responsabilité pour toute reproduction, diffusion, adaptation ou utilisation non autorisée du rapport.

Si des essais ont été effectués, les résultats de ces essais ne sont valides que pour l'échantillon décrit dans le présent rapport.

Les sous-traitants d'Englobe qui auraient réalisé des travaux au chantier ou en laboratoire sont dûment évalués selon la procédure relative aux achats de notre système qualité. Pour toute information complémentaire ou de plus amples renseignements, veuillez communiquer avec votre chargé de projet. »

Table des matières

1	INTRODUCTION	1
2	RECHERCHE D'ŒUFS ET LARVES	3
2.1	Contexte	3
2.2	Objectifs	3
2.3	Méthodologie	3
2.3.1	Travaux de terrain	3
2.3.2	Travaux de laboratoire	9
2.4	Résultats	9
2.4.1	Échantillonnage	9
2.4.2	Travaux en laboratoire et analyses d'ADN	11
3	SUIVI DES JEUNES DE L'ANNÉE	15
3.1	Contexte	15
3.2	Objectif	15
3.3	Méthodologie	15
3.3.1	Paramètres mesurés	16
3.4	Résultats	17
3.4.1	Stations visitées	17
3.4.2	Description des captures et travaux en laboratoire	17
4	CONSTATS	29
5	PROCHAINES ÉTAPES	31
6	RÉFÉRENCES	33

Cartes

Carte 1	Inventaires œufs et larves – Secteur Richelieu.....	5
Carte 2	Inventaire œufs et larves – Secteur Fluvial.....	7
Carte 3	Inventaire des jeunes de l'année.....	19
Carte 4	Distribution des captures de jeunes de l'année - Secteur 4.....	21
Carte 5	Distribution des captures de jeunes de l'année - Secteur 5.....	23
Carte 6	Distribution des captures de jeunes de l'année - Secteur 6.....	25
Carte 7	Distribution des captures de jeunes de l'année - Secteur 7.....	27

Figure

Figure 1	Variation des températures de l'eau dans la rivière Richelieu (station Aux Rapides Fryers (02OJ007)) et dans le fleuve Saint-Laurent (station Deschailons (03335)), au cours du printemps 2020.....	10
----------	---	----

Tableaux

Tableau 1	Description des stations d'inventaire.....	4
Tableau 2	Rivière Richelieu; nombre d'échantillons par secteur, par engin et par date.....	11
Tableau 3	Tronçon fluvial; nombre d'échantillons par secteur et par date.....	11
Tableau 4	Nombre d'œufs et de larves récoltés dans les échantillons prélevés à l'aide de filet à plancton dans la rivière Richelieu, au printemps 2020.....	12
Tableau 5	Nombre d'œufs et de larves récoltés dans les échantillons prélevés à l'aide de filet à plancton dans le fleuve Saint-Laurent (stations Bécancour et Portneuf), au printemps 2020.....	13
Tableau 6	Synthèse des résultats d'identification des œufs et larve à l'aide de l'ADN pour la rivière Richelieu et le tronçon fluvial.....	14
Tableau 7	Description des seines de rivage disponibles.....	16
Tableau 8	Nombre de stations d'inventaire par secteur visé.....	17
Tableau 9	Résultats des captures de bar rayé de l'année.....	18

Annexes

Annexe 1	Protocole d'échantillonnage pour la caractérisation de l'ichtyoplancton
Annexe 2	Protocole Laboratoire – Tri et identification des œufs et des larves de bar rayé
Annexe 3	Détails des résultats d'analyse d'ADN pour les échantillons de la rivière Richelieu et le tronçon fluvial
Annexe 4	Identification d'œufs de poisson par une approche moléculaire de code-barres génétiques

Sommaire exécutif

Dans le cadre des efforts de recherche menés par l'Administration portuaire de Québec (APQ) au cours des dernières années au sujet du bar rayé et de son comportement de reproduction dans le fleuve Saint-Laurent, ainsi qu'à la lumière des résultats des suivis télémétriques réalisés en 2019, Englobe Corp. (Englobe) a procédé à une nouvelle campagne de terrain en 2020. Dans le contexte particulier de cette année, les efforts scientifiques initialement prévus afin de documenter la dynamique de reproduction du bar rayé ont été orientés vers des activités permettant de compléter les travaux de recherche effectués par le ministère de la Faune, de la Forêt et des Parcs (MFFP).

Englobe a donc utilisé les protocoles du MFFP et a dirigé les efforts vers l'échantillonnage d'œufs et de larves de bar rayé en période de reproduction, ainsi que vers l'inventaire des jeunes de l'année plus tard en période estivale. Afin de mieux comprendre la dynamique de cette espèce dans le fleuve Saint-Laurent, la zone d'étude a couvert un tronçon s'étendant de l'île d'Orléans jusqu'à la rivière Richelieu.

À la suite des différentes campagnes de terrain, il en ressort que des œufs de bar rayé ont été découverts pratiquement dans tout le tronçon inventorié, soit dans la rivière Richelieu de son embouchure au barrage de Saint-Ours et dans le fleuve Saint-Laurent de Bécancour à Cap-Rouge. Cette observation confirme donc la présence de frayères de bar rayé en amont des frayères jusqu'ici identifiées par les autorités (rivière du Sud et secteur Beauport). Aussi, de jeunes spécimens de l'année ont été capturés à l'aide des pêches à la seine en amont de Québec, jusqu'à Bécancour. Ces informations suggèrent que non seulement l'espèce fraie en plusieurs lieux en amont de Québec, mais que ces événements de reproduction permettent un recrutement efficace.

1 Introduction

Depuis plusieurs années, l'Administration portuaire de Québec (APQ) commande des études concernant plusieurs espèces de poissons valorisées. L'objectif de ces études est de mieux comprendre la dynamique des populations de poissons pouvant potentiellement être influencées par les activités industrialo-portuaires et, notamment, par la réalisation du projet Laurentia.

Afin de poursuivre cette acquisition de connaissances permettant de mieux comprendre le comportement de la population réintroduite de bar rayé (*Morone saxatilis*) dans le fleuve Saint-Laurent, l'APQ a mandaté Englobe afin de continuer les suivis télémétriques annuels. Toutefois, dans le contexte particulier du printemps 2020, des discussions avec le ministère de la Faune, de la Forêt et des Parcs (MFFP) ont permis de déterminer que les ressources dédiées aux suivis du bar rayé au ministère pourraient être insuffisantes pour réaliser les suivis envisagés. L'APQ a donc offert de contribuer à ces efforts. Un partage des stations d'inventaires prévues et des protocoles méthodologiques ont ensuite permis à Englobe d'obtenir les permis nécessaires pour réaliser les inventaires d'œufs et de larves dans des secteurs complémentaires aux équipes du MFFP. Des inventaires de jeunes de l'année ont également été planifiés afin de statuer sur l'efficacité potentielle de recrutement des frayères qui pourraient être nouvellement découvertes.

Cette approche s'inscrivait donc dans un esprit de collaboration souhaité par l'APQ afin de pouvoir faire évoluer les connaissances sur le bar rayé le plus rapidement possible. En effet, l'APQ souhaite contribuer aux études identifiées dans l'ébauche du programme de rétablissement et plan d'action pour la population de bar rayé du fleuve Saint-Laurent, visant à préciser les habitats essentiels du bar rayé, notamment en ce qui concerne la reproduction.

Le programme de recherche de l'APQ pour 2020 vise plusieurs volets, décrits dans les sections suivantes. Ce programme vise l'acquisition de nouvelles données scientifiques qui seront profitables aux autorités responsables de la gestion de l'espèce, aux différents acteurs du milieu, au public en général et également au programme de suivi proposé par l'APQ dans le cadre de l'étude d'impact environnemental de Laurentia. Ce programme de suivi visera éventuellement la poursuite de ces recherches scientifiques afin d'offrir les ressources nécessaires permettant d'appuyer les autorités dans les suivis des espèces sensibles.

2 Recherche d'œufs et larves

2.1 Contexte

Les résultats du suivi télémétrique des bars rayés effectués durant la période de fraie printanière de 2019 ont montré que 60 % des géniteurs détectés dans l'estuaire fluvial ont remonté le fleuve jusqu'en amont de l'exutoire du lac Saint-Pierre (Englobe, 2019). Ces résultats ont été corroborés par les pêches effectuées par le MFFP au printemps 2019 au niveau de l'archipel de Sorel et de l'embouchure de la rivière Richelieu qui ont permis la capture de quelques centaines de bars rayés (MFFP données non publiées). Ce résultat est également corroboré dans une certaine mesure par des informations provenant de la Fédération québécoise des chasseurs et pêcheurs mentionnant des observations de nombreux bars et de clapotis dans le secteur de Sorel et dans la rivière Richelieu.

En s'appuyant sur l'interprétation des résultats du suivi télémétrique de 2019 (Englobe, 2019), quatre grands secteurs de fraie du bar rayé semblent se dessiner dans le fleuve Saint-Laurent, soit :

- ▶ le secteur Montmagny incluant l'embouchure de la rivière du Sud et une partie de l'archipel de Montmagny;
- ▶ le secteur Beauport, partant de la pointe ouest de l'île d'Orléans, incluant la baie de Beauport et la rive de Lévis, jusqu'à Saint-Romuald;
- ▶ le secteur Tronçon fluvial, compris entre Saint-Romuald et l'exutoire du lac Saint-Pierre;
- ▶ le secteur Amont de l'exutoire du lac Saint-Pierre, comprenant l'archipel de Sorel et le cours aval de la rivière Richelieu.

2.2 Objectifs

L'objectif des relevés de 2020 est de confirmer la fraie du bar rayé dans les aires potentielles de reproduction situées en amont de Québec par l'échantillonnage d'œufs et de larves. Dans le cadre de ce volet, les secteurs de la rivière Richelieu en aval du seuil de Saint-Ours et du tronçon fluvial entre Bécancour et Cap-Rouge ont été ciblés (cartes 1 et 2). Le secteur de l'archipel de Sorel a été échantillonné par le MFFP pour le suivi d'œufs et de larves. De cette manière, les principales aires potentielles de fraie du bar rayé situées en amont de Québec ont été échantillonnées.

2.3 Méthodologie

2.3.1 Travaux de terrain

L'échantillonnage des œufs et des larves a été effectué sur la base du protocole du MFFP (annexe 1). La méthodologie du MFFP a été modifiée en utilisant un seul filet à plancton plutôt que deux. Cette modification a été autorisée dans le cadre de la demande de permis scientifique. Ces pêches ont été effectuées en dirigeant l'embarcation face au courant tout en remorquant un filet à plancton (push net) à partir du fond jusqu'à la surface en suivant une ligne diagonale de 45 degrés (trait oblique). Le filet possède une ouverture de 0,5 m de diamètre, une longueur de 1,5 m et des mailles de 500 µm. L'embarcation était maintenue à

une vitesse constante par rapport au courant afin de permettre le bon fonctionnement de l'engin durant les pêches d'une durée de 10 minutes. Dans le cas de la rivière Richelieu, l'échantillonnage a été effectué une fois l'embarcation ancrée, car le courant était alors suffisant pour un déploiement adéquat de l'engin de pêche.

Dans la rivière Richelieu, quatre stations de pêche ont été inventoriées entre les rapides de Saint-Ours et l'embouchure de la rivière (tableau 1 et carte 1). Dans chacune des stations, trois traits d'échantillonnage de 10 minutes ont été répartis sur la largeur de la rivière. De plus, à l'intérieur des stations ST-RICH 02 et ST-RICH 03, un filet de dérive fixe a été installé pour une période d'environ 24 heures. Dans ce cas, le filet utilisé possédait une ouverture de 0,5 m, une longueur de 2 m et des mailles de 500 µm.

Tableau 1 Description des stations d'inventaire

COURS D'EAU	STATION	EFFORT
Rivière Richelieu	ST-RICH-01-T	3 traits
Rivière Richelieu	ST-RICH-02-T	3 traits
Rivière Richelieu	ST-RICH-02-F	Fixe 24 heures
Rivière Richelieu	ST-RICH-03-T	3 traits
Rivière Richelieu	ST-RICH-03-F	Fixe 24 heures
Rivière Richelieu	ST-RICH-04-T	3 traits
Fleuve Saint-Laurent	ST-BECAN	5 traits
Fleuve Saint-Laurent	ST-BATI	5 traits
Fleuve Saint-Laurent	ST-PORT	5 traits
Fleuve Saint-Laurent	ST-CAP	5 traits

Fichier : \\m115-01\Projets\63P-0022085-APQ_Faune_Aquatique_2020\4_CAD\G02_CarroP-0022085-0-TP-01046-F-0022085-001-001-0C-EN-D-0101-00_oeufsRichl_201127.mxd

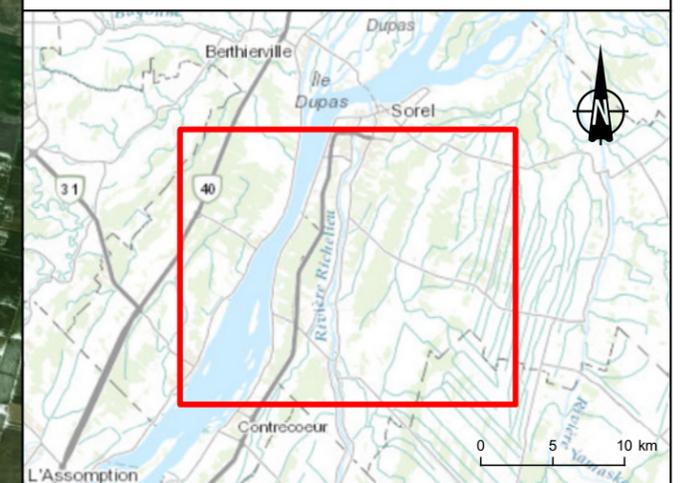


Composantes de projet

- Filet mobile
- Filet fixe

Observation d'activité de fraie

- Bar rayé
- Non identifié



Administration Portuaire de Québec
 Note technique : Bar rayé-Résultats des inventaires 2020

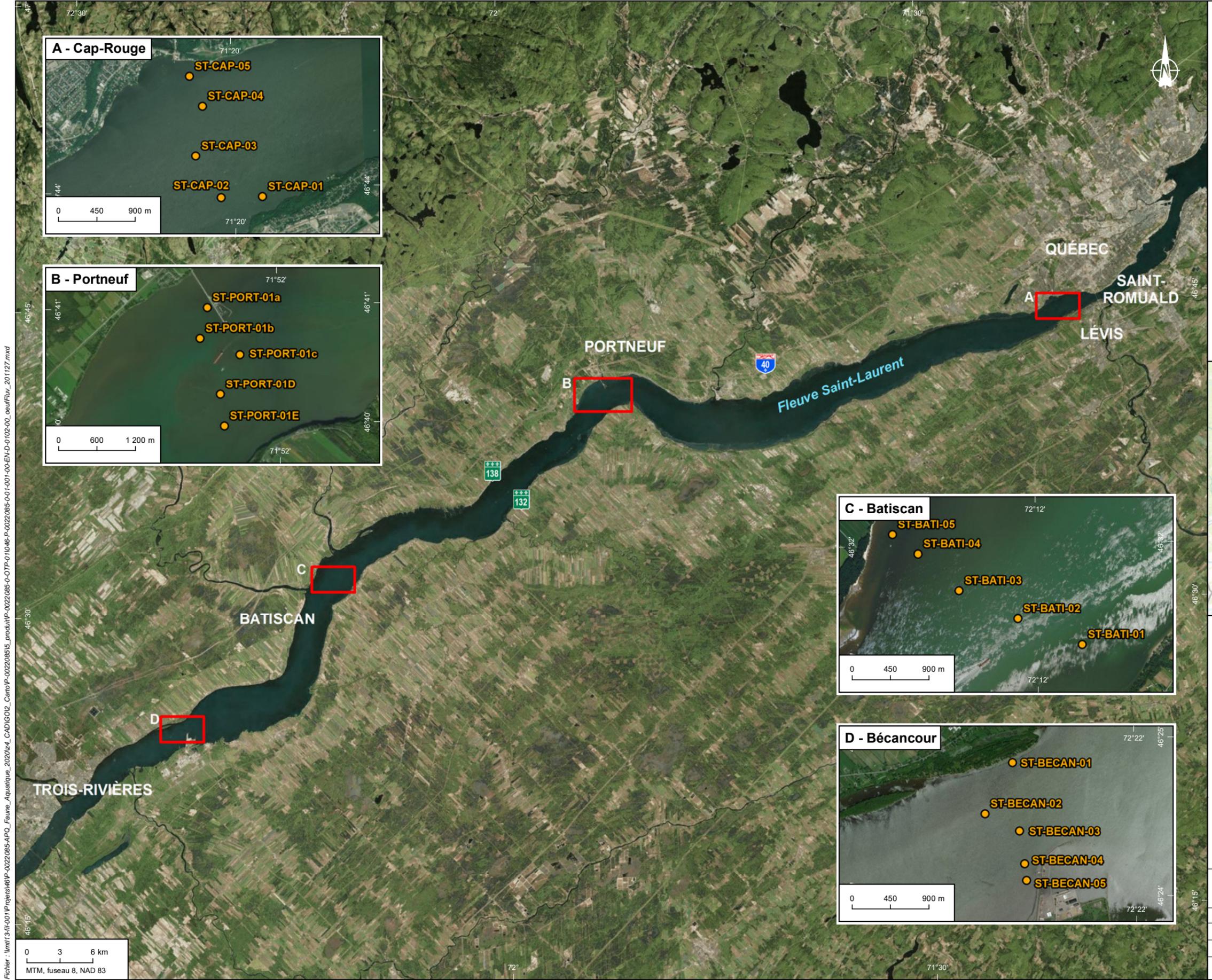
Carte 1
Inventaire oeufs et larves – Secteur Richelieu

Sources :
 Base : © 2020 Maxar
 © CNES (2020) Distribution Airbus DS
 © 2020 Microsoft Corporation Earthstar Geographics S/O
 Inventaires : Englobe, 2020
 Cartographie : Englobe

Novembre 2020



Chargé de projet : J. Carreau				Date : 2020-11-27			
Préparé : J. Carreau		Dessiné : S. Arseneault		Vérifié : P. Lemieux			
46	P-0022085	0	01	001	EN	D	0101
							00



Composantes de projet

- Filet mobile



Administration Portuaire de Québec
 Note technique : Bar rayé-Résultats des inventaires 2020

Carte 2
Inventaire oeufs et larves – Secteur fluvial

Sources :
 Base : © 2020 Maxar
 © CNES (2020) Distribution Airbus DS
 © 2020 Microsoft Corporation Earthstar Geographics S/O
 Inventaires : Englobe, 2020
 Cartographie : Englobe

Novembre 2020

Chargé de projet : J. Carreau		Date : 2020-11-27						
Préparé : J. Carreau		Dessiné : S. Arseneault		Vérifié : P. Lemieux				
46	P-0022085	0	01	001	EN	D	0102	00

Fichier : \\m113-01\Projets\63P-0022085-APQ_Faune_Aquatique_2020\4_CAD\G02_CarroP-0022085-0-OTP-01046-F-0022085-001-001-0C-EN-D-0102-00_oeufFluv_201127.mxd

Dans le secteur Fluvial entre Trois-Rivières et Québec, quatre stations ont été échantillonnées, soit à Bécancour, Batiscan, Portneuf et Cap-Rouge. À chacune des stations, cinq traits obliques (push net) ont été effectués, répartis sur la largeur du fleuve (tableau 1 et carte 2).

