



HAL
open science

Programme de recherche et de conservation de l'esturgeon européen *Acipenser sturio*; bilan scientifique et technique 2007

Thierry Rouault, Patrick Chèvre, Eric Rochard, Philippe Jatteau, Louis
Jacobs, Paul Gonthier

► To cite this version:

Thierry Rouault, Patrick Chèvre, Eric Rochard, Philippe Jatteau, Louis Jacobs, et al.. Programme de recherche et de conservation de l'esturgeon européen *Acipenser sturio*; bilan scientifique et technique 2007. [Rapport de recherche] irstea. 2008, pp.80. hal-02596673

HAL Id: hal-02596673

<https://hal.inrae.fr/hal-02596673>

Submitted on 15 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Programme de recherche et de conservation de l'esturgeon européen *Acipenser sturio*

Bilan scientifique et technique 2007



Thierry ROUAULT, Patrick CHEVRE, Eric ROCHARD, Philippe JATTEAU, Louis JACOBS & Paul GONTHIER

Département Milieux aquatiques, qualité, rejets

Unité Ecosystèmes estuariens et poissons
migrateurs amphihalins

Groupement de Bordeaux, étude n° 127

50 Avenue de Verdun 33612 CESTAS Cedex

Novembre 2008

Références à mentionner :

Rouault T., Chèvre P., Rochard E., Jatteau P., Jacobs L. & Gonthier P., 2008. Programme de recherche et de conservation de l'esturgeon européen *Acipenser sturio* ; bilan scientifique et technique 2007. Cemagref de Bordeaux, étude n°127. 79 p.

Sauf autre spécification, le crédit photo est © Cemagref.

1	Travaux de conservation <i>ex-situ</i> de l'espèce <i>Acipenser sturio</i>.....	6
1.1	Etat et observations sur le stock acclimaté	6
1.2	Amélioration des équipements d'élevage	7
1.3	Main d'œuvre affectée à la conservation des esturgeons européens	8
2	Travaux de recherche sur le stock <i>ex-situ</i>	9
2.1	Action n°12 : Adaptation de la gestion des animaux au développement normal de leur ontogenèse.....	9
2.1.1	Introduction.....	9
2.1.2	Etat du stock <i>ex-situ</i> :.....	10
2.1.3	Rappel des conditions d'élevage testées :.....	11
2.1.4	Gestion des animaux.....	13
2.1.5	Conditions physico-chimiques d'élevage.....	14
2.1.6	Alimentation.....	14
2.1.7	Suivis de la maturation :	19
2.1.8	Conclusions :	20
2.2	Action n°14 : Mise en œuvre d'un protocole de préparation à la reproduction	22
2.2.1	Vernalisation :	22
2.2.2	Sélection des géniteurs :	22
2.2.3	Simulation de migration :	24
2.3	Action n°15 : Réalisation de reproduction artificielle en 2007	26
2.3.1	Sélection des géniteurs :	26
2.3.2	Protocole d'induction :	27
2.3.3	Résultats :	29
2.3.4	Conclusions.....	33
2.4	Action n°18 : Mise au point d'une méthode de marquage vital des alevins	34
2.4.1	Cadrage de l'expérimentation :	34
2.4.2	Application à <i>Acipenser sturio</i> :.....	37
2.5	Action n°19 : Production d'alevins	39
2.5.1	Conditions d'élevage :.....	39
2.5.2	Alimentation :	39
2.5.3	Résultats jusqu'à la date des lâchers en milieu naturel.....	41
2.6	Action n° 20 : Amélioration des techniques d'élevage larvaire et repeuplement ...	44
2.6.1	Introduction :.....	44
2.6.2	Travaux conduits et résultats généraux :	44
2.6.3	Descriptif des moyens techniques utilisés et effectifs conservés.....	45
2.6.4	Gestion sanitaire.....	46

2.6.5	Suivi des effectifs sur Alimentation naturelle :	47
2.6.6	Essais de Sevrage :.....	53
2.6.7	Marquages individuels.....	61
2.6.8	Conclusion et perspectives :	63
3	Travaux de recherche en milieu naturel et élaboration des plans de restauration.....	65
3.1	Action n° 5. Suivi de la population relictuelle	66
3.1.1	Suivi des captures accidentelles	66
3.2	Participation à la préparation d'un plan de conservation	68
3.2.1	Élaboration d'un plan d'action pour la sauvegarde et le rétablissement de l'esturgeon d'Europe <i>Acipenser sturio</i> (Convention de Berne).....	68
3.3	Action n°17 Définition des règles et pratiques d'alevinages.....	70
3.3.1	Déversement en milieu naturel de jeunes poissons issus de la reproduction contrôlée.....	70
3.3.2	Modalités pratiques.....	72

Introduction :

L'esturgeon européen *Acipenser sturio* est le plus grand poisson migrateur des eaux françaises et ouest européennes. Autrefois présent sur la plupart des grands fleuves européens et le long des côtes de l'ouest atlantique (Magnin, 1959), cette espèce est désormais gravement menacée de disparition et ne se reproduit plus qu'en France, dans les fleuves Garonne et Dordogne, la dernière reproduction naturelle connue datant de 1994 (Elie, 1998)

Malgré sa protection réglementaire en 1982 sur le territoire national et la protection de l'espèce sur son aire marine depuis 1996 par les conventions internationales, ses effectifs n'ont cessé de décroître et la population est à un niveau critique sur le seul bassin où l'espèce est encore présente (Lepage & Rochard, 1995).

Depuis les années 1975, où le Cemagref a commencé à étudier cette dernière population, différents programmes ont été mis en œuvre pour la sauvegarder puis la restaurer avec l'objectif d'une reconquête ultérieure des grands fleuves de son aire historique de présence.

Les programmes de suivi et de recherche conduits (dans le cadre du CPER Aquitaine puis des contrats LIFE I et LIFE II et du FEDER objectif 2 Aquitaine) ont permis des avancées importantes dans la connaissance de l'espèce et de ses exigences écologiques, de l'état de la population, des techniques d'acclimatation et de reproduction artificielle mises en œuvre pour permettre le renforcement de ses effectifs (Elie, 1998 ; Rochard, 2002).

Pour autant l'état de la population depuis la protection réglementaire de l'espèce et les difficultés d'application effectives de celle-ci ont rendu inéluctable la création d'un stock acclimaté de juvéniles d'esturgeon européen, pouvant permettre la production d'alevins de repeuplement sans être dépendants de captures de géniteurs sauvages (Williot et al., 2002).

Constitué progressivement depuis les années 1990, accueilli dans un bâtiment dédié de la station du Cemagref à Saint-Seurin sur l'Isle, ce stock sur lequel repose en grande partie l'avenir de l'espèce *Acipenser sturio* a bénéficié des programmes LIFE I et II pour sa constitution, mais a été poursuivi depuis dans l'attente d'un nouveau programme d'ampleur suffisante. La restauration de cette espèce nécessite en effet des financements continus pour sa conservation et la conduite de recherches sur sa croissance et sa maturation, compte tenu de la longueur du cycle de maturation (12 à 15 ans réciproquement pour les premières maturités espérées mâles et femelles). Un stock secondaire constitué à partir des seuls poissons nés à la station de Saint-Seurin en 1995 a également été constitué par précaution à l'Institut des eaux douces de Berlin (IGB).

Parallèlement, l'effort de suivi de la population naturelle, l'effort de sensibilisation des pêcheurs et des acteurs qui les environnent (services de contrôle, circuits de commercialisation), l'effort de surveillance, l'effort d'appropriation par le public de l'intérêt de sauvegarder une espèce symbolique des grands systèmes fluvio-estuariens, ont été maintenus pour préserver la population relictuelle et conserver la qualité des habitats nécessaires à l'espèce.

L'année 2007 a été caractérisée par 2 réussites importantes, donnant une nouvelle dimension au programme de restauration de cette espèce menacée :

- **le premier succès le 21/06/2007 d'une reproduction artificielle d'esturgeon européen à partir de géniteurs ayant réalisé leur croissance et leur maturation dans la station de Saint-Seurin sur l'Isle.** Ceci a permis un alevinage expérimental les 21 et 24/09/2007 de plus de 7000 jeunes esturgeons en Dordogne et Garonne, en présence de la Secrétaire d'Etat à l'Ecologie ainsi que des élus et partenaires de cette action.

- **L'approbation le 26/11/2007 du plan international de restauration de l'esturgeon *Acipenser sturio* par l'ensemble des parties de la convention de Berne** en conférence plénière à Strasbourg.

Ces 2 succès majeurs, validant les options retenues depuis 25 ans et confirmant l'engagement international pour la sauvegarde de cette espèce, ont été accompagnés par l'annonce de l'engagement de la France dans un « plan national de restauration de l'esturgeon d'Europe », inscrit dans la stratégie nationale pour la biodiversité (MEDD, 2005).

S'y ajoutent l'engagement de démarches visant à préserver, par la mise en œuvre du réseau Natura 2000 et la création d'Aires Marines Protégées, les habitats estuariens et marins jouant un rôle de corridors migratoires et d'habitats de croissance de cette espèce, indispensable à la réussite de tels programmes de restauration.

S'y ajoute enfin la confirmation de l'engagement d'acteurs essentiels, les professionnels de la pêche à travers l'action du CNPMM, les associations de protection de la nature à travers la mobilisation du WWF et de la Sepanso, les associations locales à travers le Collectif « Estuaire » et l'Association pour la défense de l'esturgeon sauvage (ADES), les Etablissements Publics Territoriaux de Bassin et les Collectivités régionales et Départementales, et le soutien de l'Agence de l'Eau Adour-Garonne sans laquelle la réussite de cette année aurait été difficile à assumer.

Le présent compte-rendu présente les résultats scientifiques et techniques des travaux conduits par le CEMAGREF en 2007, sur les différentes actions du Programme de recherche et de Conservation de l'esturgeon européen (Rochard et Williot coord. 2006) retenues cette année.

Sont présentés successivement:

1. les travaux de conservation ex-situ de l'espèce sur le site de Saint-Seurin sur l'Isle
2. les travaux de recherche menés sur le stock ex-situ sur le même site
3. les travaux de recherche sur le milieu naturel et l'élaboration du plan de restauration

1 Travaux de conservation *ex-situ* de l'espèce *Acipenser sturio*

Dans les années précédentes nous avons du faire face à des problèmes sérieux.

- Des problèmes de déformation sur les individus ayant été alimentés avec des aliments artificiels standards, conduisant après différents essais et analyses de la valeur nutritionnelle des aliments (Bergot, 2002) à un recours systématique à un aliment naturel unique, la crevette blanche d'estuaire *Palaemon longirostris*.
- Des problèmes de toxines bactériennes, pouvant être d'origine alimentaire, apparus dans les circuits fermés en eau douce imposant un passage en circuit ouvert des lots d'esturgeon élevés en eau douce.
- Une mortalité accidentelle de l'ensemble des individus des lots d'eau douce élevés en circuit ouvert à la station de St Seurin sur l'Isle, liée à une intoxication accidentelle au chlore, conduisant à la perte de 40 % des poissons conservés.
- Des mortalités par dépérissement et contamination de quelques poissons conservés à la station de Berlin et alimentés avec des larves de chironomes, conduisant à alimenter les individus restants avec des crevettes.
- Des mortalités à la suite de l'été 2006 avec l'enregistrement de températures élevées dans le bâtiment d'élevage ayant provoqué des mortalités et amaigrissements (3 poissons morts durant l'été 2006 et un poisson amaigri autopsié par le GDS de Mont de Marsan en mars 2007)

L'année 2007 elle-même a été marquée par la perte de quatre des poissons mûres, lors de la préparation des géniteurs et de la simulation de migration de reproduction, du fait du développement très brutal de mycoses (saprolégnoses) lors du passage en eau douce. Ce type de mortalité n'avait pas été rencontré dans le passé lors de tels changements de milieux d'élevage et reflète le peu d'expérience que nous avons sur certaines procédures que nous avons peu eu l'occasion de tester. L'ensemble de ces mortalités est intrinsèque au maintien en captivité sur le long terme de poissons vivant longtemps à l'écologie, à l'éthologie et à la physiologie mal connue.

1.1 Etat et observations sur le stock acclimaté

Depuis la perte des poissons maintenus en eau douce (novembre 2004), nous ne disposons plus que de poissons élevés en eau saumâtre (15 psu) ou marine (30 psu). Les analyses conduites sur les années précédentes (pesées individuelles trimestrielles pour les individus des trois lots) ont montré l'absence de différences entre ces deux niveaux de salinités sur la croissance lors de cette phase précédent la maturation des individus.

Le maintien en eau marine ayant un coût plus élevé, ces observations nous ont conduits à ne conserver depuis 2006 que des conditions d'élevage en eau saumâtre (15 psu).

La croissance en poids, analysée dans l'action n°12, maintient sa variabilité saisonnière avec des périodes d'amaigrissement estivales suivi de périodes de reprises hivernales. En première approche ce rythme est en opposition de phase avec ce qui a été observé en milieu naturel (Rochard, 1992). Ce qui conduit à interpréter les conditions estivales rencontrés par les poissons du stock *ex situ* comme un hiver physiologique. Les variations de croissance semblent moins marquées depuis la mise en place de la climatisation du bâtiment d'élevage, pour réduire les risques de mortalité et les arrêts d'alimentation lors des pointes de température estivales.

L'état détaillé du stock est présenté en annexe I. Les poids comme les croissances individuelles montrent une grande variabilité. Si le taux de croissance pondérale moyen est de 3.3 % sur les plus grands poissons, certains peuvent gagner jusqu'à 30 % de leur poids tandis que d'autres peuvent en perdre 15 % en un an. Ces variations peuvent parfois s'expliquer par l'histoire, l'état ou la gamétogenèse du poisson, mais aussi demeurer inexpliquées.