Sur le terrain, les échantillons ont été fixés immédiatement après avoir été récoltés dans l'éthanol 95 % non dénaturé. La quantité d'éthanol utilisée a été au minimum trois à quatre fois plus importante que le volume de l'échantillon. L'éthanol a été changé après 12 à 24 heures afin de maintenir sa concentration.

À chaque station, le débit filtré a été mesuré à l'aide d'un débitmètre et des mesures de courant ont été effectuées à l'intérieur et à l'extérieur des filets de dérive mobile. De plus, des mesures de courant ont également été prises à l'intérieur et à l'extérieur des filets de dérive fixe afin d'évaluer l'effet du colmatage.

2.3.2 Travaux de laboratoire

Le tri des échantillons prélevés a été effectué au laboratoire d'Englobe à Montréal, en appliquant rigoureusement le protocole soumis par le MFFP (annexe 2). Les œufs et les larves ont été regroupés séparément sans identification plus précise. L'identification est faite par analyse d'ADN. Les analyses d'ADN ont été effectuées par le laboratoire de Dr Louis Bernatchez de l'Université Laval.

2.4 Résultats

2.4.1 Échantillonnage

Les températures de l'eau de la rivière Richelieu et du fleuve Saint-Laurent ont été obtenues à partir des stations limnométriques Aux Rapides Fryers (02OJ007) et Deschaillons (03335), respectivement. Durant la période d'inventaire, les valeurs de température de la rivière Richelieu et du fleuve Saint-Laurent ont montré une évolution très similaire (figure 1). Au début des relevés, la température de l'eau s'est réchauffée très rapidement passant de 15 à 21 °C du 25 au 30 mai 2020, suivi d'un refroidissement tout aussi rapide jusqu'à 15 °C au début du mois de juin. Par la suite, on observe un réchauffement plus lent et relativement constant jusqu'à 23 °C observé autour du 20 juin 2020.

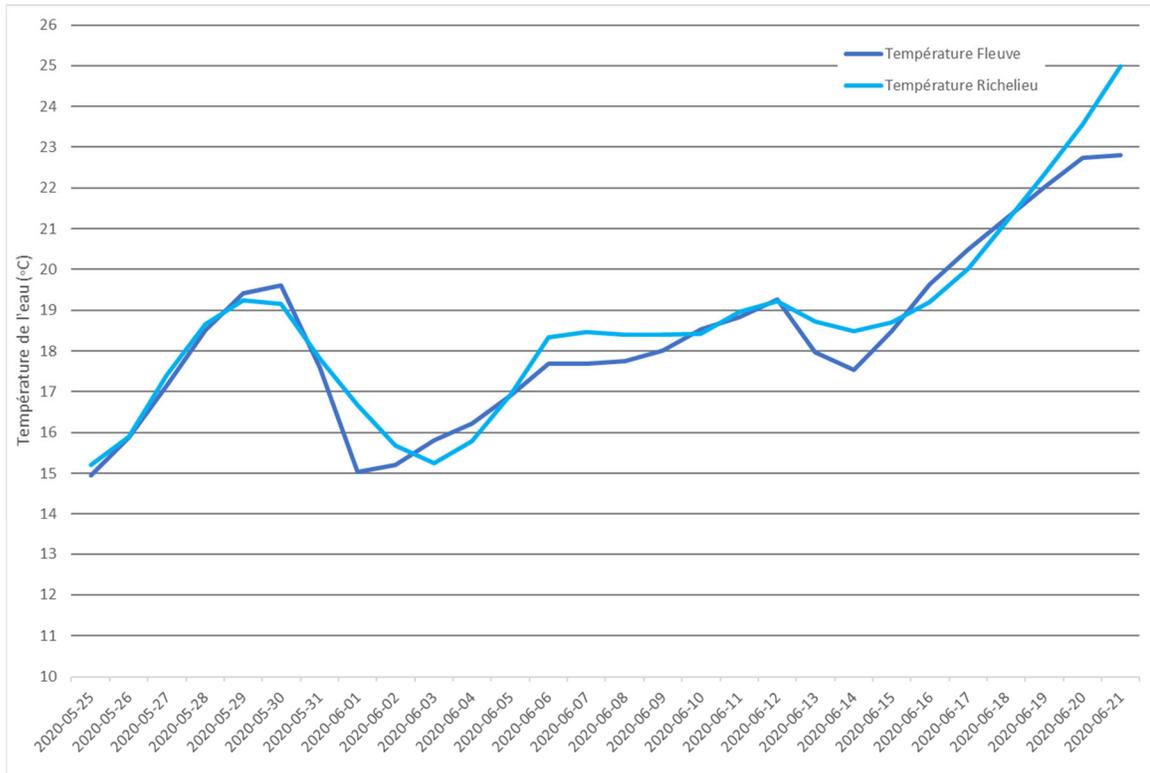


Figure 1 Variation des températures de l'eau dans la rivière Richelieu (station Aux Rapides Fryers (02OJ007)) et dans le fleuve Saint-Laurent (station Deschaillons (03335)), au cours du printemps 2020

Dans la rivière Richelieu, les inventaires ont débuté le 25 mai 2020 pour les stations ST-RICH-01 à 03 et le 28 mai pour la station ST-RICH-04. L'échantillonnage a été réalisé quotidiennement (à l'exception des 6 et 7 juin) et chaque station a été échantillonnée au minimum une fois par jour jusqu'au 12 juin 2020. Selon les stations, entre 13 et 17 journées de relevés ont été réalisées, ce qui a permis de récolter de 58 à 84 échantillons pour les traits obliques et 15 échantillons pour les filets de dérive fixe (tableau 2). Durant les relevés, la température de l'eau est passée de 15 à 19 °C. Durant la période d'inventaire, trois événements de fraie en surface, ou clapotis, ont pu être observés (voir carte 1). Pour deux de ces activités, l'espèce n'a pu être identifiée (événements du 22 mai et du 25 mai). Toutefois, lors du dernier événement (4 juin), des bars rayés ont été observés traversant la surface de l'eau durant un court laps de temps (moins d'une minute).

Dans le tronçon fluvial, l'échantillonnage a débuté le 26 mai et s'est poursuivi jusqu'au 18 juin. En raison des distances plus importantes, les stations ont été visitées par paire en alternance durant la période. Selon les stations, les nombres de journées de relevés et d'échantillons varient respectivement de 7 à 11 jours et de 38 à 74 échantillons (tableau 3). Durant les relevés, la température de l'eau est passée de 15 à 21 °C.

Tableau 2 Rivière Richelieu; nombre d'échantillons par secteur, par engin et par date

	Mai							Juin												Total
	25	26	27	28	29	30	31	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
ST-RICH-01																				
Trait (3)	3	6	3	6	3	3	3	3	3	3	3	3	-	-	3	3	3	4	3	58
ST-RICH-02																				
Fixe (1)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		-	-	1	1	1	1		15
Trait (3)	3	6	3	6	6	6	6	7	6	6	6	6	-	-	3	3	3	4	4	84
ST-RICH-03																				
Fixe (1)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	-	1	1	1	1		15
Trait (3)	3	3	3	6	6	6	6	6	7	6	6	6	-	-	3	3	3	2	3	78
ST-RICH-04																				
Trait (1)				6	6	6	6	6	6	6	6	6			3	3	3	2	3	68
Total	11	17	11	26	23	23	23	24	24	23	23	21			14	14	14	14	13	318

Tableau 3 Tronçon fluvial; nombre d'échantillons par secteur et par date

	Mai						Juin														Total
	26	27	28	29	30	31	1	2	3	4	5	8	9	10	11	12	15	16	17	18	
Bécancour (5)		5		5		5		5		5		5		5				6		5	46
Batiscan (5)		7	7		6	7		7		7		6		7		7		7		6	74
Portneuf (5)	4		5		6		7		7		5		6		6		5		5		57
Cap-Rouge (5)							6		5		6		5		6		5		5		38
Total	4	12	12	5	12	12	13	12	12	12	11	11	11	12	12	7	10	13	10	11	213

2.4.2 Travaux en laboratoire et analyses d'ADN

Au moment d'écrire ces lignes, 214 échantillons, prélevés dans la rivière Richelieu entre le 25 mai et le 12 juin, sur un total de 318, ont été triés. En tout, 1 696 œufs et 119 larves ont été décelés. Le tableau 4 présente les résultats de ce tri en termes d'œufs et de larves récoltés.

Tableau 4 Nombre d'œufs et de larves récoltés dans les échantillons prélevés à l'aide de filet à plancton dans la rivière Richelieu, au printemps 2020

Date	ST-RICH-1 A-B-C			ST-RICH-2 A-B-C			ST-RICH-2 F			ST-RICH-3 A-B-C			ST-RICH-3 F			ST-RICH-4 A-B-C			TOTAL		
	Nb d'éch. triés	Œufs	Larves	Nb d'éch. triés	Œufs	Larves	Nb d'éch. triés	Œufs	Larves	Nb d'éch. triés	Œufs	Larves	Nb d'éch. triés	Œufs	Larves	Nb d'éch. triés	Œufs	Larves	Nb d'éch. triés	Œufs	Larves
25 mai	3	65	0	3	30	0				3	17	0							9	112	0
26 mai	6	11	0	6	21	0	1	64	0	3	64	0	1	10	0				17	170	0
27 mai	3	4	0	3	6	0	1	20	0	3	9	0	1	52	0				11	91	0
28 mai	2	0	1	6	33	2	1	63	0	2	118	2	1	45	1	6	118	2	18	377	8
29 mai	2	2	1	6	29	0				6	42	2				2	31	1	16	104	4
30 mai													1	10	0				1	10	0
31 mai	3	4	6	6	8	0	1	92	1	6	1	7	1	8	0	6	1	3	23	114	17
1 juin	1	0	0	7	3	9				6	7	7	1	5	2	5	3	4	20	18	22
2 juin				6	5	1				6	6	5	1	0	1	6	2	1	19	13	8
3 juin				6	7	2				6	20	1	1	24	4				13	51	7
4 juin										6	4	0	1	15	0	1	0	0	8	19	0
5 juin	1	0	0	6	25	0				3	4	2				2	0	0	12	29	2
8 juin	3	1	10	3	0	3				3	85	1				3	30	5	12	116	19
9 juin	2	5	5	3	3	0				3	96	1	1	73	0	3	2	1	12	179	7
10 juin	1	0	1	3	2	5				3	46	1	1	47	1	3	0	4	11	95	12
11 juin				2	12	4				1	58	0	1	4	6				4	74	10
12 juin				3	21	1				3	99	0	1			1	4	2	8	124	3
TOTAL	27	92	24	69	205	27	4	239	1	63	676	29	13	293	15	38	191	23	214	1 696	119

En ce qui concerne le tronçon fluvial, l'ensemble des échantillons ont été triés. Ces secteurs sont répartis sur une distance de près de 100 km. Un total de 989 œufs et de 420 larves a été décelé. Le tableau 5 présente les résultats de ce tri en termes d'œufs et de larves récoltés.

Tableau 5 Nombre d'œufs et de larves récoltés dans les échantillons prélevés à l'aide de filet à plancton dans le fleuve Saint-Laurent (stations Bécancour et Portneuf), au printemps 2020

Date	Bécancour			Batiscan			Portneuf			Cap-Rouge			Total		
	Nb d'éch. triés	Œufs	Larves	Nb d'éch. triés	Œufs	Larves	Nb d'éch. triés	Œufs	Larves	Nb d'éch. triés	Œufs	Larves	Nb d'éch. triés	Œufs	Larves
26 mai							4	37	1				4	37	1
27 mai	5	54	0	7	42	7							12	96	7
28 mai				7	48	30	5	36	5				12	84	35
29 mai	5	34	10										5	34	10
30 mai				6	225	11	6	18	2				12	243	13
31 mai	5	21	9	7	63	11							12	84	20
1 juin							7	35	9	6	19	10	13	54	19
2 juin	5	40	19	7	15	11							12	55	30
3 juin							7	29	8	5	5	8	12	34	16
4 juin	5	22	5	7	27	18							12	49	23
5 juin							5	7	3	6	23	25	11	30	28
6 juin															
7 juin															
8 juin	5	21	8	6	12	16							11	33	24
9 juin							6	10	7	5	8	4	15	11	11
10 juin	5	38	5	7	24	20							12	62	25
11 juin							6	5	8	6	8	5	12	13	13
12 juin				7	10	38							7	10	38
15 juin							5	5	21	5	1	22	10	6	43
16 juin	6	7	13	7	15	10							13	22	23
17 juin							5	6	8	5	4	4	10	10	12
18 juin	4	3	17	6	12	12	0	0	0				10	15	29
Total	45	240	86	74	493	184	56	188	72	38	68	78	213	989	420

Le tableau 6 présente le sommaire des résultats d'analyse d'ADN pour l'ensemble des stations de la rivière Richelieu et du tronçon fluvial. Des échantillons provenant de la rivière Richelieu, 50 œufs et une larve ont été envoyés pour analyse d'ADN. Le tableau 1 de l'annexe 3 présente les résultats de ces premières analyses. Les résultats bruts sont disponibles à l'annexe 4. Ainsi, 30 échantillons (29 œufs et une larve) se sont avérés être du bar rayé. Ces échantillons proviennent de la station immédiatement en aval du barrage de Saint-Ours (ST-RICH-01) et de la station située à l'extrémité aval de la zone d'étude (ST-RICH-03). Ces stations sont séparées par une distance de plus de 17 km. Il est intéressant de noter la présence d'œufs d'aloise savoureuse en aval du barrage de Saint-Ours, témoignant de la fraie de cette espèce au statut préoccupant au Québec.

En ce qui concerne le tronçon fluvial, un total de 163 œufs, répartis dans les échantillons des stations des secteurs de Bécancour (BEC), Portneuf (POR) et Cap-Rouge (CAP) ont été envoyés pour analyse d'ADN. De plus, 52 larves récoltées dans les échantillons de Cap-Rouge ont également été envoyées pour analyse. Le tableau 2, disponible en annexe 3, présente le détail des résultats de ces analyses et le rapport du laboratoire est disponible à l'annexe 4. Ces résultats révèlent que 138 œufs et 11 larves se sont avérés être du bar rayé. Parmi les autres résultats, notons la présence d'alose savoureuse (2 larves), de baret (7 œufs et 5 larves), de couette (1 larve), de doré jaune (2 larves), de doré noir (2 œufs et 20 larves), d'éperlan arc-en-ciel (1 larve), de fouille-roche zébré (1 larve), de laquaiche argentée (1 larve), de meunier rouge (1 œuf et 7 larves) et de perchaude (1 larve). Finalement, 15 œufs n'ont pu être identifiés en raison du matériel génétique limité.

Tableau 6 Synthèse des résultats d'identification des œufs et larve à l'aide de l'ADN pour la rivière Richelieu et le tronçon fluvial

ESPÈCE	BÉCANCOUR	PORTNEUF	CAP-ROUGE	RICHELIEU	TOTAL
Alose savoureuse			2	7	9
Bar rayé	67	49	33	30	179
Baret			12		12
Couette			1		1
Doré jaune			2		2
Doré noir			22		22
Éperlan arc-en-ciel			1		1
Fouille-roche zébré			1		1
Laquaiche argentée			1	4	5
Meunier rouge			8		8
Non concluant	1		14	10	25
Perchaude			1		1
Total	68	49	98	51	266

3 Suivi des jeunes de l'année

3.1 Contexte

Les rassemblements de fraie de bars rayés en aval de Saint-Ours et dans l'archipel de Sorel semblent relativement récents. De plus, le suivi télémétrique de 2019 indique que plusieurs géniteurs auraient utilisé le tronçon fluvial (entre Trois-Rivières et Saint-Romuald) durant la période propice à la fraie (Englobe, 2019). Les inventaires de jeunes de l'année de bar rayé effectués annuellement au début de l'automne (septembre) par le MFFP visent à obtenir un indicateur de l'évolution de la production annuelle de jeunes bars rayés, mais ne permettent pas de suivre l'évolution de la présence estivale des jeunes bars rayés dans l'estuaire fluvial.

3.2 Objectif

Les objectifs reliés aux inventaires de jeunes de l'année de bar rayé durant l'été dans l'estuaire fluvial visent à obtenir des données de base sur les abondances de jeunes bars rayés en aval des nouvelles frayères potentielles identifiées en amont du lac Saint-Pierre et dans le tronçon fluvial afin de documenter l'utilisation temporelle et spatiale de ces jeunes poissons et tenter de préciser leur contribution au recrutement de la population du fleuve Saint-Laurent. Notons que la possibilité d'une dérive importante des œufs et des larves est susceptible de constituer un facteur confondant quant à l'origine des jeunes de l'année capturés. L'évolution des rendements de pêche et des tailles au cours de la saison pourra possiblement permettre de préciser cet aspect.

3.3 Méthodologie

Deux campagnes de pêche ont été réalisées en juillet et en août au début de la période d'alimentation près des rives. Ces efforts de pêche ont été planifiés en fonction des échanges effectués avec le MFFP, en adaptant le protocole développé dans le cadre du suivi annuel des jeunes bars rayés. La sélection finale des stations a été faite au terrain lors de la première campagne afin de permettre une plus grande flexibilité et optimiser les chances de captures de jeunes bars rayés. À noter toutefois que lors de la deuxième campagne, les stations sélectionnées lors de la première campagne ont été revisitées. Afin de maximiser le nombre de stations, la manipulation des poissons capturés a été dirigée vers la sélection des moronidés. Les autres espèces ont été remises à l'eau.

La zone d'inventaire visée inclut la portion du fleuve Saint-Laurent comprise entre l'embouchure de la rivière Richelieu et le centre de l'île d'Orléans qui a été subdivisée en sept secteurs (carte 3). À l'intérieur de la zone de pêche annuelle des jeunes de l'année du MFFP, les stations ont été sélectionnées à l'aide des résultats des inventaires de suivi antérieur, afin de maximiser les chances de captures. Ainsi les stations du suivi du MFFP et du RSI ayant permis la capture de bar rayé ou de baret ont été retenues dans le cadre de ce suivi. La présence de clupéidés a également été un facteur considéré dans la sélection de stations parce que ces espèces sont souvent trouvées ensemble.

Ainsi, le choix des stations a été fait en considérant les éléments suivants :

- ▶ Présence de substrat grossier (sable/gravier);
- ▶ Faible abondance d'herbier riverain;
- ▶ Possibilité de refermer la seine sur le rivage;
- ▶ Présence historique significative de baret et/ou de clupéidés évaluée à l'aide des données du RSI et du suivi des juvéniles du MFFP.

Les inventaires ont été effectués par deux équipes de trois biologistes et/ou techniciens expérimentés afin de procéder rapidement au tri et à l'identification des poissons. La première campagne s'est déroulée du 13 au 21 juillet 2020 et la deuxième, du 13 au 21 août 2020.

Deux types de seines ont été autorisées pour cet inventaire. L'objectif visé est d'échantillonner la plus grande surface disponible par station sélectionnée. Ainsi, au terrain, il est apparu possible de n'utiliser que la grande seine (voir tableau 7). La distance d'échantillonnage et le nombre de coups de seine ont été ajustés afin de maximiser les probabilités de captures de l'espèce cible. Une variété d'approches a été employée selon la configuration des stations.

Tableau 7 Description des seines de rivage disponibles

TYPE	PETITE (MFFP SUIVI JUVÉNILE)	GRANDE
Hauteur	1,8 m	1,8 m
Longueur	15 m	36 m
Mailles	0,95 cm dans les ailes, 0,63 cm poche centrale	2 mm
Poche	Oui	Oui

3.3.1 Paramètres mesurés

- ▶ À chaque station, tous les moronidés de taille égale ou inférieure à 150 mm capturés (à l'exception du bar rayé, pour lequel un maximum de 15 individus par secteur, par campagne a été sacrifié) ont été euthanasiés avec une dose létale d'anesthésiant (éthanol-huile de clou de girofle). Donc, lorsqu'il n'était pas possible d'identifier formellement les différentes espèces de moronidés, tous les individus ont été conservés. Toutefois; lorsque l'identification était formelle, un maximum de 15 bars par secteur a pu être sacrifié par campagne;
- ▶ Les spécimens euthanasiés ont été ensuite conservés dans des pots contenant de l'éthanol 95 % non dénaturée. L'éthanol contenu dans les pots a été changé après 24 heures;
- ▶ Les autres espèces ont été libérées sans être identifiées ou mesurées;
- ▶ Les bars rayés ont été mesurés individuellement et sont ensuite conservés;
- ▶ L'identification des moronidés (baret, bar rayé, bar blanc) sera validée par des analyses génétiques;
- ▶ Tous les spécimens conservés seront ultimement envoyés au MFFP.

3.4 Résultats

3.4.1 Stations visitées

Les nombres de stations par secteur visé sont présentés au tableau 8. La position de ces secteurs, ainsi que des lignes de rivages considérés dans les calculs du tableau 9 sont illustrées à la carte 3. À la suite des inventaires d'œuf et de larve, il est apparu peu probable que l'embouchure de la rivière Richelieu puisse retenir des larves. Ainsi, il a été décidé de ne pas échantillonner ce secteur pour la recherche de jeune de l'année. Donc au total, 74 stations ont été échantillonnées lors de ce volet. Soit une densité de 1 station/7,5 km de rivage.

Tableau 8 Nombre de stations d'inventaire par secteur visé

SECTEUR	KM DE RIVES	NB DE STATION
2-Archipel de Sorel	100	13
3-Exutoire du lac Saint-Pierre et rivière Bécancour	57	13
4-Rivière Bécancour et la rivière Batiscan	70	6
5-Rivière Batiscan et la rivière Portneuf	100	15
6-Rivière Portneuf et le pont de Québec	110	16
7-Pont de Québec et centre de l'île d'Orléans	119	11
Total	556	74

3.4.2 Description des captures et travaux en laboratoire

Globalement, lors des deux campagnes d'échantillonnage, respectivement 207 et 121 bars rayés 0+ ont été capturés (tableau 9). Les critères morphologiques ayant permis de distinguer les jeunes bars rayés des jeunes barets sont les suivants : forme générale du corps, forme et taille des rayons de la nageoire anale et indépendance des deux nageoires dorsales. À noter qu'en raison de la petite taille des individus capturés lors de la première campagne, les identifications ont été validées à l'aide d'analyse d'ADN. Un total de 174 échantillons capturés au cours du mois de juillet a donc été envoyé pour des analyses d'ADN (résultats bruts disponibles à l'annexe 4). Ces échantillons sont constitués de bars rayés et de barets (91 bars rayés et 73 barets), à concurrence d'un maximum de 10 individus par espèce par station. De ce nombre, 5 barets se sont avérés être des bars rayés (6,8 % d'erreur) et 1 bar rayé s'est avéré être un baret (1 % d'erreur).

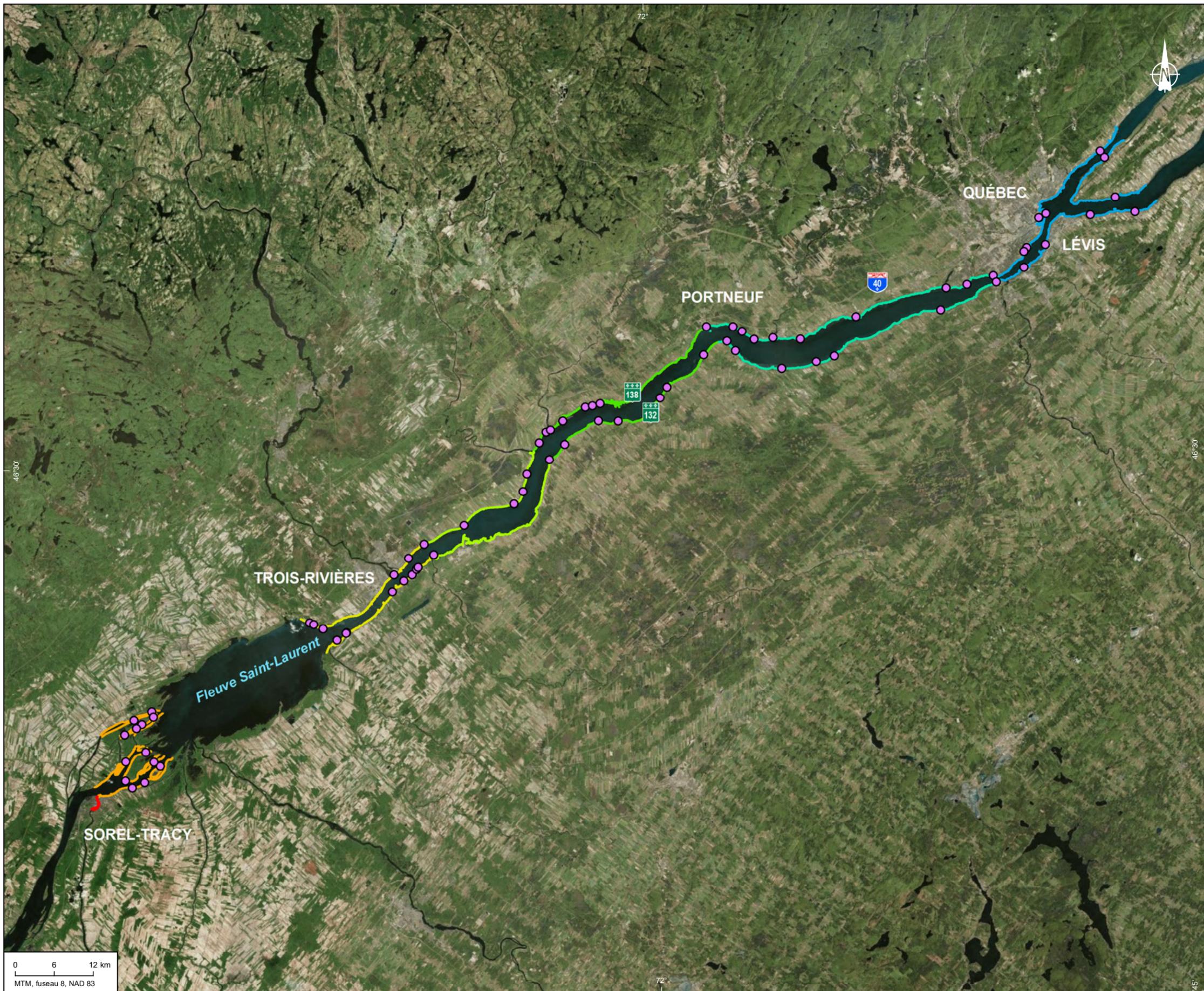
Les captures de jeunes bars rayés ont été réparties entre Bécancour et l'île d'Orléans (tableau 9). Aucun bar n'a été capturé dans les secteurs 2 et 3 en amont de Bécancour. Dans la portion fluviale entre Bécancour et le pont de Québec (secteurs 4, 5 et 6), un nombre significatif de bars rayés ont été capturés en juillet et août (n=86) et ceux-ci étaient répartis dans 18 des 37 stations échantillonnées dans ces trois secteurs, indiquant une bonne répartition dans le milieu. On note une augmentation des abondances de l'amont vers l'aval. Les cartes 4, 5, 6 et 7 présentent la répartition des captures par campagne dans les différents secteurs inventoriés.

Tableau 9 Résultats des captures de bar rayé de l'année

Secteur*1	Station	Juillet	Août
4 : Rivière Bécancour-Rivière Batiscan	4-3	0	1
	4-8	0	3
5 : Rivière Batiscan-Rivière Portneuf	5-10	0	2
	5-12	0	1
	5-13	0	1
6 : Rivière Portneuf-Pont-de-Québec	6-1	1	1
	6-2	2	1
	6-5	1	3
	6-6	4	10
	6-7	0	9
	6-11	1	4
	6-13	3	1
	6-14	5	5
	6-15	3	0
	6-18	2	10
	6-19	1	4
	6-20	4	0
	6-21	3	0
7 : Pont de Québec-Île D'Orléans	7-3	14	0
	7-4	2	3
	7-5	5	0
	7-6	13	8
	7-7	5	0
	7-10	11	7
	7-11	13	2
	7-13	6	9
	7-14	18	17
	7-15	90	7
7-16	0	12	
Total		207	121

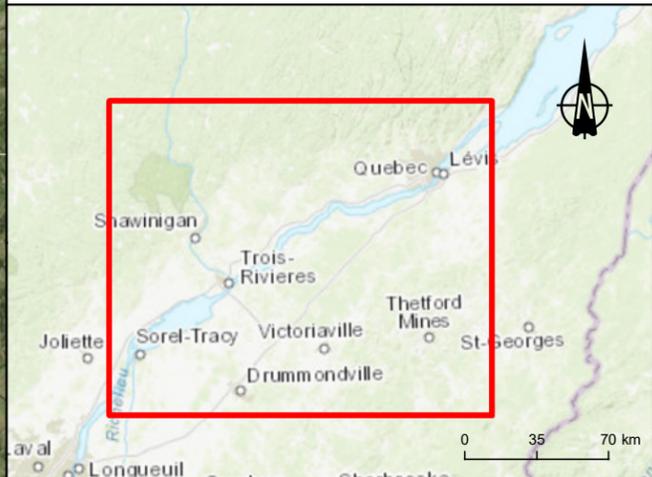
1 Aucune capture dans les secteurs 2 et 3.

Fichier : \\m113-01\Projets\63P-0022085-APQ_Faune_Aquatique_2020\4_CAD\G02_CarroP-0022085-0-OTP-01046-F-0022085-001-001-00-EN-D-0103-00_jeunes_201127.mxd



Composantes de projet

- Station d'inventaire seine de rivage
- Secteur 1
- Secteur 2
- Secteur 3
- Secteur 4
- Secteur 5
- Secteur 6
- Secteur 7



Administration Portuaire de Québec
 Note technique : Bar rayé-Résultats des inventaires 2020

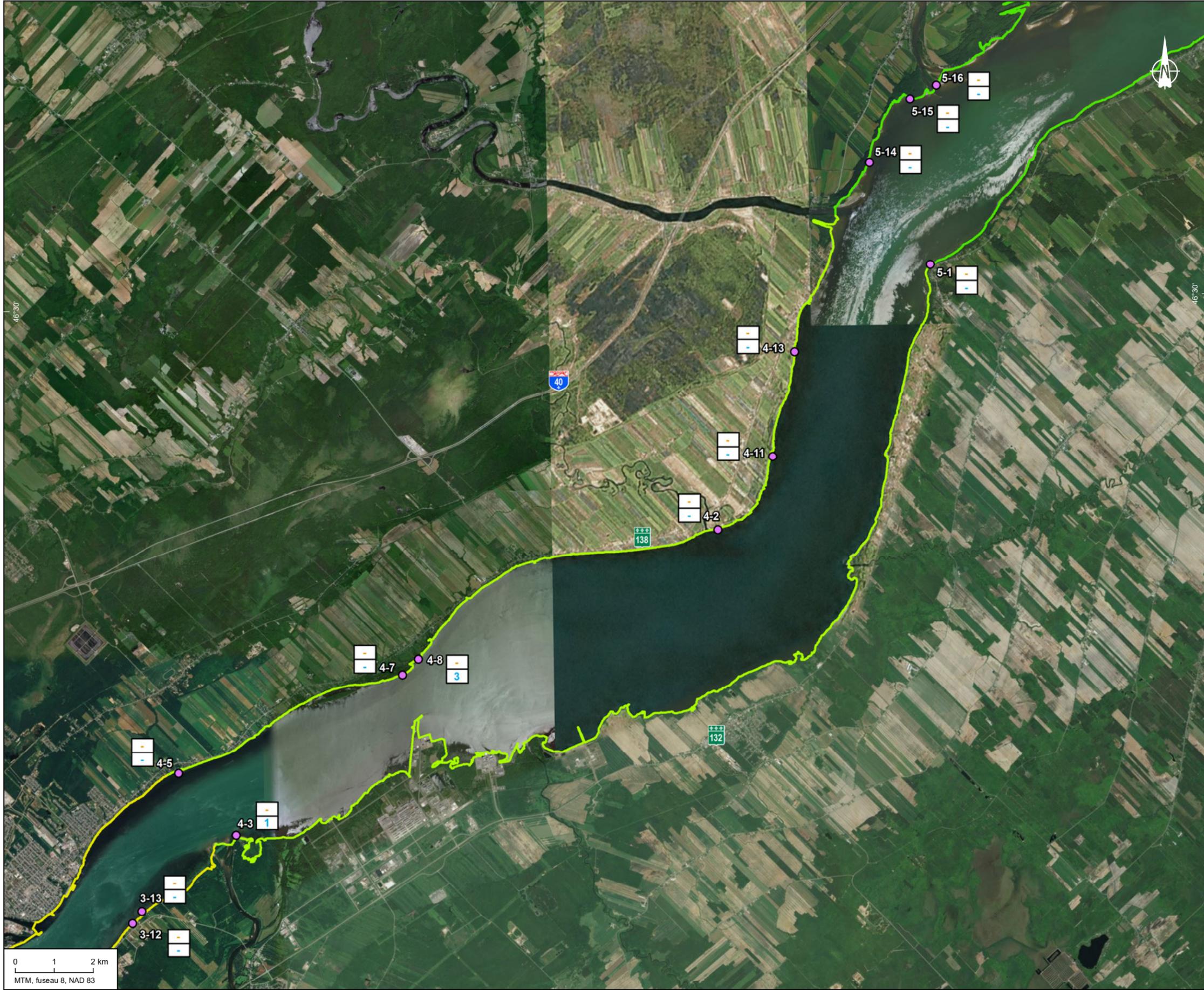
Carte 3
Inventaire des jeunes de l'année

Sources :
 Base : © 2020 Maxar
 © CNES (2020) Distribution Airbus DS
 © 2020 Microsoft Corporation Earthstar Geographics S/O
 Inventaires : Englobe, 2020
 Cartographie : Englobe

Novembre 2020

		Chargé de projet : J. Carreau		Date : 2020-11-27				
		Préparé : J. Carreau		Dessiné : S. Arseneault		Vérifié : P. Lemieux		
46	P-0022085	0	01	001	EN	D	0103	00

Fichier : \\m115-01\Projets\63P-0022085-APQ_Faune_Aquatique_2022\04_CAD\G02_CarroP-0022085-0-OTP-01046-F-0022085-001-001-0C-EN-D-0104-00_sect4_201127.mxd

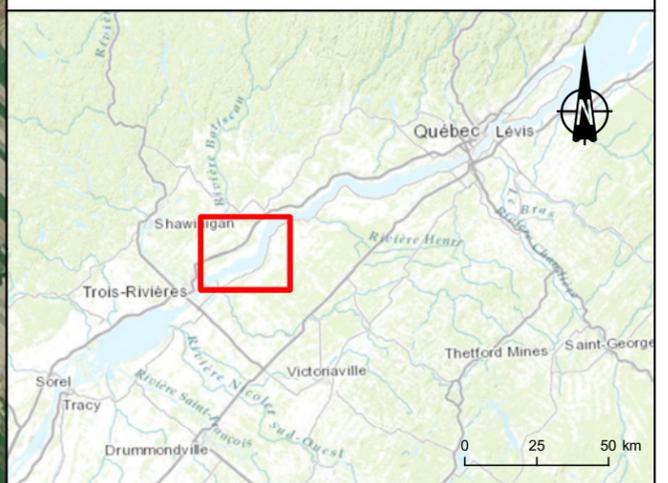


Composantes de projet

- Station d'inventaire seine de rivage
- | |
|---|
| 1 |
|---|

 Nombre de bar rayé capturé en juillet
- | |
|---|
| 1 |
|---|

 Nombre de bar rayé capturé en août
- Secteur 3
- Secteur 4
- Secteur 5



Administration Portuaire de Québec
 Note technique : Bar rayé-Résultats des inventaires 2020