Tableau 1 Caractéristiques au 15/11/2007 des poissons nés avant 2007 constituant les deux stocks ex situ européens (St Seurin sur l'Isle et Berlin)

Origine	Année de naissance	Nombre (sex-ratio)	Poids (min-max) en kg
Stock français (St Seurin sur Isle)			
Milieu naturel	1970-72	1 (mâle)	36.6
"	1984-1989	7 (1 femelle, 6 mâles)	10.5 - 22.4
"	1994 estimé	21 (12 femelles, 6 mâles, 3 indéterminés)	4.0 - 20.2
"	1995 estimé	8 (4 femelles, 4 mâles)	13.0 - 24.6
	?	3 (1 femelle, 1 mâle, 1 indéterminé)	20.3 - 25.5
Reproduction artificielle (frères et sœurs)	1995	38	5.4 - 17.7 (en moyenne 10.8)
Stock allemand (Berlin)			
Reproduction artificielle (frères et sœurs)	1995	17 (10 mâles, 5 femelles, 2 indéterminés)	4,2 - 10,9 (données 2006)

Deux captures accidentelles d'esturgeon européen ont permis un renforcement du stock de la station de Saint Seurin sur l'Isle, un poisson mâle (PACO) capturé le 9/05/2007 par un pêcheur de Dordogne et un poisson de sexe non déterminé capturé le 17/02/2007 par un pêcheur du Croisic.

Enfin la réussite d'une reproduction artificielle en 2007 a conduit à conserver sur la station de Saint-Seurin 770 individus des quelques 7500 alevins viables obtenus. Un tiers de ces individus seront gérés de façon conservatoire pour conforter le stock ex-situ et deux tiers pourront participer à des essais d'élevage visant à améliorer les techniques. Un petit lot prévu pour une expérimentation de télémétrie en milieu naturel, visant à mieux connaître les habitats fréquentés, a également été conservé sur la station pendant presque un an.

1.2 Amélioration des équipements d'élevage

Les travaux destinés à améliorer les conditions de conservation et de simulation de migration génésique de l'esturgeon européen ont porté sur :

- a) les conditions de vie offertes aux poissons. Mise en service début 2007 de trois circuits fermés composés de bassins circulaires profonds (30 m³ pour 2 m de

profondeur) et de l'ensemble de leurs équipements d'alimentation en eau, recirculation et filtration (pompes, filtres mécanique et biologique, branchements hydrauliques et électriques, sécurités), désormais fonctionnels ;

- b) la sécurité pour la manipulation des poissons et l'entretien des bassins. Equipement du bâtiment d'élevage d'échelles et de rambardes inox en toute sécurité ;
- c) l'installation d'une réserve d'eau de mer extérieure ;
- d) les conditions de travail. Achat d'une table inox pour intervention sur les poissons et d'un chariot inox pour l'entretien des bassins.

Le montage des équipements a pour l'essentiel été réalisé en régie par le personnel de la station.

1.3 Main d'œuvre affectée à la conservation des esturgeons européens

Le personnel affecté à cette conservation a été constitué en 2007 par :

- un responsable de station expérimentale, ingénieur de recherche expérimenté, pour 50 % de son temps
- deux techniciens supérieurs (un électromécanicien et un technicien aquacole), pour 70 % de leur temps
- un agent technique pour 70 % de son temps
- un technicien spécialisé en électrotechnique pour 4 mois en CDD

2 Travaux de recherche sur le stock ex-situ

Les actions de recherche sont numérotées selon le programme pluriannuel d'actions de recherche proposées pour contribuer au Plan international de restauration de l'esturgeon européen *Acipenser sturio* (Rochard & Williot, (coord.) 2006)

2.1 Action n°12 : Adaptation de la gestion des animaux au développement normal de leur ontogenèse

La croissance en poids et en longueur des poissons dans les différentes conditions d'élevage est suivie par des mesures trimestrielles.

Objectifs : Fournir un ensemble de données nécessaires à la formulation du meilleur diagnostic possible quant au bon développement de l'ontogenèse des animaux, c'est à dire durant la période de développement entre l'œuf et l'adulte.

Intérêt : Adapter et améliorer les conditions d'élevage et de gestion afin que l'élaboration des futurs produits sexuels se déroule au mieux.

2.1.1 Introduction

La dernière reproduction naturelle connue, d'*Acipenser sturio* date de 1994. Malgré sa protection réglementaire en 1982 sur le territoire national et la protection de l'espèce sur son aire marine depuis 1996 par les conventions internationales, les effectifs de sa population n'ont cessé de décroître pour atteindre un niveau critique sur le seul bassin où l'espèce est encore présente.

Dans ces conditions, la stratégie retenue dans les plans de conservation européens et français pour assurer la conservation de l'espèce passe par la création d'un stock acclimaté de géniteurs (stock ex situ) pouvant permettre, à terme, la production d'alevins de repeuplement sans être dépendant de captures accidentelles de géniteurs sauvages.

Constitué progressivement depuis les années 1990, accueilli dans un bâtiment dédié de la station du Cemagref à Saint-Seurin sur l'Isle, ce stock sur lequel repose quasiment l'avenir de l'espèce *Acipenser sturio* a bénéficié des programmes LIFE I pour sa constitution, mais nécessite des financements pérennes pour sa conservation et la poursuite de recherches pour lever certains verrous et optimiser les procédures.

Les difficultés sont grandes car le nombre d'animaux est faible, leur variabilité génétique l'est encore plus (2 groupes d'animaux sont frères-sœurs), leur puberté est tardive et l'intervalle entre deux reproductions pourrait être de plusieurs années pour les femelles. C'est un grand migrateur effectuant sa phase de croissance principale en eau marine. Enfin il n'existait aucune donnée de référence tant zootechnique que biologique qui puisse nous aider à assurer leur survie, leur croissance et à terme les amener à développer une gamétogenèse normale. En particulier, même si comme pour les autres poissons migrateurs potamotoques¹ il est vraisemblable que l'espèce puisse réaliser son cycle en eau douce il n'y a aucune certitude. En l'absence de toute référence, un mode d'investigation prudent a été retenu, il tient compte à la fois des rares informations publiées sur d'autres espèces, de l'écologie et de la biologie de l'espèce (amphihaline, puberté tardive, ...) ainsi que du faible nombre d'individus.

¹ Potamotoques : se dit des poissons migrateurs se reproduisant en eau douce.

Trois grands types de questions se posent, elles concernent les structures d'élevage, les conditions environnementales (salinité, température, nyctémère en particulier) et l'alimentation.

Compte tenu de la longueur du cycle biologique de l'espèce, les résultats obtenus en 2007 résultent des conditions offertes aux animaux durant les périodes précédentes et seront interprétées comme telles.

2.1.2 Etat du stock ex-situ :

La constitution initiale du stock a été très opportuniste (géniteurs sauvages capturés accidentellement, immatures sauvages capturés par nos soins lors de leur séjour en estuaire). Actuellement toute nouvelle entrée dans le stock est réfléchiée de façon à maximiser la variabilité génétique et optimiser la structure en âge et le sex-ratio.

Les poissons ont une origine sauvage ou proviennent des reproductions artificielles effectuées en 1995 et 2007 (Table 1). Parmi les « sauvages » on trouve 3 groupes de poissons différenciés en fonction de leur âge au moment de leur capture et donc des groupes sur lesquels nos conditions d'acclimatation et de stabulation peuvent avoir des incidences différentes. Parmi les poissons issus de reproductions artificielles, 2 groupes sont différenciés par leur date de naissance et donc leur durée et leur conditions d'élevage.

Tableau 2. Répartition synthétique des individus en élevage à la station Cemagref-CREA.

Origine	Etat de maturation lors de la capture	Année de naissance	Nombre	Sex-ratio	Groupe
Sauvage	Géniteurs	1970-1995	4	4 mâles	G1
Sauvage	Gros immatures	1988-1995	21	10 mâles, 10 femelles, 1 indéterminé	G2
Sauvage	Juvéniles	1994	16	5 mâles, 8 femelles, 3 indéterminés	G3
Reproduction artificielle		1995	38	indéterminés	G4
Reproduction artificielle		2007	809	Indéterminés	G5

Le premier groupe (G1) correspond à des poissons adultes capturés accidentellement par des pêcheurs lors de leurs migrations de reproduction. Tout ces poissons sont des mâles ; au cours des quinze dernières années une seule femelle a été récupérée vivante, en 1995, ce qui a permis la reproduction artificielle de cette année là. Malheureusement, après 2 ans de captivité, cette femelle est morte alors qu'une nouvelle maturation s'amorçait.

Le groupe G2 correspond à des animaux immatures, âgés de 6 à 8 ans, capturés par des pêcheurs ou le navire du Cemagref, l'Esturial, dans la Gironde, entre les années 1993-95 puis 2001-2003 pour constituer le stock de futurs géniteurs. Le sex-ratio de ce groupe est équilibré.

Le groupe G3, d'origine sauvage également correspond à des animaux issus de la dernière reproduction naturelle connue, en 1994. Ils ont été capturés début 95 au stade juvénile et pesaient alors quelques dizaines de grammes. La plupart de ces poissons ont pu être sexés et le sex-ratio est équilibré.

Le groupe G4 est issu de la reproduction contrôlée réalisée en 1995 à partir de géniteurs sauvages. Le sexage de cette cohorte par dosage hormonal est en cours et devrait être connu d'ici quelques mois.

Le groupe G5 correspond à la reproduction artificielle de 2007. Il est issu non plus de géniteurs sauvages mais d'une femelle et d'un mâle de la cohorte 94 (Francine et Emile) capturés lors de leur première année (G3). Une partie des ovules récoltés ont également été fécondés par du sperme d'un poisson, du groupe G1, capturé mature en 1995 (Justin). Le sexage de ces jeunes poissons n'est pas encore possible

Les caractéristiques du stock des animaux détenus à la station de St Seurin (fin 2007) sont donnés en annexe 1 .

2.1.3 Rappel des conditions d'élevage testées :

2.1.3.1 La structure et les bacs :

Les premières années, compte tenu de la grande taille que l'esturgeon peut atteindre, nous avons testé, pour une hauteur de 1 m, différents diamètres (3, 4 et 6m) pour retenir la taille intermédiaire de 4 m. Ce diamètre permet des mouvements corrects des animaux tout en limitant les blessures que les poissons s'infligeaient dans les bacs plus vastes. Ceci a conduit à déplacer une partie des individus dans trois bassins profonds nouvellement construits. A noter toutefois que la gestion des poissons dans ces bacs profonds est plus contraignante : purge des restes et nettoyage des bassins, nécessité de passerelles pour accéder aux bassins, nécessité de mobiliser une équipe de plongeurs habilités à chaque fois que nous avons besoin de capturer les poissons (pesées, prélèvements, changement de bac, ...).

Les poissons (Figure 1) sont regroupés dans un bâtiment indépendant (Figure 2) dans lequel est installée une batterie de circuits fermés individuels avec des bacs de 4m de diamètre pour 1m (Figure 3) ou 2m (Figure 4) de profondeur. Chaque circuit comporte un bac d'élevage, un filtre mécanique, un filtre biologique, un traitement aux UV et une colonne d'oxygénation. L'alimentation en eau se fait verticalement en périphérie, un déflecteur, à l'extrémité de la colonne d'oxygénation, génère un faible courant dans le bac, l'évacuation est centrale sur le fond par une grille de ~40cm de côté. Les bacs en polyester gris sont tous surmontés d'un grillage plastique sur une hauteur de 50cm pour éviter les sauts à l'extérieur. Un hublot, pour l'observation, est aménagé dans la partie inférieure des bacs. Des évacuations latérales ont également été aménagées au cas où l'évacuation centrale serait obstruée.



Figure 1. Quelques gros individus *A. sturio* photographiés à travers le hublot d'un bac de 2m de profondeur, © Cemagref

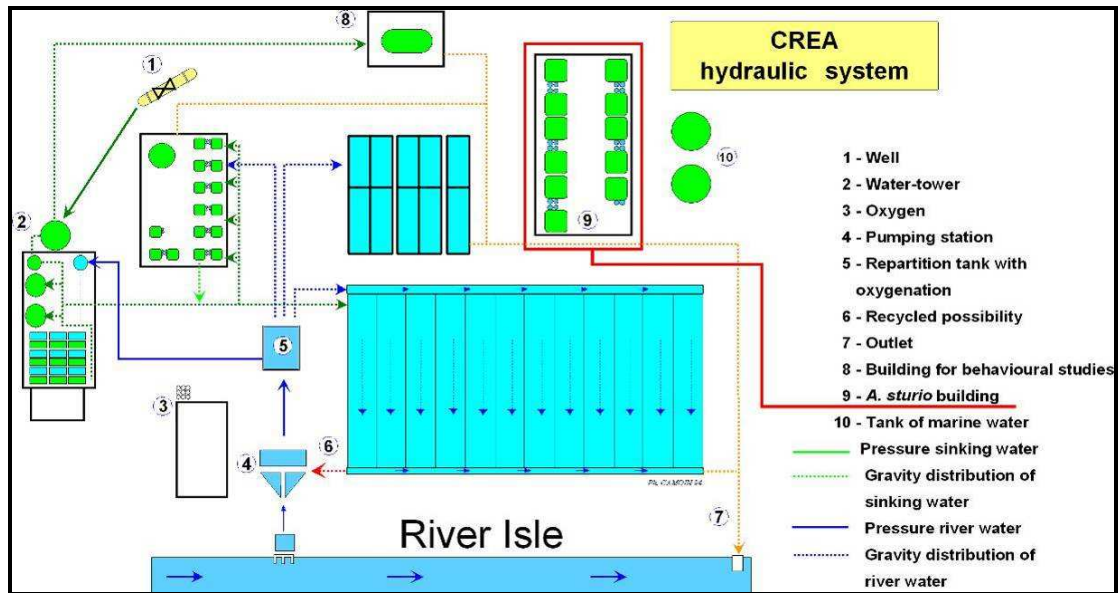


Figure 2. Schéma hydraulique de la station Cemagref CREA à Saint Seurin sur Isle. La partie entourée de rouge correspond au bâtiment dédié à *Acipenser sturio*. Chaque symbole sub-carré vert correspond à un circuit fermé. (Schéma Ph. Camoin).