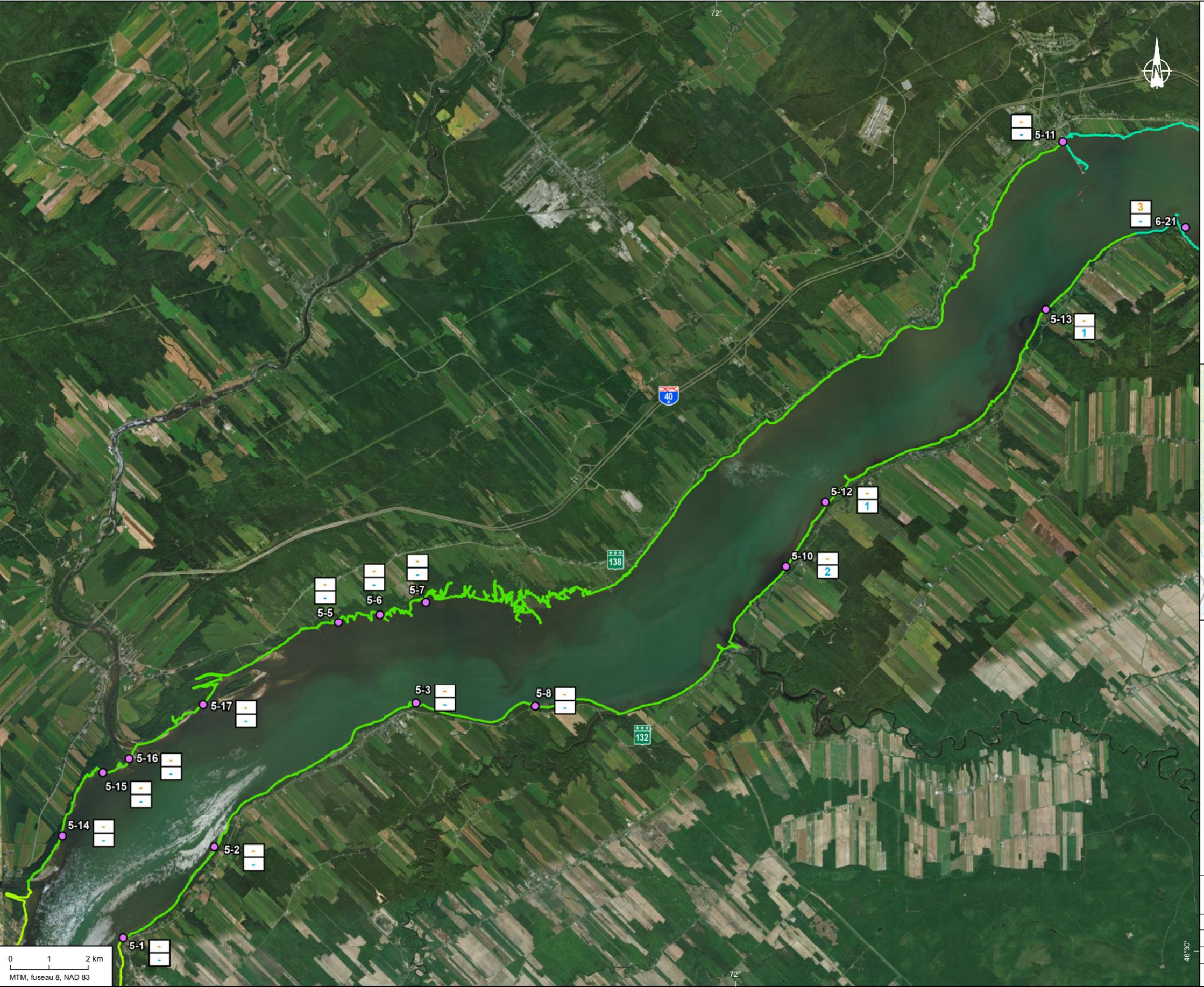
Carte 4
Distribution des captures de jeunes de l'année
Secteur 4

Sources :
 Base : © 2020 Maxar
 © CNES (2020) Distribution Airbus DS
 © 2020 Microsoft Corporation Earthstar Geographics S/O
 Inventaires : Englobe, 2020
 Cartographie : Englobe

Novembre 2020

Chargé de projet : J. Carreau		Date : 2020-11-27						
Préparé : J. Carreau		Dessiné : S. Arseneault			Vérifié : P. Lemieux			
46	P-0022085	0	01	001	EN	D	0104	00

Fichier : \\m113-01\Projet\563P-0022085-APQ_Faune_Aquatique_2020\4_CAD\G02_Carro\022085-0-OTP-01046-F-0022085-001-001-0C-EN-D-0105-00_sect5_201127.mxd

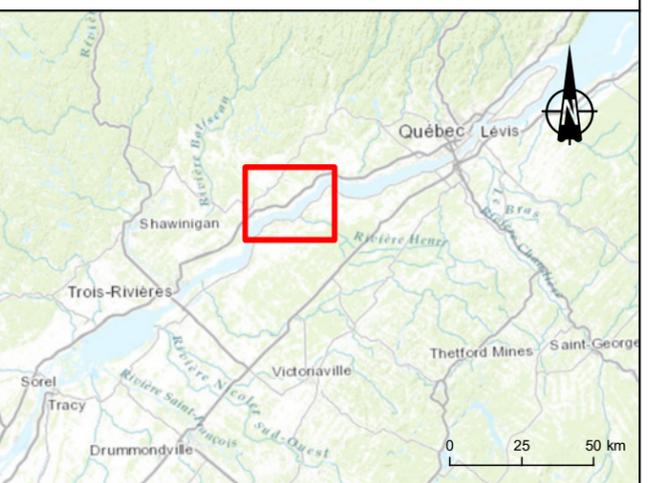


Composantes de projet

- Station d'inventaire seine de rivage
- | |
|---|
| 1 |
| 1 |

 Nombre de bar rayé capturé en juillet
- | |
|---|
| 1 |
|---|

 Nombre de bar rayé capturé en août
- Secteur 4
- Secteur 5
- Secteur 6



Administration Portuaire de Québec
 Note technique : Bar rayé-Résultats des inventaires 2020

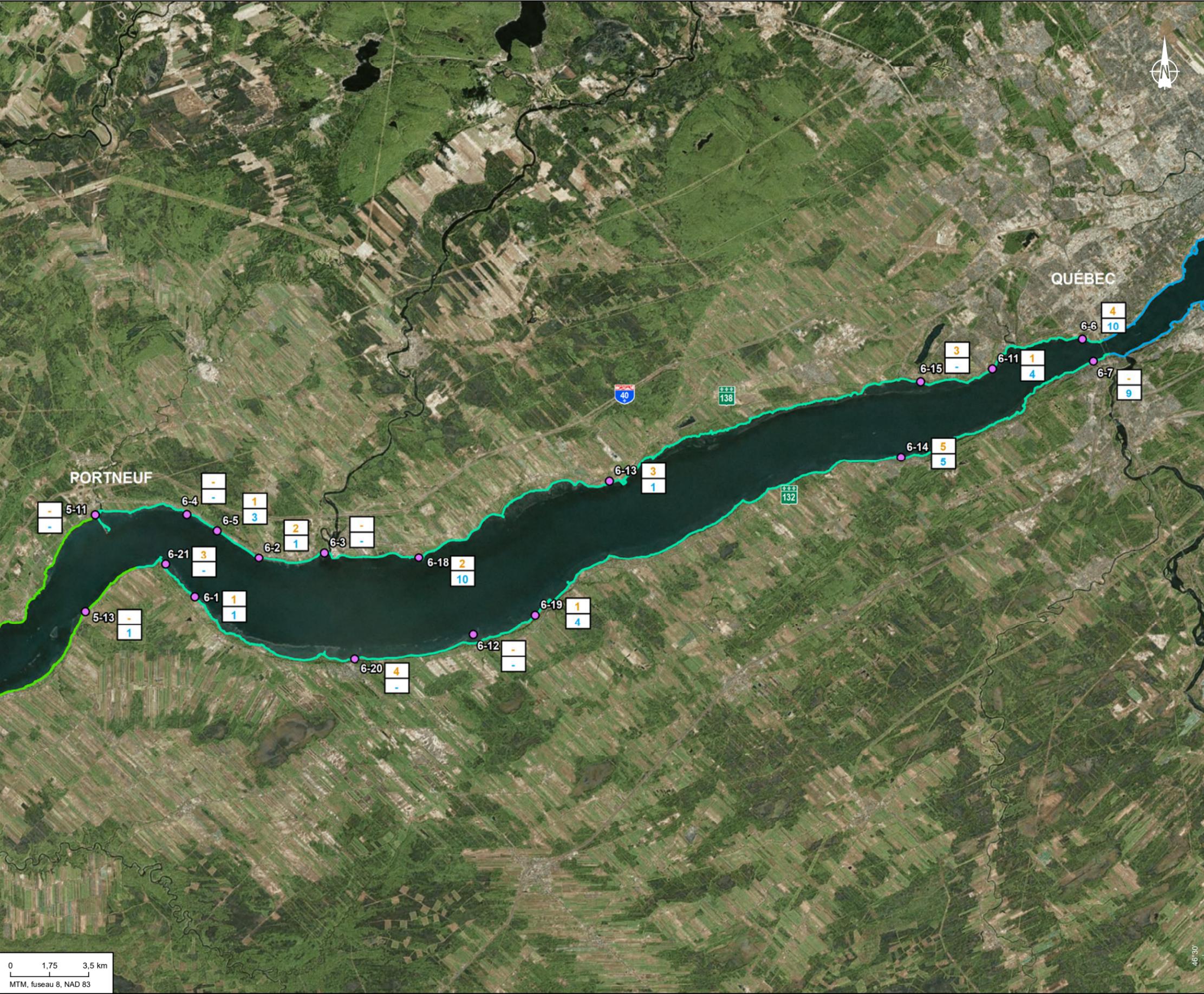
Carte 5
Distribution des captures de jeunes de l'année
Secteur 5

Sources :
 Base : © 2020 Maxar
 © CNES (2020) Distribution Airbus DS
 © 2020 Microsoft Corporation Earthstar Geographics S/O
 Inventaires : Englobe, 2020
 Cartographie : Englobe

Novembre 2020

Chargé de projet : J. Carreau		Date : 2020-11-27						
Préparé : J. Carreau		Dessiné : S. Arseneault		Vérifié : P. Lemieux				
46	P-0022085	0	01	001	EN	D	0105	0A

Fichier : \\m113-01\Projets\616P-0022085-APQ_Faune_Aquatique_2020\4_CAD\G02_CarroP-0022085-01046-F-0022085-001-001-00-EN-D-0106-00_sect6_201127.mxd



Composantes de projet

- Station d'inventaire seine de rivage
- | |
|---|
| 1 |
|---|

 Nombre de bar rayé capturé en juillet
- | |
|---|
| 1 |
|---|

 Nombre de bar rayé capturé en août
- Secteur 5
- Secteur 6
- Secteur 7

Administration Portuaire de Québec
 Note technique : Bar rayé-Résultats des inventaires 2020

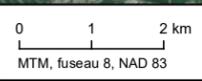
Carte 6
Distribution des captures de jeunes de l'année
Secteur 6

Sources :
 Base : © 2020 Maxar
 © CNES (2020) Distribution Airbus DS
 © 2020 Microsoft Corporation Earthstar Geographics S/O
 Inventaires : Englobe, 2020
 Cartographie : Englobe

Novembre 2020

		Chargé de projet : J. Carreau		Date : 2020-11-27	
Préparé : J. Carreau		Dessiné : S. Arseneault		Vérifié : P. Lemieux	
46	P-0022085	0	01	001	EN D 0106 00

Fichier : \\m113-01\Projet\63P-0022085-APQ_Faune_Aquatique_202204\CAD\G02_Carro\0-022085-0-OTP-01046-F-0022085-001-001-0C-EN-D-0107-00_sect7_201127.mxd



Composantes de projet

- Station d'inventaire seine de rivage
- 1 Nombre de bar rayé capturé en juillet
- 1 Nombre de bar rayé capturé en août
- Secteur 6
- Secteur 7



Administration Portuaire de Québec
 Note technique : Bar rayé-Résultats des inventaires 2020

Carte 7
Distribution des captures de jeunes de l'année
Secteur 7

Sources :
 Base : © 2020 Maxar
 © CNES (2020) Distribution Airbus DS
 © 2020 Microsoft Corporation Earthstar Geographics S/O
 Inventaires : Englobe, 2020
 Cartographie : Englobe

Novembre 2020



Chargé de projet : J. Carreau				Date : 2020-11-27			
Préparé : J. Carreau		Dessiné : S. Arseneault		Vérifié : P. Lemieux			
46	P-0022085	0	01	001	EN	D	0107 00

4 Constats

À cette étape, les constats suivants peuvent être formulés :

- ▶ La méthode utilisée pour récolter des œufs et des larves a démontré son efficacité;
- ▶ Le bar rayé fraie dans la rivière Richelieu en aval du barrage de Saint-Ours et possiblement à quelques endroits dans le cours aval de la rivière;
- ▶ La capture d'œufs de bar rayé dans les secteurs de Bécancour, de Portneuf et de Cap-Rouge confirme la présence d'une ou de plusieurs frayères dans le fleuve Saint-Laurent en amont de ces deux secteurs;
- ▶ La localisation des frayères dans le fleuve reste à préciser, les résultats provenant des stations de Batiscan permettront d'étoffer les connaissances dans ces secteurs;
- ▶ Plusieurs jeunes bars rayés de l'année ont été capturés dans le tronçon fluvial, compris entre Bécancour et le pont de Québec;
- ▶ Ces jeunes poissons proviennent donc de frayères situées en amont des aires de fraie de Montmagny et de Beauport. Ainsi, les frayères amont contribuent à la production de jeunes bars rayés dans des aires d'alimentation qui ne peuvent être colonisées par les jeunes provenant de frayères situées en aval. Ces jeunes bars rayés contribuent donc efficacement au recrutement de la population de bar rayé du fleuve Saint-Laurent;
- ▶ Il est possible également qu'un certain nombre d'œufs, de larves et de jeunes de l'année provenant du secteur du tronçon fluviale se retrouvent plus en aval dans le secteur de l'île d'Orléans et de l'archipel de Montmagny contribuant ainsi au recrutement de la population.

5 Prochaines étapes

Suivant ces constats, les hypothèses suivantes devront être testées :

- 1 Une portion significative des œufs et des larves produites dans le couloir fluvial atteint le secteur de l'île d'Orléans jugé très productif pour la croissance des jeunes bars rayés, contribuant ainsi efficacement au recrutement de la population de bar rayé du fleuve Saint-Laurent.
 - Pour vérifier cette hypothèse, une analyse complète des captures d'œufs et de larves des quatre secteurs du couloir fluvial permettra de détailler la répartition spatiale et temporelle des œufs et des larves de bars rayés dans le couloir fluvial. Ces informations permettront d'améliorer nos connaissances sur l'emplacement probable des frayères et l'importance de la dérive des œufs et des larves. L'utilisation d'un modèle hydraulique de l'estuaire fluvial permettrait de raffiner la compréhension de la dérive des œufs et des larves et de préciser la contribution des différentes aires de fraie au recrutement de la population de bar rayé du fleuve Saint-Laurent.
- 2 La production d'œufs et de larves dans la rivière Richelieu représente une contribution significative des œufs et des larves en dérive dans le couloir fluvial.
 - Pour vérifier cette hypothèse, les analyses des captures obtenues dans la rivière Richelieu, en particulier ceux provenant de la station ST-RICH-03 située près de l'embouchure, permettront d'évaluer l'apport potentiel de cette aire de fraie dans le système fluvial en amont du lac Saint-Pierre. L'utilisation d'un modèle hydraulique de cette portion du fleuve permettrait de simuler la dérive des œufs et des larves dans le lac Saint-Pierre et la voie maritime et d'évaluer la proportion (ou le nombre) d'œufs et de larves susceptibles d'atteindre l'exutoire du lac Saint-Pierre. Cette analyse devrait se réaliser avec la collaboration du MFFP qui a inventorié le secteur de l'archipel de Sorel et de l'exutoire du lac Saint-Pierre. Ces données pourront être intégrées afin d'obtenir un portrait global de la contribution des frayères en amont du lac Saint-Pierre au recrutement de la population de bar rayé du fleuve Saint-Laurent.
- 3 La croissance (la taille) des jeunes de l'année dans le couloir fluvial est différente de ceux du secteur de l'île d'Orléans.
 - Pour vérifier cette hypothèse, une analyse de la répartition spatiale de la taille des jeunes de l'année sera effectuée. Une taille plus élevée à l'automne pourrait être un facteur contribuant à une meilleure survie hivernale.

Pour infirmer/confirmer ces trois hypothèses, les prochaines étapes seraient les suivantes :

- ▶ Identifications additionnelles par analyse d'ADN des œufs et larves prélevés dans la rivière Richelieu (stations 2 et 3) et dans le tronçon fluvial (Bécancour, Batiscan, Portneuf et Cap-Rouge);
- ▶ Analyse globale (spatiale et temporelle) de la dérive larvaire dans la rivière Richelieu et le tronçon fluvial;
- ▶ Analyse de la répartition spatiale des tailles des jeunes de l'année;
- ▶ Analyse et interprétation des résultats, incluant l'étude de la dérive larvaire à l'aide de modèles hydrauliques ;
- ▶ Publication des résultats.

6 Références

- ENGLOBE. 2019. *Suivi télémétrique des bars rayés 2019*. Rapport préparé par Jacobs, K. et M. Gendron et présenté à l'Administration portuaire de Québec. 106 p.
- MFFP. 2019. *Protocole d'échantillonnage de jeunes de l'année de bars rayés du fleuve Saint-Laurent*-À l'attention d'Englobe. 14 p.

Annexe 1 Protocole d'échantillonnage pour la caractérisation de l'ichtyoplancton

Protocole d'échantillonnage pour la caractérisation de l'ichtyoplancton

L'étude de la dynamique des populations de poissons doit se baser sur une estimation de l'abondance des individus reproducteurs, mais aussi des œufs et des jeunes stades de vie (larve), un assemblage désigné collectivement comme l'ichtyoplancton. En plus de servir à l'estimation de la reproduction des poissons, la caractérisation et le suivi de l'ichtyoplancton peuvent contribuer aux activités de détection des espèces aquatiques envahissantes (EAE) et à la compréhension de l'écologie des espèces menacées et vulnérables (EMVs). Notamment, le suivi de l'ichtyoplancton dans les tributaires du lac Érié (États-Unis) a été un élément essentiel dans la découverte des populations reproductrices de carpes de roseau (*Ctenopharyngodon idella*) dans les rivières Sandusky et Maumee. Au Québec, l'étude de l'écologie du bar rayé (*Morone saxatilis*) a largement reposé sur la détection et le suivi des zones de reproduction de l'espèce par des analyses de l'ichtyoplancton. Cette technique révèle cependant un défi technique important, attribuable à l'important investissement en ressource humaine nécessaire au tri et l'identification des échantillons. L'augmentation de l'accès aux technologies génomiques permet d'entrevoir l'utilisation de l'ADN comme moyen de sonder les espèces présentes dans les échantillons d'ichtyoplancton. Ce protocole vise à faire la caractérisation de l'ichtyoplancton de l'Archipel et de certains tributaires du lac Saint-Pierre par l'utilisation de filet bongo afin d'appliquer des traitements traditionnels et génomiques dans la détection de larves d'espèces rares (EAE et EMVs).



Image : Garcia et al. 2018

Remarques : La détection d'espèces aquatiques envahissantes, tout comme la détection des espèces rares, diffère du suivi d'une espèce ou d'une communauté. En période de colonisation et d'établissement, l'espèce sera présente en faible densité. Ainsi, l'effort d'échantillonnage doit être conséquent et se baser sur des techniques sélectives afin d'augmenter la probabilité de détection et d'effectuer un échantillonnage quantitatif. Un résultat négatif ne permettra pas de conclure que cette espèce est absente du plan d'eau. Il faut s'attendre à plusieurs résultats négatifs.

Période et strate d'échantillonnage

Comme pour les autres espèces qui composent le zooplancton, l'abondance et l'identité des larves de poissons seront variables durant l'année. Leur présence sera influencée par des facteurs abiotiques (température de l'eau ou débit) et biotiques (disponibilité des habitats et des proies). Généralement, le maximum d'abondance de l'ichtyoplancton se situe en début de saison, période où la majorité des espèces de poissons sont en reproduction. Chez le bar rayé, la reproduction a généralement lieu à des températures entre 13 et 18 °C, une période couvrant généralement la mi-mai à la mi-juin pour le fleuve Saint-Laurent. La reproduction de la carpe de roseau devrait débuter autour de 18 à 20°C, une période débutant autour de la mi-juin. Afin d'optimiser la détection des espèces cibles, la période couverte par l'échantillonnage de l'ichtyoplancton devrait avoir lieu à ces températures sur les zones les plus propices à la reproduction.

Il a été démontré que les espèces de l'ichtyoplancton démontrent un comportement de migration verticale journalière (MVJ). La périodicité et l'amplitude de la MVJ seront majoritairement

Préparé par Olivier Morissette

influencées par les conditions locales. De manière générale, les larves de poissons sont plus abondantes à la surface de l'eau entre 21h00 et 3h00 (D'Amours et al. 2002). Puisque l'échantillonnage de nuit représente un défi organisationnel important, une solution de compensation est suggérée. Un échantillonnage sur toute la colonne d'eau disponible devrait maximiser les chances de capture de l'ichtyoplancton, contrairement à une pêche uniquement en surface, une zone peu fréquentée par les larves de poissons durant le jour probablement à cause du phototaxisme négatif que la majorité des espèces expriment.

Engin de pêche

Le filet expérimental recommandé pour ce projet est un filet à zooplancton de type bongo. Cet engin est composé de deux filets à zooplancton coniques dont les arceaux sont fixés ensemble à un moyeu d'attache central, qui peut être mobile ou non. Les filets de 2 m de long ont une ouverture de 50 cm de diamètre et une largeur de maille de 500 μm (Fig. 2). Les filets se terminent par un godet rigide muni d'ouvertures de maille équivalente au filet (500 μm). Un poids allongé (dépresseur) est installé au bout d'un câble attaché au moyeu d'attache central afin de maintenir le filet en place et de favoriser la descente en profondeur. La masse de ce dépresseur sera variable selon les conditions d'échantillonnage et les profondeurs visées. Un débitmètre mécanique devrait être fixé sur le cadrage circulaire d'un des filets, en plein centre de son ouverture. Le recours à deux filets côte à côte présente deux avantages :

- Les bouches du filet ne sont pas obstruées par les brins d'attache comme le filet conique traditionnel, ce qui limite le phénomène de refoulement.
- Deux filets qui pêchent de manière simultanée, produisent des échantillons comparables, ce qui permet des traitements différents sur un échantillon non indépendant (ex. identification morphologique et ADN).

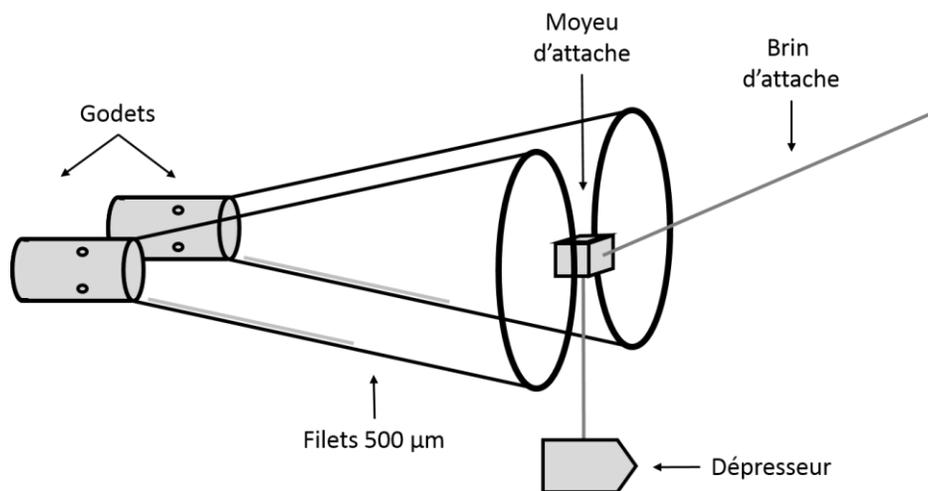


Figure 2. Schéma d'un filet expérimental de type bongo pour la caractérisation de l'ichtyoplancton

Utilisation de l'engin

Le filet sera opéré selon un échantillonnage de type chalutage horizontal en simple oblique (Fig. 3). L'objectif est de faire pêcher le filet entre la profondeur maximale et minimale pour une station donnée. Lors d'un transect de pêche, le filet devrait être placé entre ces profondeurs. Cette norme permettra de couvrir en totalité et de manière uniforme les strates où la probabilité de

Préparé par Olivier Morissette

retrouver l'espèce est la plus grande, durant le temps alloué. Si les conditions météorologiques ne permettent pas de rejoindre les profondeurs ciblées, un trait horizontal uniforme entre les deux profondeurs identifiées sera privilégié.

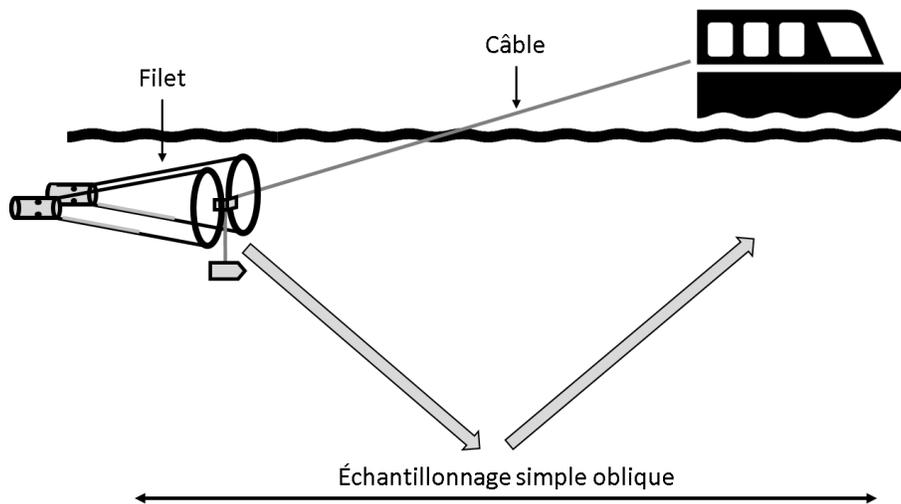


Figure 3. Représentation schématique d'un échantillonnage vertical de type simple oblique.

Effort d'échantillonnage

La pêche doit durer environ **10 minutes** le long du transect de pêche désigné (réduire le temps seulement si le filet colmate ou pour une autre raison technique). L'augmentation du temps de chalutage peut être envisageable si les échantillons présentent une faible quantité d'algues filamenteuse suite à 10 minutes de pêche. Le temps de chalutage sera comptabilisé dès le début du transect jusqu'à la sortie de l'eau du filet. Chaque transect complet sera considéré comme une station d'échantillonnage (une unité d'effort), mais l'estimation de la densité des espèces pêchées sera possible par l'estimation du volume d'eau filtrée (débitmètre).

Traitement des échantillons

Une fois le chalutage terminé, le filet sera remonté en surface, maintenu de façon verticale et rincé avec un flacon laveur (ou autre), afin de faire descendre tous les organismes vers le godet. Les échantillons des godets seront indépendamment versés et concentrés dans un tamis de maille 330 μm (ou équivalent, idéalement $\leq 500 \mu\text{m}$). Chaque échantillon sera devra être fixé immédiatement après l'échantillonnage dans l'éthanol 95 %, avec des pots différents pour chaque godet, afin d'assurer l'intégrité des spécimens. Il est conseillé de changer l'éthanol 24 heures après l'échantillonnage en tamisant à nouveau l'échantillon.

Caractérisation de l'ichtyoplancton – Liste de matériel

Matériel nécessaire

- 1 Filet bongo, diamètre d'ouverture 50 cm, longueur de 2 m et ouverture de maille 500 μm . Toujours manipuler avec soin le filet. Un trou viendrait modifier la capacité de filtration du filet et biaiser l'échantillonnage. Toujours transporter le filet dans un sac de transport.
- 3 Godet de même maillage (500 μm)
 - 1 Débitmètre mécanique
 - 2 Sondes de pression
- 1 Câble graduée munie d'un mousqueton (qui se barre de préférence)
- 1 Rapporteur d'angle du câble ou une application de niveau sur tablette ou téléphone
- 1 Plat de plastique de grande superficie (ex. bac à vaisselle)
- 1 Tamis compagnon de 300 μm + boîte de transport
- 1 Flacon laveur ≤ 500 mL (utiliser sans le bout pointu)
- 1 Pot à échantillon de 250 ml à 1 L à grande ouverture, étanche (très important)*
- 1 Étiquette hydrofuge*
- 1 Étiquette autocollante*
- 1 Crayon au plomb
- 1 Crayon indélébile
- 1 Bac type Rubbermaid (pour mettre tout ça, sauf le filet)

* Multiplier par le nombre de stations échantillonnées

Consommables et produits

Prévoir suffisamment selon le nombre de stations échantillonnées

Pour fixation à l'éthanol :

- 1 Flacon-laveur ≤ 500 mL rempli d'éthanol 95 %
- 1 Bouteille d'eau gazéifiée de type Perrier ou Club Soda ou poudre effervescente (ex : sel ENO)

Protocole d'échantillonnage pour la caractérisation de l'ichtyoplancton

Protocole pas-à-pas résumé

1. Rejoindre la station d'échantillonnage.
2. Déterminer la profondeur maximale à échantillonner le long du transect.
3. S'assurer que les godets sont bien vissés au filet et que le débitmètre, la sonde de pression est correctement fixé. Noter la valeur de départ du débitmètre et le numéro de série des sondes de pressions.
4. **Attacher le filet bongo au câble gradué à l'aide du mousqueton.** S'assurer également que le poids est bien fixé à l'anneau d'attache du filet.
5. Noter le nombre à 6 chiffres sur le débitmètre.
6. Immerger les filets en éliminant les bulles d'air et en faisant en sorte que le godet s'enfonce dans l'eau à la verticale.
7. Commencer à chaluter en faisant avancer le bateau dans le sens du transect et noter l'heure. Descendre doucement le filet jusqu'à ce que la profondeur supérieure visée¹ soit atteinte. S'assurer que le filet avance droit, le godet parallèle à celui-ci.
8. Effectuer le chalutage horizontal en simple oblique selon le temps et les profondeurs visées (~10 minutes). Le filet devrait se déplacer à une vitesse entre 3 et 4 nœuds (7.5 km/h), sans la dépasser, afin de minimiser le phénomène de refoulement.
9. Remonter le filet doucement, entre 0,5 et 1 mètre par seconde. Noter l'heure à laquelle le filet quitte la strate d'échantillonnage.
10. Une fois à la surface, noter le nombre à 6 chiffres du débitmètre. Utiliser ensuite un flacon-laveur (ou un tuyau d'arrosage si disponible) pour faire descendre tous les organismes dans les godets. Utiliser de l'eau du milieu et rincer à partir de l'extérieur du filet, de cette manière aucun nouvel organisme ne sera ajouté à l'échantillon. À partir de cette étape, toujours travailler dans un contenant de bonne superficie (ex. bac à vaisselle).
11. Dévisser le godet au-dessus du tamis, vider le contenu du godet dans le tamis et rincer le godet à l'aide du flacon-laveur. Le tamis fonctionnera mieux s'il a été mouillé au préalable. Si le contenu se tamise difficilement, passer doucement la main sous le tamis.
12. Concentrer les organismes dans un des bords du tamis et verser les dans le pot à échantillon en incorporant le moins d'eau possible. On peut utiliser pour ce faire un flacon-laveur rempli d'éthanol. Anesthésier avec un peu d'eau ou de l'eau gazéifiée, attendre 15 secondes. Remplir ensuite le pot jusqu'au bord avec de l'éthanol 95 %. Chaque pot d'échantillon devra contenir 1 tiers d'organismes pour 2 tiers d'éthanol 95%.
13. Insérer une étiquette, complétée (projet, date, station) au crayon plomb, dans le pot à échantillon et bien visser le couvercle pour s'assurer de l'étanchéité. Mélanger doucement sans brasser. Identifier également le pot avec une étiquette autocollante.
14. En fin de journée, télécharger seulement la sonde qui est allé à l'eau et la réinitialiser en différé pour le lendemain matin.

IMPORTANT : Toujours assumer que le plan d'eau visité peut être contaminé par des espèces aquatiques envahissantes (ex. cladocère épineux ou moule zébrée). Si des plans d'eau différents sont visités, faire sécher complètement le filet entre ceux-ci pour éviter la propagation. Il est également important d'appliquer les bonnes pratiques en matière de nettoyage des embarcations et du matériel.

¹ Voir le protocole – Estimation de la profondeur du filet
Préparé par Olivier Morissette

Protocole d'estimation de la profondeur du filet

- 1 Sur le câble gradué, noter la longueur de câble déployée.
- 2 À l'aide d'un rapporteur d'angle pour câble, estimer l'angle du câble par rapport à l'horizon.
- 3 Sur la table de profondeur, trouver la valeur correspondant à la rencontre des valeurs 1 et 2. Il s'agit de la profondeur estimée du filet.

Il est à noter que la profondeur estimée est relative au point d'attache du câble. Cette hauteur doit être considérée dans l'estimation de la profondeur atteinte.



Figure 4. Prise de l'angle du câble par rapport à l'horizon (photographie : Laboratoire des sciences aquatiques de l'Université du Québec à Chicoutimi)

Table de profondeur

		Longueur de câble (m)																				
		5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
Angle (degrés)	15	4,8	5,8	6,8	7,7	8,7	9,7	10,6	11,6	12,6	13,5	14,5	15,5	16,4	17,4	18,4	19,3	20,3	21,3	22,2	23,2	24,1
	20	4,7	5,6	6,6	7,5	8,5	9,4	10,3	11,3	12,2	13,2	14,1	15,0	16,0	16,9	17,9	18,8	19,7	20,7	21,6	22,6	23,5
	25	4,5	5,4	6,3	7,3	8,2	9,1	10,0	10,9	11,8	12,7	13,6	14,5	15,4	16,3	17,2	18,1	19,0	19,9	20,8	21,8	22,7
	30	4,3	5,2	6,1	6,9	7,8	8,7	9,5	10,4	11,3	12,1	13,0	13,9	14,7	15,6	16,5	17,3	18,2	19,1	19,9	20,8	21,7
	35	4,1	4,9	5,7	6,6	7,4	8,2	9,0	9,8	10,6	11,5	12,3	13,1	13,9	14,7	15,6	16,4	17,2	18,0	18,8	19,7	20,5
	40	3,8	4,6	5,4	6,1	6,9	7,7	8,4	9,2	10,0	10,7	11,5	12,3	13,0	13,8	14,6	15,3	16,1	16,9	17,6	18,4	19,2
	45	3,5	4,2	4,9	5,7	6,4	7,1	7,8	8,5	9,2	9,9	10,6	11,3	12,0	12,7	13,4	14,1	14,8	15,6	16,3	17,0	17,7
	50	3,2	3,9	4,5	5,1	5,8	6,4	7,1	7,7	8,4	9,0	9,6	10,3	10,9	11,6	12,2	12,9	13,5	14,1	14,8	15,4	16,1
	55	2,9	3,4	4,0	4,6	5,2	5,7	6,3	6,9	7,5	8,0	8,6	9,2	9,8	10,3	10,9	11,5	12,0	12,6	13,2	13,8	14,3
	60	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0	8,5	9,0	9,5	10,0	10,5	11,0	11,5	12,0	12,5
	65	2,1	2,5	3,0	3,4	3,8	4,2	4,6	5,1	5,5	5,9	6,3	6,8	7,2	7,6	8,0	8,5	8,9	9,3	9,7	10,1	10,6
	70	1,7	2,1	2,4	2,7	3,1	3,4	3,8	4,1	4,4	4,8	5,1	5,5	5,8	6,2	6,5	6,8	7,2	7,5	7,9	8,2	8,6
	75	1,3	1,6	1,8	2,1	2,3	2,6	2,8	3,1	3,4	3,6	3,9	4,1	4,4	4,7	4,9	5,2	5,4	5,7	6,0	6,2	6,5
	80	0,9	1,0	1,2	1,4	1,6	1,7	1,9	2,1	2,3	2,4	2,6	2,8	3,0	3,1	3,3	3,5	3,6	3,8	4,0	4,2	4,3

Annexe 2 Protocole Laboratoire – Tri et identification des œufs et des larves de bar rayé

Protocole Laboratoire

Tri et identification des œufs et des larves de bar rayé

Préparé par Denise Deschamps, Direction de l'expertise sur la faune aquatique

Matériel

• Stéréomicroscope	• Pince avec long manche ou cuillère
• Alcool éthylique 95%	• Pinces fines
• Tamis	• Support pour fioles
• Bac de récupération pour l'éthanol usé	• Fioles de scintillation
• Flacon laveur	• Étiquettes collantes
• Pétri en verre	• Étiquettes non collantes (papier hydrofuge)
• Plateau	• Compteur multiple ^{voir Note 1}
• Bêchers (#1 et #2)	• Feuilles de laboratoire
• Pellicule plastique (SaranWrap)	

Traitement des échantillons

Tri des échantillons :

1. Préparer et étiqueter le compteur ainsi que le support pour les fioles qui serviront à recevoir les œufs et larves trouvées dans l'échantillon.

Avant de débiter le tri, il est important de définir (**pour cette étape**) le niveau d'identification des organismes en tenant compte de l'expérience de la personne qui fera le tri. Afin d'éviter les erreurs, il est préférable d'identifier les organismes à un niveau moindre lorsque la personne qui tri a peu d'expérience et ensuite, finaliser l'identification avec des personnes expérimentées.

Ainsi, l'étiquetage du support pour les fioles et du compteur variera en fonction du degré d'identification fixé pour les organismes.

Exemple : Pour un débutant, l'identification peut se faire selon 3 groupes en séparant : les œufs, les larves et les inconnus. Par la suite, une personne expérimentée peut finaliser l'identification à la famille et/ou même à l'espèce selon le besoin.

Note 1 : Si vous ne possédez pas de compteur multiple, simplement prévoir une feuille pour noter le nombre d'organismes.

2. Remplir la moitié des fioles avec de l'alcool éthylique à 95 %.
3. Filtrer l'échantillon au-dessus d'un bac de récupération à l'aide d'un tamis de mailles égales ou inférieures au type d'engin utilisé pour récolter les échantillons. Récupérer l'alcool usé.

Exemple : Un échantillon récolté à l'aide d'un filet à plancton possédant des mailles de 300 µm sera filtré avec un tamis de mailles de 300 µm ou plus petites.