Figure 3. Vues extérieures des bacs d'élevage de 1m de profondeur, © Cemagref.



Figure 4. Vues extérieures des bacs d'élevage de 2m de haut, © Cemagref.

2.1.3.2 Influence de la hauteur d'eau du bac d'élevage sur la croissance

Pour ce test, nous avons utilisé des gros animaux, du groupe 2, conservés en eau saumâtre dans 2 bacs, l'un de 1m de hauteur d'eau et l'autre de 2m.

Le critère choisi est le gain ou la perte de poids à la suite d'un transfert de poissons de l'un des 2 bacs vers l'autre et entre deux pesées consécutives. La densité maximum d'élevage que nous nous autorisons est de 10 kg/m².

11 transferts ont été réalisés dans le sens 1m vers 2m et 8 transferts de 2m vers 1m.

12 poissons ont été utilisés et ont donné lieu à 22 transferts dont 1 n'a entraîné ni gain ni perte de poids.

Si l'on en juge par la croissance, les poissons sont statistiquement mieux dans un bac de 2m. Dans le détail pour un poisson sur 12 c'est indifférent et pour un autre individu tout changement induit une perte de poids. Sachant que la croissance n'est pas régulière, il serait souhaitable de reprendre ce travail sur une période plus longue.

2.1.4 Gestion des animaux

Les animaux sont tous marqués individuellement à la fois avec une marque magnétique (Pit tag) en sous cutanée et par un disque Petersen attaché à la base de la nageoire dorsale.

Des contrôles ont lieu tous les trimestres. La capture des poissons est réalisée à l'aide d'une grande épuisette pour les plus petits individus ou d'une sorte de grande chaussette en filet pour les plus gros. Pour les bacs de 2m de profondeur, cette capture est réalisée par un plongeur en scaphandre autonome.

Les poissons sont ensuite anesthésiés (40 mg/l d'EugénoI) avant d'être placés sur une table d'observation (Figure 5). Un tuyau, inséré dans la bouche, permet d'assurer un renouvellement d'eau dans la cavité buccale et les ouïes. Les marques (interne et externe) sont vérifiées, changées si nécessaire. Les éventuelles blessures cutanées et la zone de prélèvement sont désinfectées avec un produit vétérinaire à base d'iode (vétédine).

En fonction des mesures biométriques et de leurs évolutions depuis le contrôle précédent, un prélèvement de gonade peut être pratiqué par biopsie sur les animaux les plus âgés pour estimer la maturité sexuelle (Figure 6). L'ensemble des animaux fait l'objet d'un prélèvement sanguin, pour dosages hormonaux, par ponction dans la veine caudale juste à l'arrière de la nageoire anale (Figure 6).

Pour les animaux d'origine sauvage, lors du premier contrôle un fragment du premier rayon de la nageoire pectorale est prélevé pour l'estimation de l'âge du poisson (Rochard & Jatteau, 1991) et un prélèvement de ~1cm² de tissus de nageoire pour la caractérisation génétique de l'individu.



Figure 5. A gauche cuve pour l'anesthésie ; à droite pose d'une marque de type Petersen sur un individu anesthésié dans la table en V, © Cemagref.

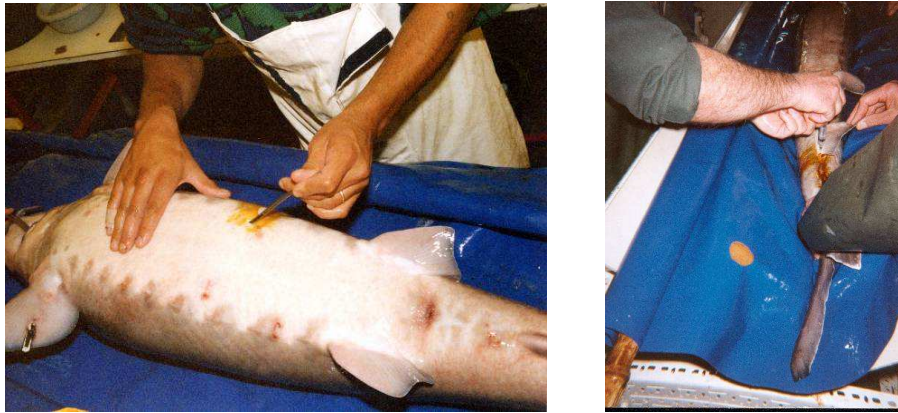


Figure 6. A gauche, contrôle de la maturation sexuelle (femelle *A. baerii*) à l'aide d'un trocart et d'une sonde cannelée. © Cemagref. A droite, prise de sang (photo B. Davail)

2.1.5 Conditions physico-chimiques d'élevage.

Les paramètres standards : température de l'eau, pH, oxygène dissous et salinité sont mesurés chaque jour.

Les filtres mécaniques sont nettoyés chaque semaine. Les formes de l'azote sont mesurés chaque jour durant la phase de lancement des filtres biologiques puis, chaque mois en routine.

Les variations saisonnières de température, facteur essentiel au bon déroulement des phases finales de la gamétogenèse, étaient, jusqu'en 2006, obtenue naturellement, entre 10 et 25°C, l'isolation du bâtiment permettant d'atténuer les extrêmes hivernaux et estivaux. Suite à la canicule de 2006 qui a entraîné des températures de l'ordre de 29-30°C et la perte de quatre poissons, une thermorégulation a été installée permettant de maintenir la température entre 12°C l'hiver et 18°C l'été ; ces températures correspondent vraisemblablement à celles des zones que fréquente l'esturgeon lors de sa phase marine.

Pour se rapprocher des conditions naturelles, la luminosité est réduite au alentour de 50 lux et la photopériode est couplée au cycle saisonnier par une cellule photoélectrique placée à l'extérieur.

2.1.5.1 Influence de la salinité sur la croissance et la maturation

Entre 2001 et 2004, l'influence de la salinité sur la croissance a été testée sur des animaux des groupes G3 et G4. Trois niveaux de salinité ont été retenus : 0, 15 et 30 psu. Fin 2004, suite à une pollution, l'ensemble des individus du lot conservé en eau douce à St Seurin est mort, entraînant l'arrêt de l'expérimentation. A cette date nous pouvions cependant conclure que la salinité n'avait pas d'incidence sur la croissance. L'incidence sur la maturation ou même sur la croissance sur une période plus longue reste une interrogation. Les animaux qui nous restaient n'étaient pas en nombre suffisant et avaient un passé, en eau saumâtre ou salée trop important pour reprendre cette expérimentation. Il faudra l'envisager avec une future cohorte. Entre eau saumâtre et salée, la différence n'étant pas significative, il fut décidé, en 2006, après avoir fait des prélèvements plasmatiques, pour estimer le niveau de maturation, de transférer la totalité du stock restant en eau saumâtre à 15 psu.

2.1.6 Alimentation

Les poissons sont nourris 2 fois par jour *ad libitum*, avec des crevettes congelées, seule nourriture que les poissons d'origine sauvage acceptent actuellement. Deux espèces sont principalement utilisées, la crevette grise (*Crangon crangon*) et la crevette blanche d'estuaire (*Palaemon longirostris*) ; en cas de rupture de stock en raison de disponibilités insuffisantes,

des gambas sont parfois utilisées, coupées en tronçons ou broyées. La quantité distribuée tient compte de l'appétit des animaux. Les restes et les aliments non consommés sont siphonnés et pesés chaque jour. Un protocole standard permet d'adapter la quantité à distribuer.

Une partie des animaux, issus de reproduction artificielle, de 1995, ont pu être accoutumés sur aliment artificiel. Malheureusement, après 17 mois d'élevage des déformations squelettiques sont apparues progressivement sur ce lot d'animaux, touchant à ce jour près de 75 % des individus. Des études faites en collaboration avec l'INRA n'ont pas permis d'expliquer les causes de ces déformations (Bergot, 2002).

Etant donné l'extrême vulnérabilité de notre stock, les poissons survivants ont de nouveau été nourris avec une alimentation naturelle à base de crevettes.

La reproduction artificielle de 2007 a permis de reprendre, sur une partie des alevins conservés, de nouvelles expérimentations de sevrage sur aliment sec. Les résultats sont développés dans les actions 19 et 20.

2.1.6.1 Incidence des conditions de capture

Les courbes de croissance des 2 poissons présentés dans la **Erreur ! Source du renvoi introuvable.** illustrent l'incidence des conditions de capture sur la suite de l'histoire des individus.

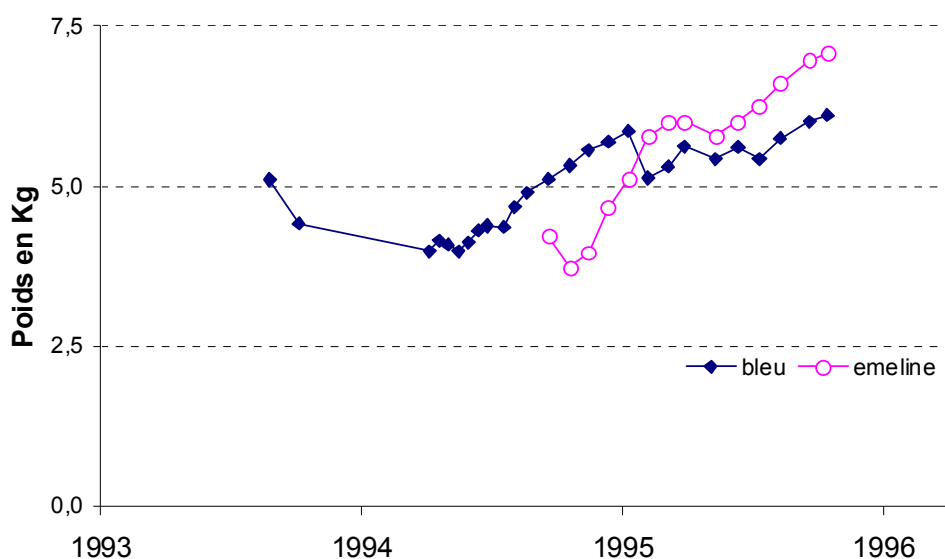


Figure 7 Exemples d'adaptation à la captivité

Le premier poisson, « Bleu » a été capturé en 1993, au filet maillant, par un pêcheur puis maintenu par une corde passée par les ouïes, jusqu'à ce que le Cemagref le prenne en charge. La première prise d'aliment s'est faite après plus de six mois de captivité et la reprise du poids initial après 13 mois. La difficile acclimatation de « Bleu » a des conséquences encore aujourd'hui, ce poisson présentant des performances de croissance moindre que les autres.

Le second poisson, « Emeline », capturé par le navire du Cemagref, l'Esturial, puis placé immédiatement en vivier oxygéné, à bord, a repris son alimentation après quelques jours et a retrouvé son poids de capture après 2 mois.

Ceci démontre à la fois la robustesse et la fragilité d'*A. sturio*. En cas de capture fortuite par les pêcheurs, le fait de relâcher le poisson immédiatement lui donne de bonnes chances de survie. En cas de capture dirigée, pour augmenter le stock ou simplement durant la gestion

en captivité les poissons doivent être manipulés avec d'extrêmes précautions pour en minimiser l'incidence.

L'analyse des résultats d'acclimatation nous a amené à améliorer considérablement nos techniques de manipulation et de transport : délais de prise en charge raccourcis par le maintien, durant la période de capture éventuelle de géniteurs, d'une équipe prête à intervenir avec un fourgon spécialement aménagé avec une cuve construite à la mesure des animaux, transport effectué sous oxygène, à la salinité de capture....

2.1.6.2 Variations de croissance individuelle

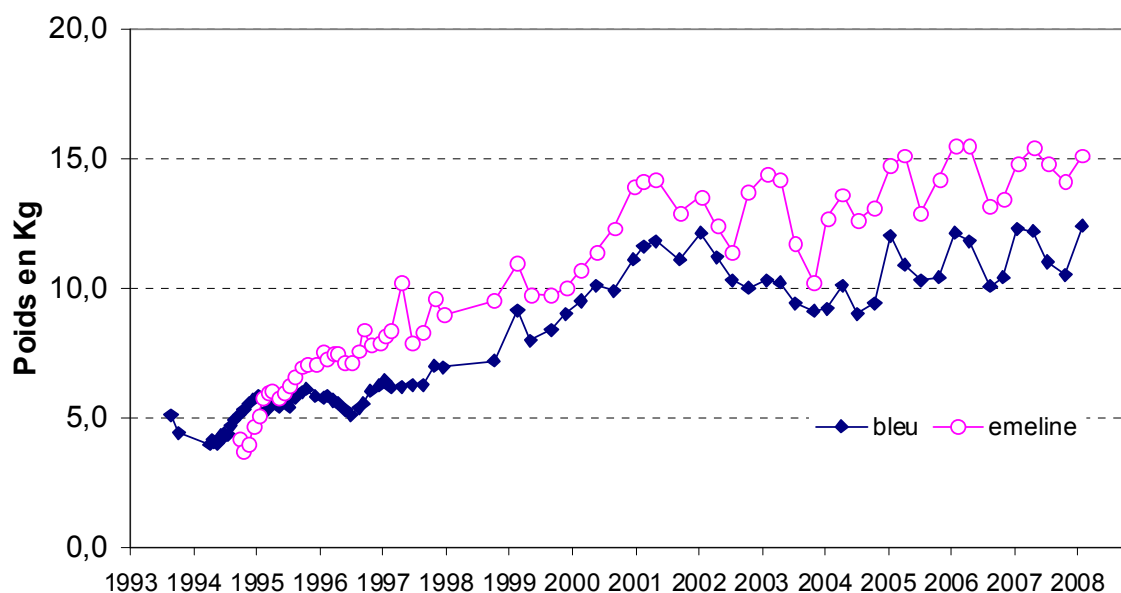


Figure 8 Exemple de croissance de poissons du groupe 2

Les courbes de croissance présentées sur la Figure 8 correspondent à des poissons mâles, parmi les plus anciens en captivité, âgés de 5 et 7 ans au moment de leur capture. Elles montrent bien les irrégularités de croissance, en dents de scie, ce que nous retrouvons sur l'ensemble du cheptel et aussi clairement l'apparition d'un cycle annuel, à partir de 2001 avec un pic entre février et mai de chaque année puis une perte de poids durant la fin de printemps et l'été.

Plusieurs hypothèses peuvent expliquer ces cycles : le premier serait une maturation, avec développement puis régression de la gonade, accompagnée peut-être par un arrêt plus ou moins long d'alimentation, l'âge des poissons peut le laisser supposer mais le suivi, tel que nous le pratiquons, au début des années 2000, ne l'a pas mis en évidence. Ceci nécessite de mettre en place d'autres techniques rapidement

La deuxième hypothèse était un dépassement, durant cette période, de la température favorable à l'élevage. La mise en place depuis fin 2006 d'une thermorégulation sur le bâtiment d'élevage a, semble-t-il atténué l'amplitude du cycle mais ne l'a pas effacé.

2.1.6.3 Suivis de croissance par groupes de poissons

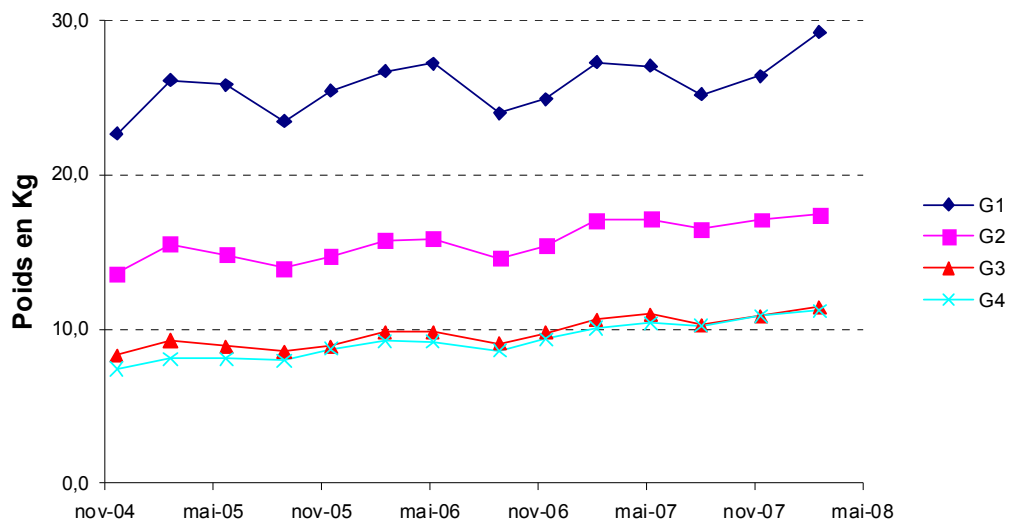


Figure 9 Croissance moyenne des différents groupes de poissons au cours des dernières années

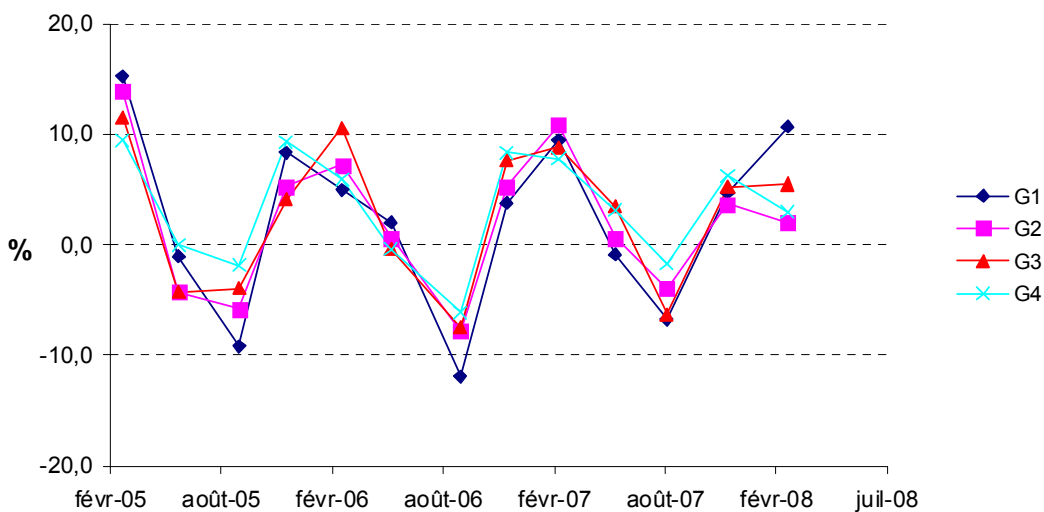


Figure 10 Variation de croissance (en %) des différents groupes de poissons au cours des dernières années

Un cycle annuel est nettement visible, quel que soit le groupe de poisson. La mise en place d'une thermorégulation, en novembre 2006, a diminué les risques de mortalité liés aux fortes chaleurs estivales. Elle semble également avoir permis une perte de poids moins marquée que les années précédentes.

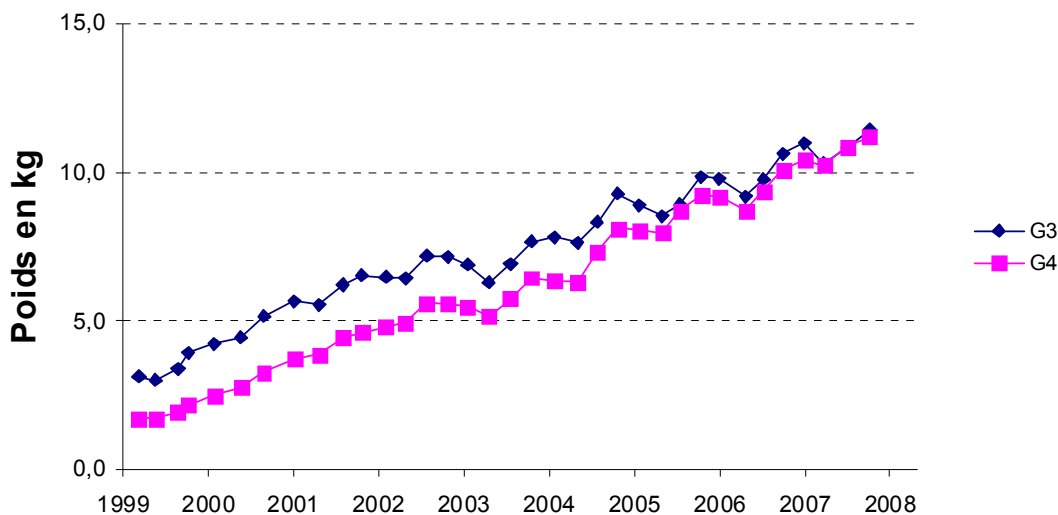


Figure 11 Evolution de la croissance en poids des groupes G3 et G4

La Figure 11 illustre la croissance moyenne des groupes G3 et G4. Ces deux groupes correspondent aux poissons des cohortes 1994 et 1995 que l'on peut considérer comme ayant fait tout leur cycle en captivité puisque les premiers ont été capturés à l'âge de quelques mois, pesant quelques centaines de grammes et que les seconds sont issus de la reproduction artificielle de 1995, à partir de géniteurs sauvages.

Les courbes sont très voisines, la différence entre les 2 cohortes tendant à s'estomper.

A partir de 2002 pour G3, 2003 pour G4 l'apparition d'un cycle annuel rappelle les observations faites sur les animaux plus âgés, ce qui, si ce phénomène est à rattacher à des premières maturations semblerait indiquer un raccourcissement du cycle possible en captivité avec des premières maturations vers l'âge de 9 ans.

2.1.6.4 Relation température-croissance :

Dans nos conditions d'élevage on observe que la croissance reprend lorsque la température décroît (Figure 12) ce qui pourrait laisser penser que cette espèce n'a pas une physiologie adaptée aux hautes températures comme l'espèce proche, nord américaine (*Acipenser oxyrinchus*), pour laquelle 15°C semble correspondre à l'optimum de croissance.

Cette constatation est cependant en opposition avec les données enregistrées par le Cemagref sur la population sauvage, dans la Gironde, durant la période 1995-2003. Les cohortes 94-95 qui fréquentaient encore l'estuaire à cette période présentaient des croissances maximales durant les mois d'été alors que la température de l'eau dépasse les 20°C.

Les préférences thermiques sont donc encore à rechercher.

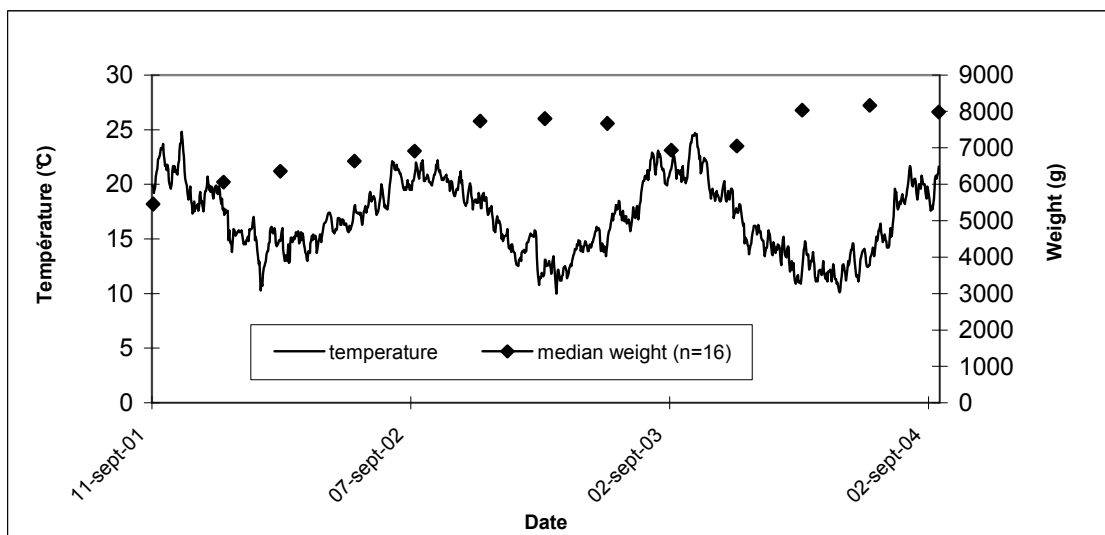


Figure 12 Evolution de la croissance en poids et de la température d'eau (eau saumâtre) chez les gros juvéniles de *A.sturio*

2.1.7 Suivis de la maturation :

2.1.7.1 Suivis endocriniens

Pour ce suivi, 2 ml de sang sont prélevés dans la veine caudale, immédiatement en arrière de la nageoire annale, placés dans un tube hépariné et centrifugés à 8000tr/mn durant 8mn ; le plasma est ensuite congelé pour analyses ultérieures.

L'approche envisagée avec la collaboration de l'Université de Bordeaux 1 est une approche classique consistant en une description simultanée des profils endocriniens relatifs à la gamétogenèse, au contrôle de l'osmorégulation et à la croissance d'une part et des tissus concernés d'autre part, comme réalisé par exemple chez *A.baerii* pour la gamétogenèse.

Le contrôle hormonal de la fonction osmorégulatrice des esturgeons étant quasiment inconnu, dans un premier temps, les hormones stéroïdiennes ont fait l'objet d'une attention particulière tant leur rôle est important dans la gamétogenèse.

La première étape consistait à adapter les techniques mises au point sur le modèle *A. baerii* à l'esturgeon européen.

Pour les animaux immatures la 11-cétotestostérone a été utilisée pour identifier les sexes et la vitellogénine qui constitue les réserves de l'œuf en vue de pouvoir sélectionner, sans biopsie traumatisante, les animaux susceptibles de se reproduire.

Les prélèvements sanguins maintenant généralisés à tout le cheptel captif n'ont pas encore pu être analysés dans leur ensemble mais les résultats, obtenus sur les animaux nés en 1994, qui arrivent maintenant à maturité, devraient, dès 2008, pouvoir être utilisés comme un des outils de sélection des géniteurs.