4. À l'aide d'un flacon laveur (contenant de l'eau), rincer le pot et le couvercle qui contenait l'échantillon afin de tout récupérer. À l'aide d'une douchette de robinet, bien rincer l'échantillon pour minimiser les vapeurs d'alcool lors du tri.
5. Transvider le contenu du tamis dans le bécher #1 sur lequel est inscrit « échantillon à trier » et ajouter un peu d'eau pour garder le matériel humide.
6. À l'aide d'une pince à long manche ou d'une cuillère, prélever une petite partie de l'échantillon et déposer le contenu dans un pétri avec un fond quadrillé. Ajouter un peu d'eau afin de ne pas assécher les organismes et faciliter le tri. Il est préférable d'utiliser de l'eau, car l'éthanol s'évapore trop rapidement et les vapeurs peuvent être nocives pour la santé.

Répartir uniformément et délicatement (afin de ne pas briser les organismes) la matière à trier sur toute la surface du pétri.

Note 2 : Le quadrillage (qui peut être dessiné avec un crayon permanent et une règle) permet de mieux suivre la séquence de tri et permet de s'assurer que l'ensemble de l'échantillon sera trié.

Note 3 : Éviter de mettre trop de matière à trier dans le pétri car plus il y a de matière dans le pétri, plus le tri sera difficile et le risque de ne pas voir un œuf ou une larve sera grand.

Note 4 : Éviter de mettre trop d'eau dans le pétri ce qui peut occasionner un brassage de la matière lorsqu'on déplace celui-ci.

7. Recouvrir le bécher #1 d'une pellicule plastique afin d'éviter que l'échantillon ne se dessèche.
8. À l'aide d'un stéréomicroscope, faire un premier balayage en observant un à un chacun des carrés dessinés au fond du pétri. À l'aide de pinces fines, retirer chaque œuf ou larve observé et le déposer dans la fiole. L'inscrire au compteur ou sur la feuille de note.

Note 5 : Si la matière est filamenteuse et/ou compacte, on peut séparer délicatement celle-ci à l'aide de pinces fines pour éviter de briser les organismes.

Note 6 : Il est important de bien vérifier les morceaux de végétation (sur le dessus et en dessous), les œufs et les larves sont parfois collés sur la végétation.

9. Après le premier balayage, mélanger et répartir de nouveau la partie de l'échantillon qui vient d'être triée et faire un second balayage afin de vérifier qu'aucun œuf et/ou larve n'a été oublié. Si plus de 2 individus sont retrouvés, effectuer un troisième balayage.

Note 7 : Si après un troisième balayage, le nombre d'œuf et/ou de larve retrouvé dans l'échantillon demeure supérieur à 2, il est important de voir à apporter des correctifs à la technique de triage. (ex : trop de matière dans le pétri, trop de liquide dans le pétri ce qui occasionne un brassage de la matière lorsqu'on déplace celui-ci, ...)

Note 8 : Pour les premiers échantillons triés, il est fortement recommandé de faire contrevérifier son échantillon par une personne expérimentée pour confirmer que le tri a été bien exécuté.

10. Lorsque le tri est terminé, mettre la partie de la matière qui vient d'être triée dans le bécher #2 sur lequel il est inscrit « fait ». L'eau déjà présente permettra de conserver l'échantillon humide.
11. Prélever une autre partie de l'échantillon dans le bécher #1 et répéter les opérations #6 à #10.
12. Si le tri ne peut être terminé dans la même journée mais sera repris le lendemain, l'échantillon peut demeurer dans le bécher #1 avec de l'eau. Par contre, si le tri ne doit reprendre que quelques jours plus tard, il est essentiel de conserver l'échantillon dans l'éthanol 95%.
13. Lorsque l'ensemble de l'échantillon a été trié :
 - Si l'échantillon doit être analysé dans le cadre de projets futurs, il est important de conserver le contenu. Dans ce cas, filtrer le contenu du bécher #2 et transvider la matière triée dans le pot d'origine. Ajouter de l'éthanol 95% ($\frac{2}{3}$ du volume de l'échantillon) et inscrire « fait » sur le couvercle.
 - Si l'échantillon ne servira pas à d'autre fin, on peut jeter la matière triée.

14. Remplir les fioles contenant les œufs ou les larves d'éthanol 95% jusqu'à ce la quantité d'éthanol ajoutée représente le $\frac{2}{3}$ du volume d'organismes récupérés.

Mettre une étiquette à l'intérieur (papier hydrofuge) et à l'extérieur (étiquettes collante) de celles-ci. Les étiquettes devraient contenir les informations suivantes :

- Projet
- Espèce ou famille
- No de station
- No d'échantillon
- Date

15. Noter les informations requises sur la feuille de laboratoire. (annexe 1).

Identification :

A. Pendant le tri

Tel que mentionné précédemment (section « Tri des échantillons » au point #1) il est important de définir le niveau d'identification en tenant compte de l'expérience de la personne qui fera le tri. **Le niveau d'identification à cette étape ne correspond pas nécessairement au niveau d'identification désiré à la fin du processus.**

Afin d'éviter les erreurs, il est préférable d'identifier à un niveau moindre lorsque la personne qui tri a peu d'expérience et, par la suite, de parfaire l'identification avec des personnes possédant une plus grande expérience.

Par contre, si dès le départ, le tri des échantillons est effectué par des personnes expérimentées le niveau d'identification devrait être le suivant :

- Tri séparé pour les œufs et les larves
- Pour chacun des stades (œufs et larves), tri par famille (ex : clupéidés, moronidés,...)
- Pour chacun des stades (œufs et larves), des fioles identifiées autres (pour identification ultérieure et/ou possiblement envoyé en génétique)

Note 9 : À cette étape, peu importe le niveau d'identification appliqué, il est essentiel de dénombrer les organismes pour chacun des niveaux (correspondant à chacune des fioles).

B. Après le tri

Si le niveau d'identification à la famille n'a pas été complété lors du tri, cette étape sera effectuée après le tri.

Suite à cette étape, une attention spéciale sera portée aux larves de la famille des moronidés (bar rayé, baret,...) et en particulier aux larves de bar rayé.

Pour la famille des moronidés :

Œufs :

- Identifier et dénombrer les œufs à l'espèce pour chaque station. L'identification morphologique doit impérativement être validée par une identification génétique.
- S'il est impossible d'assigner les œufs à l'espèce, regrouper les œufs semblables et préparer des échantillons pour analyses génétiques.

Larves

- Identifier et dénombrer les larves à l'espèce pour chaque station. L'identification des larves de moronidés doit impérativement être validée par des analyses génétiques.
- Pour les individus trop petits pour être identifiés à l'espèce, regrouper les larves semblables et préparer des échantillons pour analyses génétiques.

Pour le bar rayé ou larves de moronidés :

Avant les analyses génétiques

- Mesurer la longueur standard (bout du museau à bout du pédoncule caudal) de tous les spécimens.
- Si on désire connaître l'âge des larves, extraire l'otolithe.
- Si le nombre est trop élevé, il est possible de faire un sous-échantillonnage (idéalement $n = 50$ à 100 pour mener des analyses statistiques robustes).

Annexe 3 Détails des résultats d'analyse d'ADN pour les échantillons de la rivière Richelieu et le tronçon fluvial

Tableau 1 Rivière Richelieu - Résultats d'identification des œufs et larve à l'aide de l'ADN

Date	Station	Stade	Espèce	Nombre
25 mai	ST-RICH-01-T-B	Œuf	Bar rayé	9
			Non concluant	1
26 mai	ST-RICH-03-T-B	Œuf	Bar rayé	10
26 mai	ST-RICH-02-F	Œuf	Laquaiche argentée	2
			Non concluant	7
			Bar rayé	1
27 mai	ST-RICH-03-F	Œuf	Bar rayé	9
			Non concluant	1
28 mai	ST-RICH-02-F	Œuf	Alose savoureuse	7
			Laquaiche argentée	2
			Non concluant	1
1 juin	ST-RICH-03-F	Larve	Bar rayé	1

Tableau 2 Tronçon fluvial - Résultats d'identification des œufs et larve à l'aide de l'ADN

Date	Station	Stade	Espèce	Nombre
26 mai	ST-POR-03	Œuf	Bar rayé	28
27 mai	ST-BEC-03	Œuf	Bar rayé	11
	ST-BEC-04	Œuf	Bar rayé	14
	ST-BEC-05	Œuf	Bar rayé	28
29 mai	ST-BEC-02	Œuf	Bar rayé	14
	ST-BEC-02	Œuf	Non concluant	1
1 juin	ST-CAP-01	Larve	Bar rayé	1
	ST-CAP-01	Larve	Doré jaune	1
	ST-CAP-02	Œuf	Bar rayé	5
	ST-CAP-02	Œuf	Non concluant	1
	ST-CAP-03	Œuf	Bar rayé	10
	ST-CAP-03	Larve	Meunier rouge	1
	ST-CAP-03	Larve	Baret	1
	ST-CAP-04	Œuf	Bar rayé	1
	ST-CAP-04	Larve	Bar rayé	1
	ST-CAP-05-B	Larve	Meunier rouge	2
CAP-05-H	Larve	Meunier rouge	3	

Date	Station	Stade	Espèce	Nombre
3 juin	ST-POR-02	Œuf	Bar rayé	21
	ST-CAP-01	Larve	Doré noir	1
	ST-CAP-02	Œuf	Bar rayé	1
	ST-CAP-03	Œuf	Bar rayé	1
	ST-CAP-03	Œuf	Baret	1
	ST-CAP-03	Œuf	Non concluant	1
	ST-CAP-03	Larve	Doré noir	1
	ST-CAP-04	Larve	Bar rayé	2
	ST-CAP-05	Œuf	Baret	1
	ST-CAP-05	Larve	Doré noir	2
	ST-CAP-05	Larve	Baret	1
	ST-CAP-05	Larve	Alose savoureuse	1
	ST-POR-02	Œuf	Bar rayé	21
	5 juin	ST-CAP-01	Œuf	Bar rayé
ST-CAP-01		Larve	Doré noir	2
ST-CAP-01		Larve	Baret	1
ST-CAP-02		Œuf	Bar rayé	1
ST-CAP-02		Œuf	Non concluant	2
ST-CAP-03		Œuf	Baret	1
ST-CAP-03		Œuf	Non concluant	1
ST-CAP-04		Œuf	Non concluant	1
ST-CAP-04		Larve	Bar rayé	1
ST-CAP-04		Larve	Doré noir	5
ST-CAP-04		Larve	Meunier rouge	1
ST-CAP-05-B		Œuf	Meunier rouge	1
ST-CAP-05-B		Larve	Doré noir	7
ST-CAP-05-B		Larve	Bar rayé	3
ST-CAP-05-B		Larve	Fouille-roche zébré	1
ST-CAP-05-B		Larve	Doré jaune	1
ST-CAP-05-B		Larve	Couette	1
ST-CAP-05-B		Larve	Laquaiche argentée	1
ST-CAP-05-B	Larve	Perchaude	1	
9 juin	ST-CAP-01	Œuf	Doré noir	1
	ST-CAP-01	Œuf	Non concluant	1
	ST-CAP-01	Œuf	Baret	2
	ST-CAP-01	Larve	Baret	1
	ST-CAP-02	Œuf	Non concluant	2
	ST-CAP-02	Larve	Bar rayé	1
	ST-CAP-03	Œuf	Non concluant	1
	ST-CAP-03	Larve	Bar rayé	1

Date	Station	Stade	Espèce	Nombre
	ST-CAP-04	Œuf	Doré noir	1
	ST-CAP-04	Larve	Baret	1
11 juin	ST-CAP-01	Œuf	Non concluant	4
	ST-CAP-01	Larve	Alose savoureuse	1
	ST-CAP-02	Œuf	Baret	2
	ST-CAP-03	Larve	Éperlan arc-en-ciel	1
	ST-CAP-04	Œuf	Bar rayé	1
	ST-CAP-04	Larve	Doré noir	2
	ST-CAP-04	Larve	Bar rayé	1

Annexe 4 Identification d'œufs de poisson par une approche moléculaire de code-barres génétiques



UNIVERSITÉ
LAVAL

Identification d'œufs de poisson par une approche moléculaire de code-barres génétique

Rapport présenté à Englobe

Cecilia Hernandez
Charles Babin
Louis Bernatchez

IBIS
Institut de Biologie Intégrative et des Systèmes
Université Laval
Québec, QC
G1V 0A6

Auteur pour correspondance :
Dr Louis Bernatchez

14 juillet 2020
Tél: 1-418-656-3402; Téléc.: 1-418-656-7176
Courriel: louis.bernatchez@bio.ulaval.ca

Mise en contexte

L'identification à l'espèce basée sur des critères morphologiques est ardue sur certains types d'échantillons. Le séquençage moléculaire d'un fragment du gène mitochondrial permet de contourner cette difficulté. Cette méthode moléculaire standardisée est appelée barcoding, ou identification par barre-code génétique. La variation nucléotidique au sein du gène cytochrome c oxydase 1 (COI) permet de discriminer au niveau de l'espèce. Les séquences du gène COI de milliers de spécimens sont référencées et accessibles dans des bases de données publiques telles que BOLDSYSTEM ou GenBank de NCBI (Hebert et *al.* 2003). Le fragment 12S du gène mitochondrial peut également être utilisé, lorsque l'ADN extrait est de moins bonne qualité. Le segment amplifié est plus court, l'ADN plus dégradé peut donc être utilisé pour les analyses.

Objectif

Confirmer par l'approche moléculaire l'identification à l'espèce de 51 œufs de poissons dont l'identification est incertaine.

Méthode

Extraction de l'ADN

La première étape consiste à extraire et purifier l'ADN génomique des larves et des œufs. L'ADN a été extrait selon un protocole d'extraction au sel (Aljanabi & Martinez, 1997, protocole à l'annexe 1). Le culot purifié d'ADN a été suspendu dans 100 µl d'eau. La qualité des extractions a ensuite été validée sur gel d'agarose.

Amplification PCR et séquençage :

Une région d'environ 658 paires de bases (pb) du gène mitochondrial cytochrome oxydase I (COI) a été amplifiée avec les amorces FishCOI-Fet FishCOI-R (séquences décrites dans le Tableau 1). Les amorces pour le segment 12S (MiFish) sont également présentées au tableau 1, le segment amplifié varie selon l'espèce entre 166 et 182 pb (Miya *et al.* 2015). La réaction PCR pour chaque échantillon était composée de 6.25 µl de réactif AccuStart (kit commercial prêt-à-utiliser qui comprend la taq polymérase, les dNTPs et le MgCl₂), 3.25 µl d'H₂O, 0.5 µl de chaque amorce et 2 µl d'ADN, pour une réaction finale de 12.5 µl. Le cyclage suivant a été utilisé pour l'amplification : 1 min à 94°C, (30 sec à 94°C; 30 sec à 55°C; 45 sec à 72°C)_{x35 cycles}, 5 min à 72°C

Tableau 1. Séquences des amorces utilisées pour l’amplification du gène cytochrome oxydase I (COI) et 12 S de l’ADN mitochondrial.

Amorces	Séquence des amorces (5’-3’)
FishCOI-F	AAY CAY AAA GAY ATY GGY ACC CT
FishCOI-R	TAN ACT TCN GGR TGN CCR ZZG AAY CA
MiFish-F	GTCGGTAAAACCTCGTGCCAGC
MiFish-R	CATAGTGGGGTATCTAATCCCAGTTTG

Les produits de la PCR ont par la suite été séquencés par la méthode de Sanger à la plateforme d’analyses génomiques de l’IBIS (Institut de Biologie Intégrative et des Systèmes) à l’Université Laval sur le séquenceur automatisé ABI Prism 3100® (Applied Biosystems).

Analyse de séquences

Les séquences obtenues ont été éditées à l’aide du logiciel Geneious et ont été comparées aux séquences de référence de la base de données BOLD en utilisant le BOLD Identification System (http://www.boldsystems.org/index.php/IDS_OpenIdEngine) ou Genbank. Une séquence est considérée correctement assignée à une espèce lorsque le pourcentage de similarité est supérieur ou égal à 99%.

Résultats

Les résultats de l’identification par barcoding sont présentés dans le tableau 2. Aucun résultat n’est disponible pour les échantillons suivants : 1B25-09, 2F26-02 à 2F26-05, 2F26-07 à 2F26-09, 2F28-09 et 3F27-01, l’extraction d’ADN n’as pas permis de récolter assez de matériel génétique. Malheureusement, aucune reprise d’extraction d’ADN n’est possible pour les œufs, car l’entièreté de l’échantillon est utilisée lors du premier essai d’extraction d’ADN.

Tableau 2. Identification à l'espèce pour chaque échantillon d'œuf.

Échantillon	Espèce identifiée
1B25-01_12S	<i>Morone saxatilis</i>
1B25-02_12S	<i>Morone saxatilis</i>
1B25-03_12S	<i>Morone saxatilis</i>
1B25-04_12S	<i>Morone saxatilis</i>
1B25-05_12S	<i>Morone saxatilis</i>
1B25-06_12S	<i>Morone saxatilis</i>
1B25-07_12S	<i>Morone saxatilis</i>
1B25-08_12S	<i>Morone saxatilis</i>
1B25-09_12S	Non concluant
1B25-10_12S	<i>Morone saxatilis</i>
2F26-01_COI	<i>Hiodon tergisus</i>
2F26-02_12S	Non concluant
2F26-03_12S	Non concluant
2F26-04_12S	Non concluant
2F26-05_12S	Non concluant
2F26-06_COI	<i>Hiodon tergisus</i>
2F26-07_12S	Non concluant
2F26-08_12S	Non concluant
2F26-09_12S	Non concluant
2F26-10_12S	<i>Morone saxatilis</i>
2F28-01_12S	<i>Alosa sapidissima</i>
2F28-02_COI	<i>Alosa sapidissima</i>
2F28-03_COI	<i>Alosa sapidissima</i>
2F28-04_12S	<i>Alosa sapidissima</i>
2F28-05_COI	<i>Hiodon tergisus</i>

Échantillon	Espèce identifiée
2F28-06_COI	<i>Hiodon tergisus</i>
2F28-07_COI	<i>Alosa sapidissima</i>
2F28-08_COI	<i>Alosa sapidissima</i>
2F28-09_12S	Non concluant
2F28-10_COI	<i>Alosa sapidissima</i>
3B26-01_COI	<i>Morone saxatilis</i>
3B26-02_COI	<i>Morone saxatilis</i>
3B26-03_COI	<i>Morone saxatilis</i>
3B26-04_COI	<i>Morone saxatilis</i>
3B26-05_COI	<i>Morone saxatilis</i>
3B26-06_COI	<i>Morone saxatilis</i>
3B26-07_COI	<i>Morone saxatilis</i>
3B26-08_COI	<i>Morone saxatilis</i>
3B26-09_COI	<i>Morone saxatilis</i>
3B26-10_COI	<i>Morone saxatilis</i>
3F01-01_COI	<i>Morone saxatilis</i>
3F27-01_12S	Non concluant
3F27-02_12S	<i>Morone saxatilis</i>
3F27-03_COI	<i>Morone saxatilis</i>
3F27-04_12S	<i>Morone saxatilis</i>
3F27-05_12S	<i>Morone saxatilis</i>
3F27-06_COI	<i>Morone saxatilis</i>
3F27-07_12S	<i>Morone saxatilis</i>
3F27-08_12S	<i>Morone saxatilis</i>
3F27-09_12S	<i>Morone saxatilis</i>
3F27-10_12S	<i>Morone saxatilis</i>

Références

Aljanabi SM, Martinez I (1997) Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR based techniques, *Nucleic Acids Research*, 25, 4692-4693.

Hebert, P. D. N., Ratnasingham, S., & Waard, J. (2003). Barcoding animal life : cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species Barcoding animal life : cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 270(figure 1), S96–S99.

Miya M, Sato Y, Fukunaga T, Sado T, Poulsen JY, Sato K, Minamoto T, Yamamoto S, Yamanaka H, Araki H, Kondoh M, Iwasaki W (2015) MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: detection of more than 230 subtropical marine species. *R.Soc. Open sci.* 2(7).

Annexe 1

Protocole d'extraction d'ADN par la méthode aux sels

Tiré de Salah M, Aljanabi & Icar Martinez, 1997 : Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques, Nucleic Acids Research 25, # 22, 4692-4693.

Tampon d'extraction salin :

	250 ml
2 mM EDTA	1 ml; de 0,5 M EDTA
10 mM Tris-HCl	2,5 ml de 1 M Tris-HCl (pH 8)
0,4 M NaCl	20 ml de 5 M NaCl
	226,5 ml dH ₂ O

SDS 20 % :

20 g de SDS + 80 ml de dH₂O, mélanger et ajuster le volume à 100 ml final

Solution saline 6 M :

Dissoudre 29 g de NaCl dans 100 ml dH₂O

Dissoudre 6,06 g de NaCl additionnel (on peut le faire chauffer au micro-ondes)

Procédure :

- 1- Couper des bouts de tissu d'environ 0,05 à 0,25 cm²
- 2- Les déposer dans des tubes 1,5 ml pré identifiés
- 3- Laisser les morceaux de tissu sécher (pour enlever tout l'éthanol résiduel)
- 4- Ajouter 440 ul de tampon d'extraction salin + 44 ul de SDS 20 % + 8 ul de Protéinase K (20 mg/ml)
- 5- Vortexer quelques secondes
- 6- Incuber pendant la nuit à 37 °C en vortexant aux 20 minutes
- 7- Centrifuger quelques secondes pour faire descendre la buée qui se retrouve sur les parois des tubes
- 8- Ajouter 300 ul de la solution saline 6 M
- 9- Vortexer 1 minute
- 10- Centrifuger à 10300 rpm pendant 30 minutes,
- 11- Transférer 600 ul de surnageant dans un nouveau tube 1,5 ml pré identifié
- 12- Ajouter 600 ul isopropanol froid (conservé au congélo - 20°C)
- 13- Mélanger gentiment les tubes en les inversant quelques fois
- 14- Incuber les tubes à -20°C pendant 30 minutes
- 15- Centrifuger à 13000 rpm pendant 20 minutes
- 16- Enlever le surnageant à la pipette
- 17- Sécher les tubes en utilisant un morceau de papier (attention à ne pas toucher le culot)
- 18- Ajouter 200 ul d'éthanol 70 % froid (conservé au congélo - 20°C)
- 19- Centrifuger à 13000 rpm pendant 10 minutes
- 20- Enlever le surnageant à la pipette
- 21- Sécher les tubes en utilisant un morceau de papier (attention à ne pas toucher le culot)
- 22- Laisser le culot sécher 1 ou 2 heures à 60 °C ou toute la nuit à 37°C
- 23- Dissoudre le culot dans 100 ul d'H₂O



UNIVERSITÉ
LAVAL

Identification d'œufs de poisson par une approche moléculaire de code-barres génétiques

Rapport présenté à Englobe

Gabriel Piette-Lauzière
Cecilia Hernandez
Louis Bernatchez

IBIS
Institut de Biologie Intégrative et des Systèmes
Université Laval
Québec, QC
G1V 0A6

Auteur pour correspondance :
Dr Louis Bernatchez

14 juillet 2020
Tél: 1-418-656-3402
Courriel: louis.bernatchez@bio.ulaval.ca

Mise en contexte

L'identification à l'espèce basée sur des critères morphologiques est ardue sur certains types d'échantillons. Le séquençage moléculaire d'un fragment du gène mitochondrial permet de contourner cette difficulté. Cette méthode moléculaire standardisée est appelée « *barcoding* », ou identification par barre-code génétique. La variation nucléotidique au sein du gène cytochrome c oxydase 1 (COI) permet de discriminer au niveau de l'espèce. Les séquences du gène COI de milliers de spécimens sont référencées et accessibles dans des bases de données publiques telles que BOLDSYSTEM ou GenBank de NCBI (Hebert et al. 2003).

Objectif

Confirmer par l'approche moléculaire l'identification à l'espèce de 117 œufs de poisson dont l'identification est incertaine.

Méthode

Extraction de l'ADN

La première étape consiste à extraire et purifier l'ADN génomique des œufs. L'ADN a été extrait en suivant le protocole commercial de Qiagen Blood and Tissue Kit. Le culot purifié d'ADN a été suspendu dans 40 µl d'eau. La qualité des extractions a ensuite été validée sur gel d'agarose.

Amplification PCR et séquençage :

Une région d'environ 658 paires de bases (pb) du gène mitochondrial cytochrome oxydase I (COI) a été amplifiée avec les amorces FishCOI-F et FishCOI-R (séquences décrites dans le Tableau 1). La réaction PCR pour chaque échantillon était composée de 6.25 µl de réactif AccuStart (kit commercial prêt-à-utiliser qui comprend la taq polymérase, les dNTPs et le MgCl₂), 3.25 µl d'H₂O, 0.5 µl de chaque amorce et 2 µl d'ADN, pour une réaction finale de 12.5 µl. Le cyclage suivant a été utilisé pour l'amplification : 1 min à 94°C, (30 sec à 94°C; 30 sec à 55°C; 45 sec à 72°C)_{x35 cycles}, 5 min à 72°C (Annexe 1).

Tableau 1. Séquences des amorces utilisées pour l'amplification du gène cytochrome oxydase I (COI) de l'ADN mitochondrial.

Amorces	Séquence des amorces (5'-3')
FishCOI-F	AAY CAY AAA GAY ATY GGY ACC CT
FishCOI-R	TAN ACT TCN GGR TGN CCR ZZG AAY CA

Les produits de la PCR ont par la suite été séquencés par la méthode de Sanger à la plateforme d'analyses génomiques de l'IBIS (Institut de Biologie Intégrative et des Systèmes) à l'Université Laval sur le séquenceur automatisé ABI Prism 3100® (Applied Biosystems).

Analyse de séquences

Les séquences obtenues ont été éditées à l'aide du logiciel Geneious et ont été comparées aux séquences de référence de la base de données BOLD en utilisant le BOLD Identification System (http://www.boldsystems.org/index.php/IDS_OpenIdEngine) ou Genbank. Une séquence est considérée correctement assignée à une espèce lorsque le pourcentage de similarité est supérieur ou égal à 99%.

Résultats

Les résultats de l'identification par code-barres génétiques sont présentés dans le tableau 2. Sur les 117 échantillons, 116 ont permis d'obtenir des séquences de bonne qualité sur le gène COI. Pour l'échantillon POR-02-5, l'extraction d'ADN n'a pas permis de récolter assez de matériel génétique. Malheureusement, aucune reprise d'extraction d'ADN n'est possible pour les œufs, car l'entièreté de l'échantillon est utilisée lors du premier essai d'extraction d'ADN. À l'exception de cet échantillon, pour qui l'identification s'est avérée impossible, tous les échantillons correspondaient à 99% ou plus avec les séquences de références du bar rayé (*Morone saxatilis*). En contraste, le pourcentage de similarité des échantillons avec l'espèce sœur la plus proche, le baret (*Morone americana*), étaient en moyenne de 87%.

Tableau 2. Identification à l'espèce pour chaque échantillon d'œuf.

Échantillon	Espèce identifiée	Échantillon	Espèce identifiée	Échantillon	Espèce identifiée
BEC-04-1	<i>Morone saxatilis</i>	POR-03-26	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-02-5	<i>Morone saxatilis</i>
BEC-04-2	<i>Morone saxatilis</i>	POR-03-27	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-02-6	<i>Morone saxatilis</i>
BEC-04-3	<i>Morone saxatilis</i>	POR-03-28	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-02-7	<i>Morone saxatilis</i>
BEC-04-4	<i>Morone saxatilis</i>	POR-02-1	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-02-8	<i>Morone saxatilis</i>
BEC-04-5	<i>Morone saxatilis</i>	POR-02-2	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-02-9	<i>Morone saxatilis</i>
BEC-04-6	<i>Morone saxatilis</i>	POR-02-3	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-02-10	<i>Morone saxatilis</i>
BEC-04-7	<i>Morone saxatilis</i>	POR-02-4	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-02-11	<i>Morone saxatilis</i>
BEC-04-8	<i>Morone saxatilis</i>	POR-02-5	Identification impossible	BEC-02-12	<i>Morone saxatilis</i>
BEC-04-9	<i>Morone saxatilis</i>	POR-02-6	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-02-13	<i>Morone saxatilis</i>
BEC-04-10	<i>Morone saxatilis</i>	POR-02-7	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-02-14	<i>Morone saxatilis</i>
BEC-04-11	<i>Morone saxatilis</i>	POR-02-8	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-02-15	<i>Morone saxatilis</i>
BEC-04-12	<i>Morone saxatilis</i>	POR-02-9	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-05-1	<i>Morone saxatilis</i>
BEC-04-13	<i>Morone saxatilis</i>	POR-02-10	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-05-2	<i>Morone saxatilis</i>
BEC-04-14	<i>Morone saxatilis</i>	POR-02-11	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-05-3	<i>Morone saxatilis</i>
POR-03-1	<i>Morone saxatilis</i>	POR-02-12	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-05-4	<i>Morone saxatilis</i>
POR-03-2	<i>Morone saxatilis</i>	POR-02-13	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-05-5	<i>Morone saxatilis</i>
POR-03-3	<i>Morone saxatilis</i>	POR-02-14	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-05-6	<i>Morone saxatilis</i>
POR-03-4	<i>Morone saxatilis</i>	POR-02-15	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-05-7	<i>Morone saxatilis</i>
POR-03-5	<i>Morone saxatilis</i>	POR-02-16	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-05-8	<i>Morone saxatilis</i>
POR-03-6	<i>Morone saxatilis</i>	POR-02-17	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-05-9	<i>Morone saxatilis</i>
POR-03-7	<i>Morone saxatilis</i>	POR-02-18	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-05-10	<i>Morone saxatilis</i>
POR-03-8	<i>Morone saxatilis</i>	POR-02-19	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-05-11	<i>Morone saxatilis</i>
POR-03-9	<i>Morone saxatilis</i>	POR-02-20	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-05-12	<i>Morone saxatilis</i>
POR-03-10	<i>Morone saxatilis</i>	POR-02-21	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-05-13	<i>Morone saxatilis</i>
POR-03-11	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-03-1	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-05-14	<i>Morone saxatilis</i>
POR-03-12	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-03-2	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-05-15	<i>Morone saxatilis</i>
POR-03-13	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-03-3	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-05-16	<i>Morone saxatilis</i>
POR-03-14	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-03-4	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-05-17	<i>Morone saxatilis</i>
POR-03-15	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-03-5	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-05-18	<i>Morone saxatilis</i>
POR-03-16	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-03-6	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-05-19	<i>Morone saxatilis</i>
POR-03-17	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-03-7	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-05-20	<i>Morone saxatilis</i>
POR-03-18	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-03-8	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-05-21	<i>Morone saxatilis</i>
POR-03-19	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-03-9	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-05-22	<i>Morone saxatilis</i>
POR-03-20	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-03-10	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-05-23	<i>Morone saxatilis</i>
POR-03-21	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-03-11	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-05-24	<i>Morone saxatilis</i>
POR-03-22	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-02-1	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-05-25	<i>Morone saxatilis</i>
POR-03-23	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-02-2	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-05-26	<i>Morone saxatilis</i>
POR-03-24	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-02-3	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-05-27	<i>Morone saxatilis</i>
POR-03-25	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-02-4	<i>Morone saxatilis</i>	BEC-05-28	<i>Morone saxatilis</i>

Références

Hebert, P. D. N., Ratnasingham, S., & Waard, J. (2003). Barcoding animal life : cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species Barcoding animal life : cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 270(figure 1), S96–S99.

Miya M, Sato Y, Fukunaga T, Sado T, Poulsen JY, Sato K, Minamoto T, Yamamoto S, Yamanaka H, Araki H, Kondoh M, Iwasaki W (2015) MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: detection of more than 230 subtropical marine species. *R.Soc. Open sci.* 2(7).

Annexe 1

Protocole pour BARCODING

Étape 1. Extraction d'ADN des échantillons reçus

Étape 2. Quantification au Nanodrop

- Si plus haut que ~60 ng/ul, diluer à 10ng/ul

Étape 3. PCR Fish COI (poisson) – 650 bp

- Mettre 2ul d'ADN plus 10.5ul PCR mix

Réactifs	1Rx
AccustartII	6.25
Fish COI F (10 um)	0.5
Fish COI R (10 um)	0.5
Eau	3.25
Total :	10.5 par individu

PCR Protocol					
1	94°C	2 min (160 sec)			1.00
2	94°C	45 sec			1.00
3	53°C	45 sec			1.00
4	72°C	45 sec	2	34	1.00
5	72°C	5 min (300 sec)			1.00
6	12°C	Infinite (.)			1.00

Étape4. Faire un gel 1% avec une échelle (LDML)

- Mettre 4ul de réactif pcr et 4ul d'échelle LDML (Toujours mettre la même quantité de LDML que de réactif PCR)
- Estimer la concentration de la Pcr à l'aide de l'échelle LDML

Étape 5. Envoyer au séquençage Sanger (avec l'amorce Fish COI F)



UNIVERSITÉ
LAVAL

Identification d'œufs de poisson par une approche moléculaire de code-barres génétiques

Rapport présenté à Englobe

Gabriel Piette-Lauzière
Louis Bernatchez

IBIS
Institut de Biologie Intégrative et des Systèmes
Université Laval
Québec, QC
G1V 0A6

Auteur pour correspondance :
Dr Louis Bernatchez

14 juillet 2020
Tél: 1-418-656-3402
Courriel: louis.bernatchez@bio.ulaval.ca

Table des matières

Mise en contexte	3
Objectif	3
Méthode	3
Extraction de l'ADN	3
Amplification PCR et séquençage :	3
Analyse de séquences	4
Résultats.....	4
Références.....	13
Annexe 1 : Protocoles d'extraction de l'ADN des échantillons	14
Annexe 2 : Protocole pour BARCODING	18

Mise en contexte

L'identification à l'espèce basée sur des critères morphologiques est ardue sur certains types d'échantillons. Le séquençage moléculaire d'un fragment du gène mitochondrial permet de contourner cette difficulté. Cette méthode moléculaire standardisée est appelée « *barcoding* », ou identification par barre-code génétique. La variation nucléotidique au sein du gène cytochrome c oxydase 1 (COI) permet de discriminer au niveau de l'espèce. Les séquences du gène COI de milliers de spécimens sont référencées et accessibles dans des bases de données publiques telles que BOLDSYSTEM ou GenBank de NCBI (Hebert et al. 2003).

Objectif

Confirmer par l'approche moléculaire l'identification à l'espèce de 316 échantillons de poissons, de larves et d'œufs récoltés par les équipes d'Englobe.

Méthode

Extraction de l'ADN

La première étape consiste à extraire et purifier l'ADN génomique des échantillons. Pour les échantillons de poissons et de larves, l'ADN génomique a été extrait (mis en solution aqueuse) selon un protocole d'extraction au sel (Annexe 1; Aljanabi et Martinez, 1997). Pour les œufs, l'ADN génomique a été extrait par une méthode dérivée du protocole d'Aranishi (2006) utilisant du CHELEX 100 (Bio-Rad). La concentration d'ADN extrait a ensuite été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre NanoDrop 2000 (Thermo Scientific) et la qualité a été validée par migration sur gel d'agarose 1%.

Amplification PCR et séquençage :

Une région de 658 paires de bases (pb) du gène mitochondrial cytochrome oxydase I (COI) a été amplifiée avec les amorces FishCOI-F et FishCOI-R (séquences décrites dans le Tableau 1). La réaction PCR pour chaque échantillon était composée de 6.25 µl de réactif AccuStart (kit commercial prêt-à-utiliser qui comprend la taq polymérase, les dNTPs et le MgCl₂), 3.25 µl d'H₂O, 0.5 µl de chaque amorce et 2 µl d'ADN, pour une réaction finale de 12.5 µl. Le cyclage suivant a été utilisé pour l'amplification : 1 min à 94°C, (30 sec à 94°C; 30 sec à 55°C; 45 sec à 72°C) x 35 cycles, 5 min à 72°C (Annexe 2).

Tableau 1. Séquences des amorces utilisées pour l'amplification du gène cytochrome oxydase I (COI) de l'ADN mitochondrial.

Amorces	Séquence des amorces (5'-3')
FishCOI-F	AAY CAY AAA GAY ATY GGY ACC CT
FishCOI-R	TAN ACT TCN GGR TGN CCR ZZG AAY CA

Les produits de la PCR ont par la suite été séquencés par la méthode de Sanger à la plateforme d'analyses génomiques de l'IBIS (Institut de Biologie Intégrative et des Systèmes) à l'Université Laval sur le séquenceur automatisé ABI Prism 3100® (Applied Biosystems).

Analyse de séquences

Les séquences obtenues ont été éditées à l'aide du logiciel *Geneious* et ont été comparées aux séquences de référence disponibles dans la base de données BOLD en utilisant le *BOLD Identification System* (http://www.boldsystems.org/index.php/IDS_OpenIdEngine) ou avec l'outil BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) de *GenBank* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>). Une séquence est considérée correctement assignée à une espèce lorsque le pourcentage de similarité est supérieur ou égal à 99%.

Résultats

Les résultats de l'identification par code-barres génétiques sont présentés dans le tableau 2. Sur les 316 échantillons, 298 ont permis d'obtenir des séquences de bonne qualité avec le gène COI amplifié, ce qui en a permis l'identification à l'espèce. Malheureusement, pour les 18 échantillons restants, la qualité des séquences obtenues n'a pas permis une identification à l'espèce. À noter qu'aucune reprise d'extraction d'ADN n'est possible pour ces échantillons, car l'entièreté du tissu disponible est utilisé dès la première d'extraction d'ADN.