Tableau 3 Résultats des dosages hormonaux réalisés sur les individus de la cohorte 94 (M : mâle, F : femelle)

Appellation	N°	Sexe déduit des taux d'hormones	Stade de développement de la gonade
Alice	950208	F	+++
Bruno	950209	M	++

Appellation	N°	Sexe déduit des taux d'hormones	Stade de développement de la gonade
Carol	950210	M	++
David	950211	M	+
Emile	950504	M	+
Francine	951001	F	+
Georgina	951102	F	++
Henriette	951202	F	+
Isabeau	951301	M	+
Jeannette	951401	F	+++
Karine	951402	F	+
Lucette	951501	F	+
Martine	951502	F	-
Norman	951503	M	+++
Odile	951504	F	+
Pascal	951601	M	+++

2.1.8 Conclusions :

Nous avons montré que dans nos conditions expérimentales (structures, animaux et gestion), la majorité des animaux les plus âgés ont présenté une meilleure croissance dans les 3 mois qui ont suivi le transfert d'un bac de 1m vers un bac de 2m d'eau. Sachant que la croissance est irrégulière (probablement saisonnière) et que les animaux expérimentaux pouvaient être en pleine gamétogenèse, il serait judicieux de poursuivre ce travail sur une durée plus longue et avec des juvéniles afin de séparer les effets du rythme de croissance somatique et de la hauteur d'eau. Cependant, eu égard à l'écologie de l'espèce (animaux benthiques sur le proche plateau continental) les présents résultats semblent vraisemblables.

La croissance ne semble pas avoir été influencée par les divers niveaux de salinité durant la période expérimentale. Une inconnue demeure, ce sont les conséquences sur la maturation sexuelle des divers niveaux de salinité puisque depuis l'accident de fin 2004, le lot eau douce n'existe plus.

L'expérimentation serait à reprendre sur la cohorte 2007.

La conduite de gestion d'un stock ex situ ne se limite pas aux aspects ci-dessus, même si ce sont des points clés. D'autres questions devront être abordées telles que la caractérisation de la variabilité génétique du stock, la conservation de sperme, les méthodes de gestion à long terme du stock.

Le comportement des individus en captivité n'a fait l'objet d'aucune investigation particulière, même s'il s'agit d'animaux "peu démonstratifs" cela n'exclut pas des comportements agonistiques (dominance, territorialité, ...).

Certaines expérimentations entraînant potentiellement des risques pour la santé des animaux devront être reprises, notamment sur la nutrition à base d'aliments industriels mais étant donné le statut d'espèce protégée d'*A. sturio*, les protocoles devront être explicitement acceptés par le comité de pilotage, selon une procédure à mettre en place.

2.2 Action n°14 : Mise en œuvre d'un protocole de préparation à la reproduction

Objectifs :

Identifier les conditions nécessaires à la préparation finale des géniteurs à la reproduction.

Intérêt :

Mettre au point une séquence de conditions environnementales (température, salinité, alimentation, ...) qui permette d'amener les individus en bonne condition à la reproduction.

Cette action se rapporte aux quelques mois précédant une reproduction potentielle, et correspond aux phases finales de la gamétogenèse. Elle comporte trois étapes qui se succèdent : la vernalisation, la sélection des géniteurs et la simulation de migration.

2.2.1 Vernalisation :

La majorité des espèces d'esturgeons se reproduisent entre la fin de l'hiver et le début de l'été et il semble que les géniteurs ne peuvent fournir des gamètes de bonne qualité en quantité qu'à la suite d'une vernalisation .

Jusqu'en fin d'année 2006, dans notre bâtiment dédié à l'acclimatation des *A. sturio*, les pompes de circulation des installations élevaient la température et nous étions contraints d'ouvrir les portes pour maintenir les températures hivernales suffisamment basses. Les investissements réalisés, en novembre 2006, pour la thermorégulation du bâtiment permettent maintenant de maîtriser les variations thermiques saisonnières et de reproduire un cycle à peu près équivalent à celui que les esturgeons rencontrent dans leur phase marine, sur le plateau continental, par des fonds inférieurs à 30m. Soit une température minimum de 12°C durant le mois de février et un maximum de 18°C au mois d'août avec des variations régulières entre ces paliers.

2.2.2 Sélection des géniteurs :

Les observations ont lieu trimestriellement selon des procédures éprouvées sur l'esturgeon sibérien *Acipenser baerii* tant sur les femelles que sur les mâles. Pour les femelles, plusieurs types de critères sont retenus, l'évolution du poids, l'aspect extérieur de l'animal, l'aspect extérieur des follicules ovariens, et enfin des caractéristiques physiologiques des follicules ovariens telles que le degré de migration du noyau et la compétence à la maturation in vitro. Chez les mâles, outre l'aspect extérieur le seul critère actuellement disponible concerne l'aspect extérieur d'un morceau de testicule. Lorsque les animaux sont maigres, aucun prélèvement de gonade n'est pratiqué car cet aspect externe traduit une absence de développement des gonades.

2.2.2.1 Biométrie

L'aspect extérieur de l'animal et son évolution pondérale sont des indicateurs permettant d'éviter un contrôle par biopsie, plus invasif, sur des géniteurs trop maigres pour être en phase de maturation mais ne constituent pas des critères fiables de sélection pour la reproduction.

Nous avons vu, que dans nos conditions d'élevage, des cycles annuels de croissance, de décroissance ou de moindre croissance interviennent de manière plus nette avec l'âge. Comme mentionné précédemment ces cycles sont en opposition de phase avec de ceux de la température d'élevage et plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour expliquer ces cycles.

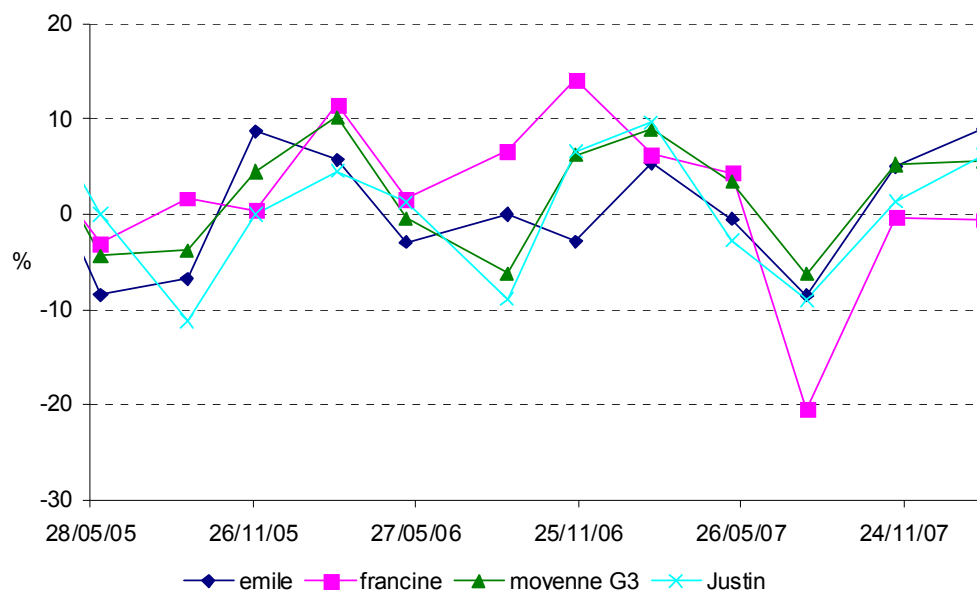


Figure 13 Variations de croissance des géniteurs ayant servi à la reproduction 2007

Le cycle constaté sur les variations de croissance moyenne du groupe G3 se retrouve dans la courbe d'Emile appartenant au même groupe ; par contre la courbe de Francine, du même groupe également, maintient la même allure générale, mais ne montre pas de perte de poids depuis mai 2005, indiquant vraisemblablement une maturation sur 2 ans.

Une maturation, pour les femelles, sur plusieurs années, 2 à 3 ans, est une caractéristique que l'on retrouve sur *A. baerii* en élevage alors que les mâles peuvent avoir une maturation chaque année.

Pour *A. sturio*, dans le milieu naturel, il n'existe pas de données fiables si ce n'est une capture d'un mâle marqué, capturé 3 fois à 3 ans d'intervalle, fluent. Nos résultats suggèrent qu'une maturation des mâles puisse être obtenue plus fréquemment en élevage.

La perte importante de poids, après la reproduction, de la femelle « Francine » correspond à la masse des ovules récolté et à la résorption des follicules.

Justin mâle plus âgé, de la cohorte 84, capturé en 1995, lors de sa migration génésique a servi à la reproduction artificielle de cette même année et à la reproduction 2007. Son cycle de variation pondérale suit celui des mâles plus jeunes.

2.2.2.2 Les biopsies

Les observations ont lieu trimestriellement, en même temps que la biométrie, tant sur les femelles que sur les mâles. Le morceau de gonade prélevé par biopsie est observé à la loupe binoculaire pour les follicules ovariens et sous microscope (x 400) pour le fragment de testicule.

Pour les femelles, l'aspect extérieur des follicules ovariens, leurs tailles, la facilité de prélèvement et leurs caractéristiques physiologiques telles que le degré de migration du noyau et la compétence à la maturation in vitro sont observés selon le protocole suivant :

- Prélèvement de 200 follicules ovariens (si développés)
- Séparation en 5 lots (4 en incubation in-vitro (33 follicules x 4) le reste pour observation directe)
- Sur une vingtaine de follicules frais sont mesurés les plus grands diamètres et notés toutes autres observation telles que couleur, pigmentation etc....

- Après 2 mn d'ébullition de l'échantillon et coupe selon un axe passant par la vésicule germinale on calcule l'index de polarisation (IP) qui correspond à la position du noyau. IP est égal au rapport de la distance qu'il reste à migrer sur le diamètre du follicule.
- Pour l'incubation in-vitro, à l'étuve à 18°C, deux lots servent de témoins 2 autres sont placés dans une solution de progestérone.
- Après 24 h d'incubation les follicules sont traités comme l'échantillon frais, par ébullition et coupe, et un comptage respectif des GVBD (Germinal Vesicle Breakdown) et GV (Germinal Vesicle) est réalisé pour établir le rapport GVBD/(GVBD + GV).
- La stimulation hormonale est pratiquée si le rapport est supérieur ou égal à 90%.

Cependant, en 2006, nous avons vu que le résultat du test de compétence à la maturation in vitro des follicules ovariens comporte des limites. L'utilisation habituelle comme critère de décision pour l'injection hormonale avec forte probabilité d'obtenir des ovules de qualité a été mise en défaut. Dans l'état actuel des outils et connaissances disponibles, il n'est pas améliorable à court terme.

Chez les mâles, le seul critère actuellement disponible concerne l'aspect extérieur d'un morceau de testicule et sa fermeté.

2.2.2.3 Suivi endocrinien

En 2006, quelques dosages plasmatiques, effectués à l'Université de Bordeaux 1, pour déterminer les sexes des poissons de la cohorte 94, ont montré qu'ils pouvaient être un élément de sélection des géniteurs extrêmement intéressants (cf. Tableau 2), des taux d'œstradiol élevés étant normalement corrélés à une vitellogénèse intense.

Depuis 2007, les plus jeunes poissons se rapprochant de l'âge de maturation, il fut décidé que l'ensemble du cheptel captif ferait l'objet d'un suivi hormonal.

Les prélèvements sanguins trimestriels ont été réalisés par le Cemagref mais n'ont pu être analysés dans un délai suffisamment court, par l'Université de Bordeaux 1, pour être utilisés en tant qu'élément prédictif d'une reproduction possible. Cette voie de prédiction reste essentielle et justifiera une meilleure programmation des analyses pour orienter les travaux, en renforçant le partenariat avec des équipes de physiologie du poisson.

Une autre voie à explorer consiste à réaliser des échographies ou des endoscopies permettant une meilleure estimation du stade de maturation. Les échographies ont démontré leur efficacité, dans l'élevage de *A. baerii*, pour le sexage ou la sélection des femelles destinées à la production de caviar mais l'adaptation des sondes à l'épaisseur de l'épiderme de *A. sturio* reste à faire et la maîtrise de l'interprétation de l'image serait difficile à acquérir actuellement compte tenu du faible nombre d'animaux dont nous disposons.

Dans une première approche, des contacts ont été pris pour mettre en place une collaboration avec les fabricants de matériel et les éleveurs qui pratiquent cette technique sur des milliers d'esturgeons *A. baerii*, chaque année. Cependant nous n'avons pas pu dégager le temps nécessaire cette année.

2.2.3 Simulation de migration :

Cette étape consiste à simuler la migration en eau douce pour les animaux élevés en eau saumâtre dont l'état justifie une injection hormonale.

Nous disposons déjà d'un protocole de simulation de migration grâce auquel nous avons obtenu 50% de spermiation (cf. action n°12). Un travail plus précis sur un plus grand nombre d'animaux, maintenant que les cohortes de 1994 et 1995 arrivent à maturité sera à conduire si cette nécessité de maintenir les animaux en eau saumâtre est confirmée.

Dans le chapitre rappelant nos travaux antérieurs et les choix qui ont été faits pour les conditions d'élevage, notamment de salinité, nous avons vu que les animaux sont élevés en eau saumâtre ($\sim 15\text{‰}$) tout au long de l'année. Dès lors la question de la simulation de la migration en eau douce se pose puisque c'est une phase du cycle biologique de l'esturgeon sur laquelle nous ne disposons que de très peu de données.

A la suite des quelques tests réalisés en 2000 et 2001, sur la fonction mâle, une séquence d'une semaine en eau douce minimum séparant les observations initiales (pour la décision de transfert) des observations finales (injection hormonale ou non) a été retenue.

2.3 Action n°15 : Réalisation de reproduction artificielle en 2007

2.3.1 Sélection des géniteurs :

En 2007, lors des contrôles de printemps, 4 femelles ont révélé un stade de maturité avancé, « DN » une femelle de la cohorte 88, acclimatée sur la station depuis 1993, « Séverine » de la cohorte 94, capturée grosse immature en 2001 et deux jeunes animaux de 94 capturés juvéniles en 1995 : « Francine » et « Alice ».