Il est à noter que certains échantillons ont été renommés une fois rendus en laboratoire puisque nous avons noté la présence de doublons dans les fichiers de référence envoyés par Englobe. Lorsque possible, une précision du type de tissus « Œuf » ou « Larve » a été effectuée. Lorsque cette précision ne pouvait pas distinguer deux échantillons, les indicatifs « lab1 » ou « lab2 » ont été ajoutés.

Tableau 2. Identification à l'espèce des échantillons de poissons, d'alevins ou d'œufs récoltés par Englobe.

Identifiant Englobe	Nom scientifique	Nom commun
2-9-1	<i>Morone americana</i>	Baret
3-1-1	<i>Morone americana</i>	Baret
3-1-2	<i>Morone americana</i>	Baret
3-1-3	<i>Morone americana</i>	Baret
3-3-1	<i>Morone americana</i>	Baret
3-7-1	<i>Morone americana</i>	Baret
3-7-2	<i>Morone americana</i>	Baret
3-7-3	<i>Morone americana</i>	Baret
3-15-1	<i>Morone americana</i>	Baret
3-15-2	<i>Morone americana</i>	Baret
3-15-3	<i>Morone americana</i>	Baret
4-5-1	<i>Morone americana</i>	Baret
4-8-1	<i>Morone americana</i>	Baret
4-11-1	<i>Morone americana</i>	Baret
4-11-2	<i>Morone americana</i>	Baret
4-13-1	<i>Morone americana</i>	Baret
4-13-2	<i>Morone americana</i>	Baret
4-13-3	<i>Morone americana</i>	Baret
4-13-4	<i>Morone americana</i>	Baret
4-13-5	<i>Morone americana</i>	Baret
4-13-6	<i>Morone americana</i>	Baret
4-13-7	<i>Morone americana</i>	Baret
4-13-8	<i>Morone americana</i>	Baret
4-13-9	<i>Morone americana</i>	Baret
4-13-10	<i>Morone americana</i>	Baret
5-8-1	<i>Morone americana</i>	Baret
5-10-1	<i>Morone americana</i>	Baret
5-10-2	<i>Morone americana</i>	Baret
5-10-3	<i>Morone americana</i>	Baret
5-15-1	<i>Morone americana</i>	Baret
5-17-1	<i>Morone americana</i>	Baret
6-1-1	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
6-2-1	<i>Morone americana</i>	Baret
6-2-2	<i>Morone americana</i>	Baret
6-2-3	<i>Morone americana</i>	Baret
6-2-4	<i>Morone americana</i>	Baret
6-2-5	<i>Morone americana</i>	Baret
6-2-6	<i>Morone americana</i>	Baret
6-2-7	<i>Morone americana</i>	Baret
6-2-8	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé

Identifiant Englobe	Nom scientifique	Nom commun
6-2-9	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
6-5-1	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
6-6-1	<i>Morone americana</i>	Baret
6-6-2	<i>Morone americana</i>	Baret
6-6-3	<i>Morone americana</i>	Baret
6-6-4	<i>Morone americana</i>	Baret
6-6-5	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
6-6-6	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
6-6-7	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
6-6-8	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
6-7-1	<i>Morone americana</i>	Baret
6-7-2	<i>Morone americana</i>	Baret
6-11-1	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
6-13-1	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
6-13-2	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
6-13-3	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
6-14-1	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
6-14-2	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
6-14-3	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
6-14-4	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
6-14-5	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
6-15-1	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
6-15-2	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
6-15-3	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
6-19-1	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
6-20-1	<i>Morone americana</i>	Baret
6-20-2	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
6-20-3	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
6-20-4	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
6-20-5	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
6-21-1	<i>Morone americana</i>	Baret
6-21-2	<i>Morone americana</i>	Baret
6-21-3	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
6-21-4	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
6-21-5	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-3-1	<i>Morone americana</i>	Baret
7-3-2	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-3-3	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-3-4	<i>Morone americana</i>	Baret
7-3-5	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-3-6	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-3-7	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé

Identifiant Englobe	Nom scientifique	Nom commun
7-3-8	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-3-9	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-3-10	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-3-11	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-4-1	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-4-2	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-5-1	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-5-2	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-5-3	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-5-4	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-5-5	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-6-1	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-6-2	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-6-3	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-6-4	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-6-5	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-6-6	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-6-7	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-6-8	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-6-9	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-6-10	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-7-1	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-7-2	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-7-3	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-7-4	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-7-5	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-10-1	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-10-2	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-10-3	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-10-4	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-10-5	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-10-6	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-10-7	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-10-8	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-10-9	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-10-10	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-11-1	<i>Morone americana</i>	Baret
7-11-2	<i>Morone americana</i>	Baret
7-11-3	<i>Morone americana</i>	Baret
7-11-4	<i>Morone americana</i>	Baret
7-11-5	<i>Morone americana</i>	Baret
7-11-6	<i>Morone americana</i>	Baret

Identifiant Englobe	Nom scientifique	Nom commun
7-11-7	<i>Morone americana</i>	Baret
7-11-8	<i>Morone americana</i>	Baret
7-11-9	<i>Morone americana</i>	Baret
7-11-10	<i>Morone americana</i>	Baret
7-11-11	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-11-12	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-11-13	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-11-14	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-11-15	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-11-16	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-11-17	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-11-18	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-11-19	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-11-20	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-13-1	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-13-2	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-13-3	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-13-4	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-13-5	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-13-6	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-14-1	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-14-2	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-14-3	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-14-4	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-14-5	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-14-6	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-14-7	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-14-8	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-14-9	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-14-10	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-15-1	<i>Morone americana</i>	Baret
7-15-2	<i>Morone americana</i>	Baret
7-15-3	<i>Morone americana</i>	Baret
7-15-4	<i>Morone americana</i>	Baret
7-15-5	<i>Morone americana</i>	Baret
7-15-6	<i>Morone americana</i>	Baret
7-15-7	<i>Morone americana</i>	Baret
7-15-8	<i>Morone americana</i>	Baret
7-15-9	<i>Morone americana</i>	Baret
7-15-10	<i>Morone americana</i>	Baret
7-15-11	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-15-12	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé

Identifiant Englobe	Nom scientifique	Nom commun
7-15-13	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-15-14	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-15-15	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-15-16	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-15-17	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-15-18	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-15-19	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
7-15-20	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
CAP-01-1	<i>Sander vitreus</i>	Doré jaune
CAP-01-2	<i>Sander canadensis</i>	Doré noir
CAP-01-3	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
CAP-01-4	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
CAP-01-5	<i>Sander canadensis</i>	Doré noir
CAP-01-6	<i>Morone americana</i>	Baret
CAP-01-7	<i>Sander canadensis</i>	Doré noir
CAP-01-8	<i>Sander canadensis</i>	Doré noir
CAP-01-9	Identification impossible	Identification impossible
CAP-01-10	<i>Morone americana</i>	Baret
CAP-01-11	<i>Morone americana</i>	Baret
CAP-01-12	<i>Morone americana</i>	Baret
CAP-01-13	Identification impossible	Identification impossible
CAP-01-14	Identification impossible	Identification impossible
CAP-01-15	Identification impossible	Identification impossible
CAP-01-16	Identification impossible	Identification impossible
CAP-01-18	<i>Alosa sapidissima</i>	Alose savoureuse
CAP-01-19	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
CAP-02-1	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
CAP-02-2	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
CAP-02-3	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
CAP-02-4	Identification impossible	Identification impossible
CAP-02-5	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
CAP-02-6	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
CAP-02-7	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
CAP-02-8	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
CAP-02-9	Identification impossible	Identification impossible
CAP-02-10	Identification impossible	Identification impossible
CAP-02-11	Identification impossible	Identification impossible
CAP-02-12	Identification impossible	Identification impossible
CAP-02-13	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
CAP-02-14	<i>Morone americana</i>	Baret
CAP-02-15	<i>Morone americana</i>	Baret

Identifiant Englobe	Nom scientifique	Nom commun
CAP-03-1	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
CAP-03-2	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
CAP-03-3	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
CAP-03-4	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
CAP-03-5	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
CAP-03-6	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
CAP-03-7	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
CAP-03-8	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
CAP-03-9	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
CAP-03-10	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
CAP-03-11	<i>Catostomus catostomus</i>	Meunier rouge
CAP-03-12	<i>Morone americana</i>	Baret
CAP-03-13	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
CAP-03-14	<i>Morone americana</i>	Baret
CAP-03-15	Identification impossible	Identification impossible
CAP-03-16	<i>Sander canadensis</i>	Doré noir
CAP-03-17	<i>Morone americana</i>	Baret
CAP-03-18	Identification impossible	Identification impossible
CAP-03-19	Identification impossible	Identification impossible
CAP-03-20	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
CAP-03-21	<i>Osmerus mordax</i>	Éperlan arc-en-ciel
CAP-04-1	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
CAP-04-2	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
CAP-04-3	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
CAP-04-4	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
CAP-04-5	Identification impossible	Identification impossible
CAP-04-6	<i>Sander canadensis</i>	Doré noir
CAP-04-7	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
CAP-04-8	<i>Sander canadensis</i>	Doré noir
CAP-04-9	<i>Catostomus catostomus</i>	Meunier rouge
CAP-04-10	<i>Sander canadensis</i>	Doré noir
CAP-04-11	<i>Sander canadensis</i>	Doré noir
CAP-04-12	<i>Sander canadensis</i>	Doré noir
CAP-04-13	<i>Sander canadensis</i>	Doré noir
CAP-04-14	<i>Morone americana</i>	Baret
CAP-04-15	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
CAP-04-16	<i>Sander canadensis</i>	Doré noir
CAP-04-17	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
CAP-04-18	<i>Sander canadensis</i>	Doré noir
CAP-05-1	<i>Morone americana</i>	Baret
CAP-05-2	<i>Sander canadensis</i>	Doré noir
CAP-05-3	<i>Morone americana</i>	Baret

Identifiant Englobe	Nom scientifique	Nom commun
CAP-05-4	<i>Sander canadensis</i>	Doré noir
CAP-05-5	<i>Alosa sapidissima</i>	Alose savoureuse
CAP-05-B-1	<i>Lumbricillus sp.</i>	Annélide (vers)
CAP-05-B-2	<i>Catostomus catostomus</i>	Meunier rouge
CAP-05-B-3	<i>Catostomus catostomus</i>	Meunier rouge
CAP-05-B-4	<i>Catostomus catostomus</i>	Meunier rouge
CAP-05-B-5	<i>Sander canadensis</i>	Doré noir
CAP-05-B-6	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
CAP-05-B-7	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
CAP-05-B-8	<i>Morone saxatilis</i>	Bar rayé
CAP-05-B-9	<i>Sander canadensis</i>	Doré noir
CAP-05-B-10	<i>Sander canadensis</i>	Doré noir
CAP-05-B-11	<i>Percina caprodes</i>	Fouille-roche zébré
CAP-05-B-12	<i>Sander vitreus</i>	Doré jaune
CAP-05-B-13	<i>Sander canadensis</i>	Doré noir
CAP-05-B-14	<i>Carpiodes cyprinus</i>	Couette
CAP-05-B-15	<i>Hiodon tergisus</i>	Laquaiche argentée
CAP-05-B-16	<i>Sander canadensis</i>	Doré noir
CAP-05-B-17	<i>Perca flavescens</i>	Perchaude
CAP-05-B-18	<i>Sander canadensis</i>	Doré noir
CAP-05-B-19	<i>Sander canadensis</i>	Doré noir
CAP-05-H-1	<i>Catostomus catostomus</i>	Meunier rouge
CAP-05-H-2	<i>Catostomus catostomus</i>	Meunier rouge
CAP-05-H-3	<i>Catostomus catostomus</i>	Meunier rouge

Références

- Aljanabi SM, Martinez I (1997) Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Research* 25 : 4692-4693.
- Aranishi F. Single fish egg DNA extraction for PCR amplification. *Conservation Genetics* 7(1):153-156
- Hebert, P. D. N., Ratnasingham, S., & Waard, J. (2003). Barcoding animal life : cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species Barcoding animal life : cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 270(figure 1), S96–S99.
- Miya M, Sato Y, Fukunaga T, Sado T, Poulsen JY, Sato K, Minamoto T, Yamamoto S, Yamanaka H, Araki H, Kondoh M, Iwasaki W (2015) MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: detection of more than 230 subtropical marine species. *R.Soc. Open sci.* 2(7).

Annexe 1 : Protocoles d'extraction de l'ADN des échantillons

Protocole d'extraction d'ADN par la méthode aux sels

Tiré de Salah M. Aljanabi & Icar Martinez, 1997 : Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Research*. 25(22): 4692-4693.

Tampon d'extraction salin :	250 ml
2 mM EDTA	1 ml de 0,5 M EDTA
10 mM Tris-HCl	2,5 ml de 1 M Tris-HCl (pH 8)
0.4 M NaCl	20 ml de 5 M NaCl
	226,5 ml dH ₂ O

SDS 20 % :

20 g de SDS + 80 ml de dH₂O, mélanger et ajuster le volume à 100 ml final

Solution saline 6 M :

Dissoudre 29 g de NaCl dans 100 ml dH₂O

Dissoudre 6.06 g de NaCl additionnel (on peut le faire chauffer au micro-ondes)

Procédure :

- 1- Couper des bouts de tissu d'environ 0,05 à 0,25 cm², nettoyer ses instruments entre chaque échantillon.
- 2- Déposer chaque échantillon dans un tube 1,5 ml pré identifiés.
- 3- Laisser les morceaux de tissu sécher (pour enlever tout l'éthanol résiduel) environ 30 minutes. Mettre une Kimtech sur les échantillons afin d'éviter la contamination durant le séchage.
- 4- Ajouter 440 µl de tampon d'extraction salin + 44 µl de SDS 20 % + 12 µl de Protéinase K (20 mg/ml).
- 5- Vortexer quelques secondes.
- 6- Incuber toute la nuit à 50 °C en mettant en mouvement à 250.
- 7- Si le tissu n'est pas suffisamment digéré, ajouter 20 µl de Protéinase K et laisser agir au minimum 2h à 50 °C en mettant en mouvement à 250 (étape à éviter).
- 8- Centrifuger quelques secondes pour faire descendre la buée qui se retrouve sur les parois des tubes.
- 9- Ajouter 4 µl de RNase A dans chaque tube. Vortexer et laisser agir 1 h à 20 °C (température ambiante).
- 10- Ajouter 300 µl de la solution saline 6 M.
- 11- Vortexer quelques secondes pour chaque tube.
- 12- Centrifuger à 10300 rpm pendant 30 minutes.
- 13- Transférer 600 µl de surnageant dans un nouveau tube 1,5 ml pré identifié.

- 14- Ajouter 600 µl isopropanol froid (conservé au congélateur –20°C).
- 15- Mélanger gentiment les tubes en les inversant quelques fois.
- 16- Incuber les tubes à -20°C pendant 1 heure ou toute la nuit (les échantillons peuvent rester dans l'isopropanol pour une longue période sans problème).
- 17- Centrifuger à 13000 rpm pendant 20 minutes.
- 18- Enlever le surnageant à la pipette.
- 19- Laissez sécher les tubes 10-15 minutes. Déposer une Kimtech dessus pour éviter la contamination.
- 20- Ajouter 500 µl d'éthanol 70 % froid (conserver au congélateur –20°C).
- 21- Centrifuger à 13000 rpm pendant 10 minutes.
- 22- Enlever le surnageant à la pipette.
- 23- Ajouter 500 µl d'éthanol 70 % froid (conserver au congélateur –20°C).
- 24- Centrifuger à 13000 rpm pendant 10 minutes.
- 25- Enlever le surnageant à la pipette.
- 26- Laisser le culot sécher 1 ou 2 heures à 60 °C ou toute la nuit à 37°C.
- 27- Dissoudre le culot dans 100 µl d'H₂O

Protocole d'extraction d'ADN d'œuf par la méthode au Chelex

Modifié du protocole d'Aranishi (2006) *Conservation Genetics* 7: 153-156;
Richlen et Barber (2005) *Mol. Ecol.* 5: 688-691;
Simon *et al.* (1992) *Appl. Env. Microbiol.* 58: 291-295.

Solutions à préparer

- Chelex 20%
 - o 2g chelex
 - o Ajuster à 10ml avec de l'eau ultrapure

Préparation

1. Partir le bain-marie à 98°C
2. Stériliser une paire de pinces et un micro-pilon bleu dans du DNAway et rincer dans de l'eau ultrapure (préparer un microtube de DNAway et un microtube d'eau ultrapure)
3. À l'aide des pinces, transférer un œuf sur un KimWipe pour retirer l'éthanol autant que possible.
4. Transférer l'œuf dans environ 200ul d'eau ultrapure (dans un microtube identifié)
5. Transférer l'œuf dans un microtube 1.5ml et laisser sécher quelques secondes avec le couvercle ouvert.

Extraction

1. Ajouter 200ul de Chelex 2%
2. Broyer l'œuf avec un micro-pilon bleu
3. Vortexer 15 secondes
4. Centrifuger 15 secondes à 13 000 RPM
5. Sceller le couvercle du tube à l'aide d'un ruban
6. Incuber dans le bain marie à 98° pendant 20 minutes
7. Vortexer 15 seconde
8. Centrifuger 5 minutes à 13 000 RPM
9. Transférer le surnageant (environ 80ul) dans un nouveau tube identifié
10. Entreposer à -20°C ou -80°C

Préparation de la PCR

- Amorce *Fish-COI* (F et R) à 10 uM
- AccustartII
- ADN à 10ng/ul

MasterMix pour 1 réaction (12.5 ul)

- Eau 3.25 ul
- Amorce F 0.5 ul
- Amorce R 0.5 ul
- AccustartII 6.25 ul
- ADN 2 ul

Conditions de PCR (températures et durées)

95°C 1:00	} 35 cycles
94°C 0:30	
55°C 0:30	
72°C 0:45	
72°C 5:00	

Annexe 2 : Protocole pour BARCODING

Étape 1. Extraction d'ADN des échantillons reçus

Étape 2. Quantification au Nanodrop

- Si plus haut que ~60 ng/ul, diluer à 10ng/ul

Étape 3. PCR Fish COI (poisson) – 650 bp

- Mettre 2ul d'ADN plus 10.5ul PCR mix

Réactifs	1Rx
AccustartII	6.25
Fish COI F (10 um)	0.5
Fish COI R (10 um)	0.5
Eau	3.25
Total :	10.5 par individu



PCR Protocol					
1	94°C	2 min (160 sec)			1.00
2	94°C	45 sec			1.00
3	53°C	45 sec			1.00
4	72°C	45 sec	2	34	1.00
5	72°C	5 min (300 sec)			1.00
6	12°C	Infinite (.)			1.00

Étape4. Faire un gel 1% avec une échelle (LDML)

- Mettre 4ul de réactif pcr et 4ul d'échelle LDML (Toujours mettre la même quantité de LDML que de réactif PCR)
- Estimer la concentration de la Pcr à l'aide de l'échelle LDML

Étape 5. Envoyer au séquençage Sanger (avec l'amorce Fish COI F)