7 mâles ont également été sélectionnés. Pour 6 d'entre eux, en fonction du développement, de l'aspect et de la fermeté d'un prélèvement de testicule réalisés par biopsie, le 7^{ème} « Paco » avait été capturé, en Dordogne, fluent, une semaine avant le contrôle, lors de sa migration génésique

Tableau 4 Observations du 16 mai 2007 (d : diamètre de l'ovocyte, IP : indice de polarisation)

Appellation	Sexe	Groupe	Cohorte	Observations	IP
DN	F	G2	88	Prélèvement difficile d : 2.3 mm	0.13
Francine	F	G3	94	Prélèvement facile d : 2.4 mm	0.10
Séverine	F	G4	94	Prélèvement difficile d : 2.3mm	0.10
Alice	F	G4	94	Prélèvement facile d : 2.4 mm	0.08
Emile	M	G4	94	Gonade ferme	
Justin	M	G1	84	Gonade ferme	
Norman	M	G4	94	Gonade mole	
Isabeau	M	G4	94	Gonade mole	
David	M	G4	94	Gonade mole	
Léon	M	G4	94	Gonade mole	
Paco	M	G1	95	Non biopsié, capturé fluent début mai en Dordogne	

Alice, la femelle présentant l'indice de polarisation (IP) le plus avancé, celle pour laquelle les prélèvements de follicules, par biopsie, étaient les plus faciles, ceux-ci se détachant facilement, est morte le lendemain de la manipulation ; cet accident assez rare, aucun incident n'étant survenu au cours de l'opération est vraisemblablement imputable à la fragilité des poissons en phase ultime de maturation.

Pour l'ensemble des femelles sélectionnées, le diamètre des follicules reste petit, 2.3 et 2.4mm alors que la moyenne de l'espèce se situe vers 2.8, 2.9mm. Pour les jeunes femelles de 13 ans, ce faible diamètre peut s'expliquer car il s'agit d'une première maturation, pour DN c'est anormalement petit.

Le jour même de la biopsie, une première estimation du degré de maturation des follicules ovariens est donnée par l'indice de polarisation (IP) correspondant à la position de la vésicule germinale (ou noyau). Plus le noyau est proche de la périphérie de l'ovocyte plus la maturité est avancée ce qui se traduit par une faible valeur de l'indice de polarisation. Dans

le cas présent, les valeurs s'échelonnent entre 0,08 et 0,13 ; ce qui traduit une maturation encore insuffisante. Il fut donc décidé de surseoir à la simulation de migration.

Un nouveau contrôle des géniteurs sélectionnés a eu lieu le 12 juin 2007 : aucun changement sur le stade de maturité n'a été observé. Il fut néanmoins décidé de tenter une stimulation hormonale, avec « priming », après simulation de migration.

2.3.2 Protocole d'induction :

Pour les injections hormonales, des travaux antérieurs, sur *A. baerii* et *A. ruthenus* nous ont amené à modifier nos sources d'hormones pour plusieurs raisons : les extraits hypophysaires de carpe, anciennement utilisés, n'offraient pas de garantie quant à efficacité biologique régulière, et contiennent d'autres molécules. De ce fait ils font l'objet d'une interdiction d'utilisation en France. Cela explique une évolution vers les hormones hypothalamiques de type GnRH. Dans quelques cas des injections à faible dosage ($\sim 1/10$) dites « priming » sont pratiquées pour tenter de faire avancer la maturation. Ce fut le cas en 2007.

Les follicules ovariens étaient souvent très difficiles à extraire, leur aspect extérieur était irrégulier d'allure et de petite taille. Enfin la migration de la vésicule germinale était hétérogène et sa taille était anormalement petite. Tous ces éléments conduisent à conclure à une ovogenèse très incomplète et à un développement très asynchrone des follicules ovariens.

Les résultats de l'incubation in vitro, réalisés le 12/06/07 indiquent une compétence à la maturation des follicules ovariens, caractérisée par les rapports GVBD/(GVBD+GV) (GV = germinal vesicule, GVBD = germinal vesicule breakdown) suivants :

- DN 80% mais résultats équivalents sur les témoins
- Francine 90%
- Séverine 100% mais avec beaucoup de follicules abîmés, illisibles.

C'est un niveau correct pour deux des femelles (Francine et Séverine) mais insuffisant pour DN. Malgré ces résultats, difficilement interprétables et le manque de recul que nous avons sur la transposition d'une technique mise au point sur *A. baerii*, il fut décidé de simuler une migration pour les trois femelles et les sept mâles, présélectionnés par biopsie.

Le 12/06/07, transfert en eau douce (température de l'eau : 18-19°C), en circuit ouvert sur eau de forage, dans deux bacs de 15 m³ chacun, les sexes étant séparés pour faciliter les contrôles ultérieurs en limitant les manipulations.

Le 17/06/07, quatre des sept mâles se couvrent de mycoses, les trois autres et les femelles ne semblent pas atteints. Sur trois des mâles mycosés (Isabeau, David et Léon) les traitements externes à base d'iode ne seront pas suffisants et il sera nécessaire de les repasser en eau saumâtre pour enrayer cette attaque fongique. Pour Emile, également atteint, le traitement à l'iode sera suffisant. Suite à cette pathologie, nous constaterons deux jours plus tard, la mort du mâle David.

Le 19 et le 20 juin, les injections hormonales ont été pratiquées selon la procédure dont le détail est donné dans le Tableau 5. Une pré-injection du dixième de la dose (priming) a été pratiquée 12h avant l'injection principale pour parfaire la maturation.



Figure 14 Injection des géniteurs directement dans leur bac

Tableau 5 Détails des stimulations hormonales pratiquées

19/06//07 22h00					
Priming					
Femelles	DN		Francine		Séverine
Poids (kg)	19.5		8.5		19.2
Dose ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	1		1		1
Dose/animal (μg)	19.5		8.5		19.2
Concentration ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	40		40		40
Volume injecté (ml)	0.5		0.2		0.5
Mâles	Justin	Norman	Paco	Emile	Isabeau
Poids (kg)	24.3	14.4	17	17.6	7.6
Dose ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	1	1	1	1	1
Dose/animal (μg)	24.3	14.4	17	17.6	7.6
Concentration ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	40	40	40	40	40
Volume injecté (ml)	0.6	0.4	0.4	0.4	0.2
20/06/07 10h00					
Injection Principale					
Femelles	DN		Francine		Séverine
Poids (kg)	19.5		8.5		19.2
Dose ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	10		10		10
Dose/animal (μg)	195		85		192

Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	40	40	40	40	40
Volume injecté (ml)	4.9	2.1	4.8		
Mâles	Justin	Norman	Paco	Emile	Isabeau
Poids (kg)	24.3	14.4	17	17.5	7.6
Dose ($\mu\text{g/kg}$)	5	5	5	5	5
Dose/animal (μg)	121.5	72	95	88	38
Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	40	40	40	40	40
Volume injecté (ml)	3	1.8	2.4	2.2	1.0

2.3.3 Résultats :

Le 21/06/07, à 11h les mâles ont été collectés à l'aide d'une canule pour ne pas souiller le sperme avec de l'eau ou de l'urine. Cette canule, en polypropylène très souple pour ne pas blesser l'animal, est introduite délicatement dans le pore génital et une pression sur l'abdomen suffit à recueillir le sperme dans un bêcher tenu en contrebas.

L'aspect et le volume collecté sont notés avant un test de motilité sous microscope (x400).



Figure 15 Récolte du sperme

Les résultats suivants ont été enregistrés :

- Justin : 190 ml, clair (retenu)
- Norman : 40 ml très clair, translucide (non retenu)
- Paco : rien
- Emile : 30ml, concentré, blanc (retenu)
- Isabeau : rien

Les 3 spermes collectés n'ont pas de motilité spontanée se qui démontre une collecte réussie, sans souillure. Seul le sperme d'Emile a un aspect et une concentration en spermatozoïdes normaux. Les 2 spermes retenus ont une motilité de 90% avec une intensité de mouvement haute, à 30 secondes mais leur motilité décroît rapidement pour n'être que de 20% et 5% à 1 minute.

Un des mâles, Justin est le géniteur qui a servi à la reproduction artificielle de 1995 et qui est captif depuis cette date, le second est issu de la cohorte 94, capturé à l'âge de quelques semaines il a donc accompli tout son cycle biologique en captivité.

A 13h 15 soit 27 h après la stimulation, nous avons obtenu l'ovulation d'une jeune femelle, Francine, issue de la dernière reproduction naturelle en 1994 et en élevage depuis 1995.

Dans un premier temps, en pratiquant un massage abdominal, nous avons pu récupérer, par les voies naturelles un petit lot d'ovules de qualité moyenne puis un bouchon d'ovocytes agglomérés puis un lot plus fluide signalant une ovulation importante. Dans un second temps, pour récupérer rapidement les ovules, sans faire souffrir l'animal par des massages abdominaux répétés, il fut pratiqué une césarienne de 4 cm. 700 g d'ovules furent ainsi récoltés dont 525 par césarienne.

Aucune ovulation, sur les 2 autres femelles ne sera constatée durant la journée.



Figure 16 Césarienne, pratiquée après désinfection à la vétédine, du plan d'incision

2.3.3.1 Fécondation

Pour augmenter la diversité génétique des alevins produits, les ovules d'excellente qualité ont été divisé en 2 lots égaux, pour être fécondés par 2 mâles différents.

Tableau 6 Résultats de l'ovulation et fécondation

Lots	Mode récolte	Qualité	Masse (g)	Mâle fécondant	Code incubation
1	Césarienne	Excellente	260	Emile	Q1 x E x F
1	Césarienne	Excellente	265	Justin	Q1 x J x F
2	Voie naturelle	Moyenne	81	Emile	Q2 x E x F
3	Voie naturelle	Médiocre	95	Emile	Q3 x E x F

La pratique, généralement utilisée en élevage, consiste à féconder les ovules par un « pool » de sperme (mélange de plusieurs spermes) ; cette technique sécurise le taux de fécondation puisque la sélection des mâles est faite sur la motilité des spermatozoïdes et non pas sur le pouvoir fécondant et qu'un sperme peut se révéler avoir une bonne motilité et un pouvoir fécondant faible. D'un autre côté, des études génétiques montrent que, dans la plupart des cas, la fécondation faite par un pool de spermes entraîne une diversité faible, un sperme étant parfois plus fécondant que les autres.

Le choix a donc été fait de féconder les lots séparément pour augmenter les possibilités de diversité, malgré le risque d'un plus faible nombre d'alevins.

Un élevage séparé des lots, jusqu'à ce qu'on puisse pratiquer un marquage individuel, nous permettra de connaître individuellement les parents de chaque alevin conservé comme futur géniteur.

Après fécondation, à 13h 40, et avant incubation, les œufs ont été traités à l'argile pour les débarrasser de la gangue adhésive qui se développe sur l'œuf. En milieu naturel cela lui permet d'adhérer rapidement aux substrats. Le traitement a duré 1 heure.



Figure 17 Illustration du traitement à l'argile (à gauche) et incubation (à droite)

Tableau 7 Résultats d'incubation

Lots	Q1 x E x F		Q1 x J x F		Q2 x E x F		Q3 x E x F	
	Stade embryon ²	Taux de survie (%)	Stade embryon	Taux de survie (%)	Stade embryon	Taux de survie (%)	Stade embryon	Taux de survie (%)
21/06 18h	5-6	81	5-6	70				
22/06 15h	14-15	71	14-15	66		0		0
23/06 18h	24-25		24-25					
24/06 16h	30	55	30-32	47				
25/06 8h	34-35	38	34-35	39				

² Les stades de développement embryonnaires sont décrits dans la planche 1 en annexe 2

Lots	Q1 x E x F		Q1 x J x F		Q2 x E x F		Q3 x E x F	
25/06 9 h	36	Début d 'éclosion	36	Début d 'éclosion				

Les incubateurs sont de type Jarre de Mac Donald. L'incubation s'est déroulée à 18°C, en circuit fermé, thermorégulé, muni d'un stérilisateur UV avec un faible taux de renouvellement en eau de forage.

Quotidiennement un traitement anti-fongique a été pratiqué sur les œufs.

Les lots 2 et 3 issus des ovules récoltés par les voies naturelles, que nous avons estimé de qualité moyenne ou médiocre, n'ont pas eu de développement embryonnaire normal et ont été éliminés en cours d'incubation.

2.3.3.2 Eclosion :

A l'apparition des premières larves dans les jarres d'incubation, celles-ci ont été placées dans 2 auges d'éclosions de 2.5 x 0.5 x 0.15m munies de grilles de maille 800µ. Température d'éclosion 18°C, O2 dissous 10mg/l.



Figure 18 Dispositif d'éclosion et larve à l'éclosion

Après 24 heures les larves nageantes ont été siphonnées, dénombrées et mises en auge d'élevage. 6400 larves nageantes, non déformées ont été récoltées issues du lot Emile x Francine, 4000 issues du lot Justin x Francine.

Le 28 juin, quelques larves non déformés ont encore été récupérées dans les auge d'éclosion portant les nombres précédents à 6733 pour les larves issues d'Emile et 4143 pour celles issues de Justin. La récupération des dernières larves nageantes est rendue difficile par le comportement des larves qui contrairement à celles de *A. baerii* se concentrent dans les zones d'ombre rendant le tri difficile.

Le nombre d'œufs par gramme en début d'incubation et les taux de survie embryonnaire mesurés juste avant l'éclosion, respectivement pour Emile et Justin de 38 et 39%, nous amenaient à espérer environ 8300 larves par lot. Malgré les incertitudes liées à ces comptages de nombres importants, cela nous conduit à un taux de mortalité à l'éclosion et de déformations larvaires d'environ 19% pour Emile et de 52% pour Justin.

2.3.4 Conclusions

Des cinq mâles injectés trois ont donné du sperme dont deux seulement de qualité acceptable. Il est à noter que ce sont les mâles que nous avons estimés les moins avancés, par biopsie, qui ont donné le meilleur sperme. Le délai, entre le premier contrôle de mai et la reproduction a donc vraisemblablement permis à ces mâles de poursuivre leur maturation mais, dans ce cas, a aussi permis que les mâles les plus avancés aient commencé une résorption de leur gonade. Ceci montre que, dans nos conditions d'élevage et avec nos critères de sélection, nous devons présélectionner un nombre important de mâles pour assurer des reproductions régulières.

Compte tenu de la faiblesse de notre stock, la voie de recherche que nous envisageons sur la mise au point de techniques de congélation de sperme d'esturgeon devient donc prioritaire, non seulement pour augmenter la diversité génétique des futurs alevins produits mais aussi pour fiabiliser nos prochaines reproductions.

Le retardement de la reproduction, de près de 1 mois, n'a pas permis d'améliorer la maturité des femelles et a vraisemblablement nuit à la qualité des mâles.

Ceci montre que nos critères de sélection doivent encore être améliorés, l'utilisation du suivi endocrinien pourrait être un moyen, à condition de disposer des résultats suffisamment rapidement.

Le nombre de larves produites est encore faible mais c'est un résultat très encourageant puisque c'est la première fois que nous obtenons une reproduction à partir de géniteurs ayant effectué pratiquement tout leur cycle en captivité.

Cette première reproduction démontre que les conditions de stabulation que nous offrons à notre stock, en eau saumâtre, si elles sont perfectibles, permettent d'obtenir des maturations complètes aussi bien pour les mâles que pour les femelles.

La femelle et les mâles se sont bien remis de l'intervention. Les géniteurs ont été remis dans leur bac d'origine, en eau saumâtre le 28 juin 2007.

2.4 Action n°18 : Mise au point d'une méthode de marquage vital des alevins

Objectif :

Pouvoir distinguer, à partir d'un prélèvement limité de tissus, les individus issus d'alevinage de leurs congénères sauvages pendant plusieurs années après leur lâcher. Pouvoir marquer séparément des groupes d'individus

En accord avec les recommandations du « Re introduction specialist group de l'IUCN (1996), l'objectif final de cette action est de pouvoir différencier à partir d'un prélèvement limité de tissu, les individus issus d'alevinage de leurs congénères sauvages.

L'objectif affiché en 2007 était de tester et mettre au point sur un modèle biologique (*Acipenser baerii*) une méthode de marquage par marqueur chimique. Grâce à des tests où varient les facteurs de balnéation, nous souhaitons dégager une méthode de marquage satisfaisante du point de vue de la survie des poissons (95% min.) puis de la qualité de marque.

Le but ultime est d'appliquer cette méthode à *Acipenser sturio* en conservant les mêmes objectifs de résultats.

Intérêt :

Evaluer la contribution des individus alevinés au fonctionnement de la population. Pouvoir en tirer des leçons de groupes d'individus ayant eu des histoires différentes (exemple poissons déversés en Garonne ou en Dordogne ; poissons déversés très jeunes ou poissons déversés à un stade plus avancé)

2.4.1 Cadrage de l'expérimentation :

La procédure de marquage a été déterminée en s'appuyant sur des expériences antérieures ou sur des essais effectués sur d'autres espèces:

- des résultats de 1995, marquage sur *A. sturio*. Des balnéations de très courte durée avec une très forte concentration en marqueur n'ont pas donné une marque de qualité satisfaisante à moyen et long terme (Brun et al, 97);
- des caractéristiques physico-chimiques de l'eau de forage de St. Seurin/Isle. Celle-ci a un Titre Alcalinométrique Complet (TAC) de 6 contre 2 pour un marquage optimum (Minkinen et al, 2001);
- des résultats obtenus en 2005 sur *Alosa alosa*. Mise au point d'une méthodologie efficace (en terme d'imprégnation) et simple.

2.4.1.1 Matériel et méthode :

Le choix du marqueur s'est porté sur la Tétracycline Hydrochloride (TCH). Cette molécule avait été testée en 1995 sur des larves et alevins d'esturgeon, et en 2005 sur les larves d'aloise. Elle est largement utilisée pour des marquages de masse dans le cadre de programme de soutien de population.

Contraintes dues à la molécule :

- Molécule photolabile, sensible aux UV, donc à la lumière du jour (diminution de concentration d'un facteur 8 en 15 h d'exposition);
- Forme un complexe avec les cations métalliques bi-valents et les protéines en solution qui l'inactivent (eau dure = perte de marqueur);

- pH acide en solution et production de mousse.

Deux niveaux de concentration en marqueur et 2 durées de baignation ont été déterminés :

- 300 mg.l⁻¹, concentration faible ou « sécurité survie » ;
- 600 mg.l⁻¹, concentration forte ou « sécurité qualité de marque » ;
- 4 heures, durée courte ou « sécurité survie » ;
- 8 heures, durée longue ou « sécurité qualité de marque ».

Chaque couple dose/durée a été testé en replicat (8 lots) plus 2 lots témoins.

Les lots ont été composés de 29 spécimens d'*A. baerii* d'un poids moyen compris entre 15 et 20 g. Initialement (T₀), les poissons ont été anesthésiés puis pesés et mesurés individuellement avant d'être répartis aléatoirement dans les 10 lots. Ils subiront le marquage dans les jours qui suivent.

Les poissons sont placés dans des bacs ronds (diamètre 100 cm, hauteur d'eau 32 cm – 250 l), alimentés par de l'eau douce de forage de qualité constante.

Les poissons ont été maintenus à jeun pendant 24 heures avant le marquage. Deux solutions mères tamponnées avec du phosphate de sodium et du phosphate de potassium ont été préparées puis déversées progressivement dans les bacs.

Durant la baignation, le renouvellement d'eau est stoppé et de l'oxygène pur est ajouté, le pH et le niveau d'oxygène sont contrôlés toutes les heures. Les observations concernant le comportement des animaux et les décès éventuels sont notés.

Après le marquage, les poissons ont été élevés dans les mêmes structures. Au bout de 2 semaines 3 poissons par bac ont été prélevés pour estimer l'efficacité du marquage. Un prélèvement est effectué au niveau du 1^{er} rayon de la nageoire pectorale (Rochard et Jatteau, 1991). Ce prélèvement est préparé afin d'obtenir une fine section de rayon qui est ensuite observée au microscope à épifluorescence.

La qualité de la marque est estimée visuellement sur une échelle de 0 à 5 (Clavé, 2005).

Les effluents chargés de TCH ne doivent pas être diffusés dans le réseau de collecte des eaux usées ou dans le milieu naturel sous peine de favoriser l'émergence de souches bactériennes résistantes et de provoquer des problèmes de santé publique. La solution la plus simple et la moins onéreuse est de stocker dans un bassin les eaux fortement contaminées.

Sous l'action du soleil et par hydrolyse, la TCH, lorsqu'elle est en solution (à pH neutre), est naturellement dégradée en épimères inoffensifs en 3 à 5 semaines.

2.4.1.2 Résultats des tests sur *A. baerii*:

Aucune mortalité n'a été enregistrée pendant le marquage, ni durant les 15 jours d'élevage qui ont suivi.

La qualité du marquage est meilleure pour le couple concentration et durée maximum (600 ppm et 8 heures). Les résultats du traitement 300 ppm / 8 heures sont meilleurs que pour le traitement 300 ppm / 4 heures (Kruskal-Wallis, p=0,056).

Tableau 8 Survie et qualité estimée de la marque des différents lots.

Lot	Facteurs de baignation		Résultat	
	Concentration (ppm)	Durée (h)	Survie	Note marque

0	0	0	100%	0
1	300	4	100%	2
2	300	8	100%	3,3
3	600	4	100%	2,7
4	600	8	100%	4

Tableau 9 Test de comparaison (Kruskal-Wallis) des notes de qualité de marque interlots, H_0 =il n'y a pas de différence de qualité de marque entre les lots.

Comparaison		Rejet H_0 (seuil 5%)	Rejet H_0 (seuil 10%)	P-valeur
Lot 1	Lot 2	OUI	OUI	0,016
Lot 1	Lot 3	NON	NON	0,162
Lot 2	Lot 3	NON	OUI	0,056
Lot 2	Lot 4	NON	OUI	0,075
Lot 3	Lot 4	OUI	OUI	0,007



Figure 19 Marquage test sur *Acipenser baerii*.

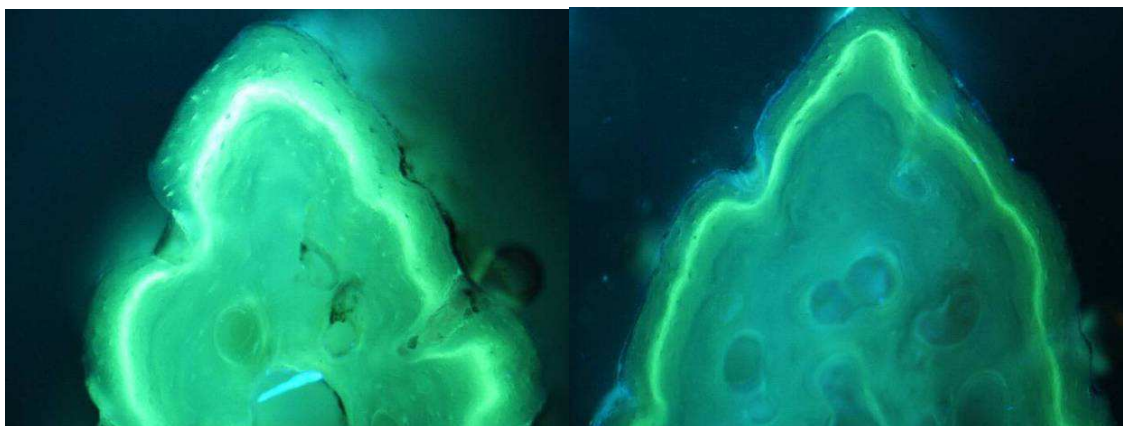


Figure 20 *Acipenser baerii*. Individu marqué à 300 ppm pendant 4 heures (à gauche) et 600 ppm pendant 8 heures (à droite)

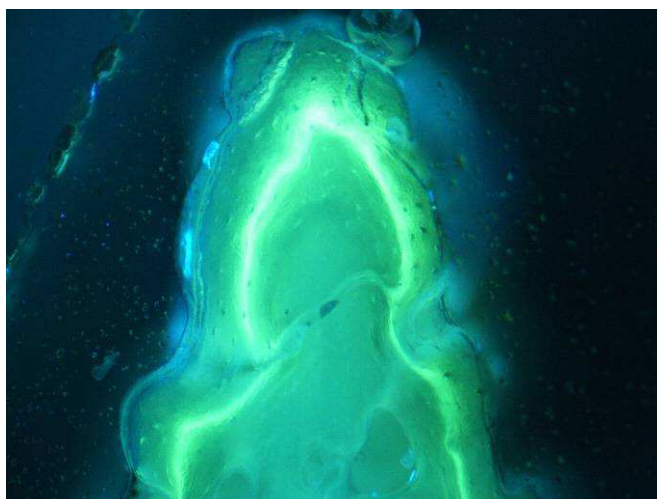


Figure 21 *Acipenser baerii*. Individu marqué à 300 ppm pendant 8 heures

2.4.1.3 Conclusion des essais sur *Acipenser baeri* :

Les résultats de survie étant optimum sur tout les lots, il est logique de choisir à priori comme facteur de balnéation optimum le couple concentration/duré produisant la marque de meilleure qualité, soit 600ppm pendant 8h. Cependant, il peut être envisageable de diminuer la concentration de marqueur (300ppm) en augmentant la durée de balnéation (8h) afin d'obtenir une marque satisfaisante en minimisant le possible effet négatif de la molécule sur les individus.

2.4.2 Application à *Acipenser sturio* :

Les résultats en termes de survie et de qualité de marque ont orienté le protocole de marquage pour les *A. sturio*.

Au cours des essais préliminaires (600 ppm pendant 8 heures) sur un petit nombre d'individus, le comportement de certains alevins a été altéré (apathie, perte d'équilibre). Au vue de ces résultats, un marquage de masse à 600 ppm risquait d'engendrer une mortalité non conforme avec le cahier des charges (survie de 95% minimum). Nous avons donc opté pour un protocole sécuritaire, en choisissant une balnéation de 8 heures à 300 ppm.

Ce protocole a été testé sur un lot de 75 poissons. Aucune altération du comportement et aucun mort n'ont été enregistrés. Le marquage de masse a donc été effectué selon ce protocole, le 19 septembre pour le lot déversé en Dordogne et le 20 septembre pour celui déversé en Garonne. Aucune mortalité n'a été enregistrée.

Afin de pouvoir estimer la tenue de la marque sur du long terme, un lot de 50 poissons conservés à la station expérimentale de St Seurin, a été marqué le 4 octobre selon le même protocole. Des prélèvements de fragments de rayon pectoral seront effectués tous les six mois afin de contrôler la tenue de la marque.



Figure 22 *Acipenser sturio* : individus lors du marquage du 4 octobre 2007

2.5 Action n°19 : Production d'alevins

2.5.1 Conditions d'élevage :

Avant la première prise de nourriture, les larves âgées de 6 jours ont été réparties dans 7 auges de 1.3m x 0.5 x 0.15. Les auges sont alimentées en eau de forage préalablement dégazée et oxygénée, à 18°C. Le renouvellement en eau est réglé de manière à ce que la teneur en oxygène dissous, à la sortie des auges, ne soit jamais inférieure à 7mg/l.

Durant la première semaine les auges ont été éclairées avec des néons de couleur rouge, durant 16h par jour, de façon à obtenir un éclairage de 50 lux. Par la suite, le comportement lucifuge des larves d'esturgeon nous a incité à ne maintenir l'éclairage que durant les interventions, le reste du temps, l'éclairage du reste de l'écloserie maintenait une pénombre de quelques lux.

Le 24/07/07 soit 28 jours après l'éclosion (J28), les larves ont été transférées dans des auges plus grandes (2.5 x 0.5 x 0.15m)

En 1995, lors de la dernière reproduction artificielle, nous avons enregistré des mortalités extrêmement importantes liés aux essais de sevrage mis en place mais aussi en raison de nombreux incidents de pathologie (*Aeromonas sobria*, *Lactococcus lactis* et *Flexibacter columnaris*) nécessitant des antibiothérapies répétées. En 2007 il fut donc décidé de mettre en place une prophylaxie rigoureuse au niveau du matériel et du personnel (désinfection de tout le matériel entre chaque utilisation dans des bacs différents, zone d'élevage protégée, pédiluves, désinfection des mains...) et aussi au niveau des animaux par des baignades régulières à la chloramine T et au peroxyde d'hydrogène.

2.5.2 Alimentation :

Nous savons que la gestion d'un stock important de géniteurs d'*A. sturio*, capable d'initier un programme de repeuplement, au niveau national et international ne pourra avoir des chances de succès que si nous maîtrisons la nutrition de ces poissons.

En 1995, lors de la précédente reproduction artificielle, nos travaux s'étaient appuyés sur les résultats obtenus avec notre modèle biologique *A. baerii*. Les faibles survies obtenues, puis les problèmes de déformations squelettiques enregistrés sur les juvéniles nous ont conduit à modifier notre approche, en se référant plus aux travaux américains sur *A. oxyrinchus* dont la parenté avec *A. sturio* est plus proche.

Nous retenons cependant, un certain nombre d'enseignements, de nos travaux antérieurs :

- contrairement à *A. baerii*, le sevrage direct sur aliment artificiel entraîne une mortalité complète.
- compte tenu de la taille de la bouche, l'usage de nauplii de petits crustacés, *Artemia salina*, est préférable à l'utilisation première de petits vers du type Chironomides.
- l'usage des nauplii enrichis n'améliore pas les résultats.
- aucune différence n'est notée entre l'usage de chironomes frais ou congelés
- un sevrage lent sur aliment inerte est préférable à un sevrage court.

Protocole retenu en 2007 :

- Première distribution de nauplii d'*Artemia* dès le 6^{ème} jour (J6), compte tenu de l'étalement dans le temps de la phase d'ouverture de la bouche.
- Compte tenu du temps de survie des artémia en eau douce, de l'ordre de 2 h, et pour maintenir une densité de proies importante dans les auges, nous avons mis en place

- une distribution automatique par électrovanne d'une solution d'artemia toute les 10 mn 24h/24.
- L'origine des déformations squelettiques n'ayant pas été clairement établie, les essais de sevrage sur aliments artificiels n'ont porté que sur une fraction des alevins conservés comme futurs reproducteurs
 - Complémentation, sur 5 des 7 auge, dès le 13^{ème} jour après l'éclosion (J13) d'un aliment artificiel. (aliment « caviar » de la société Bernaqua de granulométrie 100-200µ) distributions par nourrisseur vibreur toutes les 40mn 24h/24.
 - J18 complémentation de l'alimentation naturelle à base d'artémia par des chironomes, distribués 2 fois par jour, sur l'ensemble des auges.
 - Sur le modèle de *A. oxyrinchus* mise en place d'un sevrage lent sur alimentation artificiel à partir d'un poids minimum de 200 mg.

Tableau 10 Conditions d'alimentation des différents lots de larves

N° d'auge	Parents	Nombre	Alimentation	
1	Emile x Francine	1500	Naturelle stricte	
2	Emile x Francine	1500	Artificielle	Début de sevrage J31
3	Justin x Francine	1500	Naturelle complémentée	
4	Justin x Francine	1500	Artificielle	Début de sevrage J31
5	Emile x Francine	1500	Naturelle complémentée	
6	Emile x Francine	1287	Naturelle complémentée	
7	Justin x Francine	1026	Naturelle complémentée	

2.5.3 Résultats jusqu'à la date des lâchers en milieu naturel

2.5.3.1 Croissance

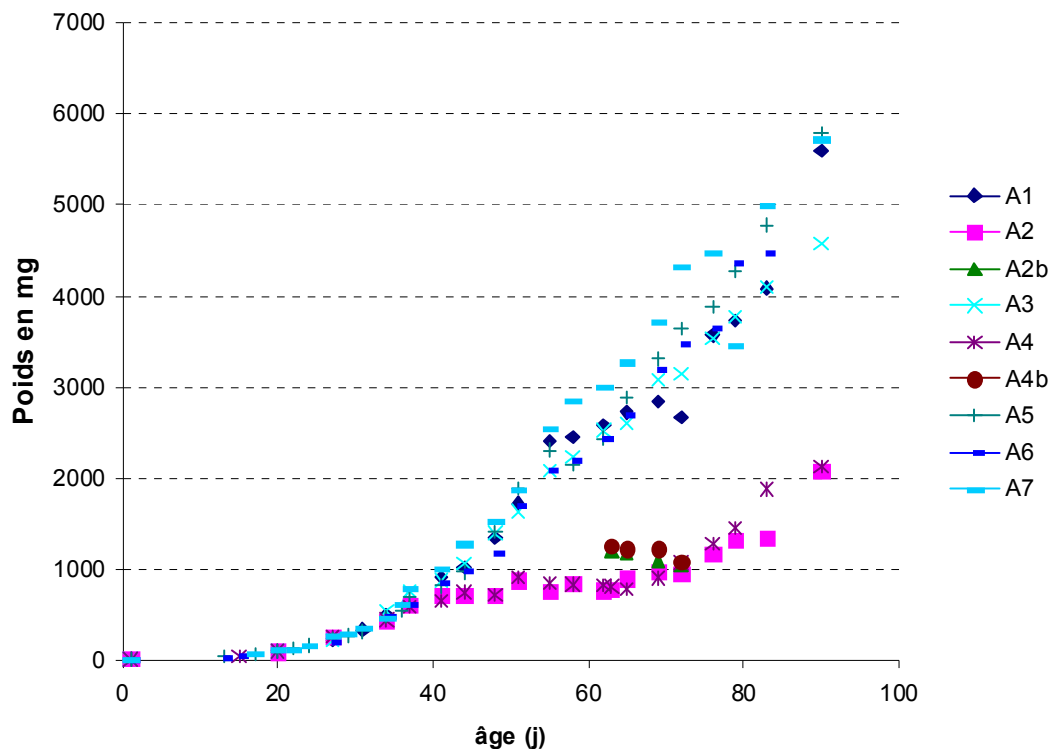


Figure 23 Croissances comparées des différents lots

Les croissances des différents lots sont très proches jusqu'au 35^{ème} jour, quelle que soit leur origine parentale. Tous sont nourris ad libitum avec de l'aliment naturel.

A J31 nous avons débuté un sevrage lent sur les lots 2 et 4. Sur ces 2 lots, la ration d'aliment naturel reste fixe, seule la ration d'aliment artificiel évolue avec la biomasse.

Très vite l'incidence sur la croissance se fait ressentir et à J63 l'essai de sevrage précoce est arrêté sur l'ensemble du lot pour ne se poursuivre que sur 2 lots (A2b et A4b) de 200 individus les plus gros (>1g), considérés comme sevrés.

Alors que l'observation des animaux montre très bien la prise d'aliment artificiel, une décroissance de ces 2 petits lots est immédiatement enregistrée et l'essai est abandonné au bout de 10 jours, à J73.

2.5.3.2 Mortalités

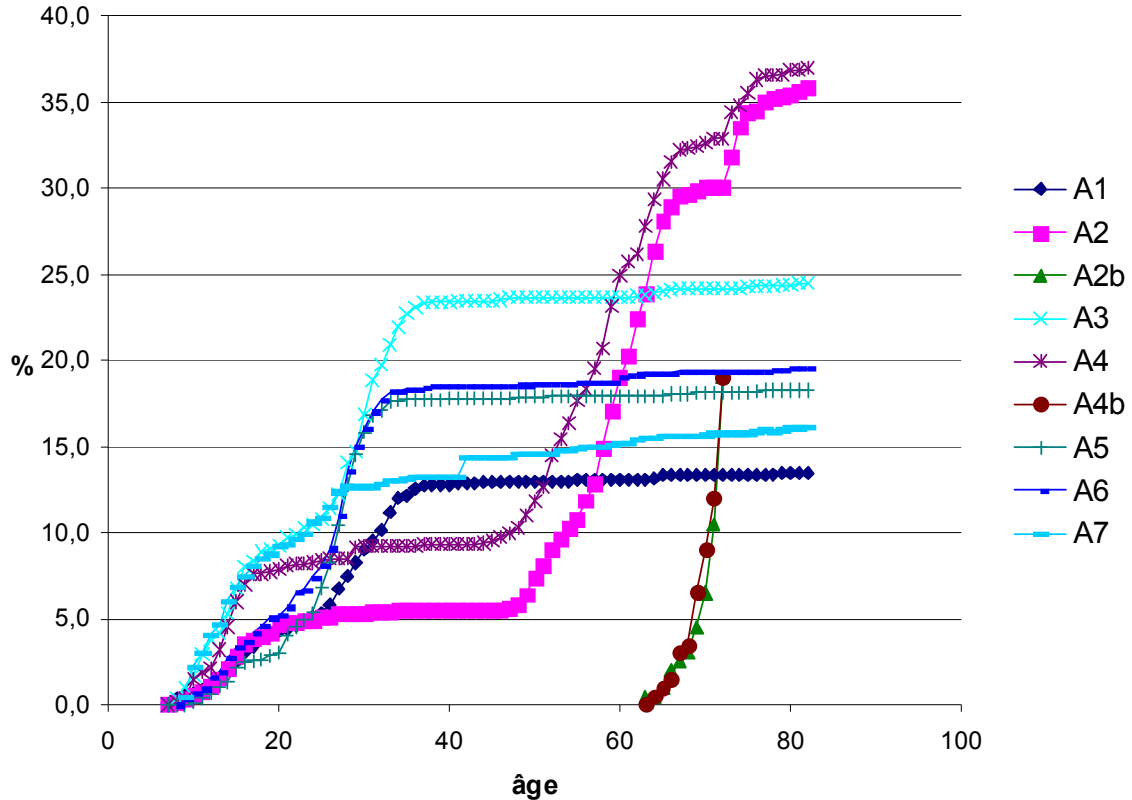


Figure 24 Mortalités cumulées comparées des différents lots

Un complément en aliment artificiel, distribué dès le début d'élevage sur les bacs 2 et 4 destinés à être sevrés n'a semble-t-il pas eu d'effet sur la croissance mais semble jouer un rôle positif sur la mortalité. A partir de J30 ce complément a été distribué aux autres bacs, à l'exclusion des bacs 1 et 3 destinés à rester sur aliment naturel strict.

Les mortalités des lots 1 et 3 sur aliment naturel se stabilisent vers le 35^{ème} jour sans qu'il y ait eu de changement dans la conduite de l'élevage.

Les lots 2b et 4b créés à J63 à partir d'animaux les plus gros des lots 2 et 4, considérés comme sevrés enregistrent dès la création des lots des mortalités très importantes ; cet essai est interrompu au bout de 10 jours.

2.5.3.3 Discussion

Pour de mêmes conditions d'élevage il n'apparaît pas de différences significatives en fonction de l'origine parentale des lots.

Le sevrage précoce et lent sur les lots 2 et 4, à 200mg, s'est avéré être un échec.

Sur les animaux des lots 2b et 4b, issus des lots 2 et 4, isolés et maintenus sur aliment artificiel nous avons immédiatement enregistré une perte de poids et simultanément une augmentation brutale de la mortalité. La prise d'aliment était pourtant nettement visible mais il est toujours difficile de voir si les poissons n'en recrachent pas une partie sans l'avoir avalé et d'autre part, des particules d'aliment se retrouvaient dans les fèces sans avoir été, semble-t-il, digérées. Les larves avaient-elles le matériel enzymatique nécessaire à la digestion de cet aliment ?

Lors de ce tri, à J63, des animaux les plus gros, l'interprétation que nous faisons de leur bonne croissance était erronée : ces animaux, que nous espérions sevrés puisque la prise d'aliment avait été constatée ne correspondaient en fait qu'au lot de tête qui consommait la majeure partie de la ration de base d'aliment naturel.

En début de sevrage, à J31, le maintien de la ration d'aliment naturel à un niveau fixe, provoque très vite, après quelques jours, une inflexion dans la courbe de croissance. Le sevrage que nous avons mis en place n'a donc pas été aussi progressif que nous le souhaitions et de nouveaux protocoles de sevrage ont été programmés pour des phases ultérieures.

Entre J10 et J30, le complément d'aliment artificiel, distribué aux lots 2 et 4, a eu un effet bénéfique sur le taux de mortalité. Comblait-il une carence de l'aliment naturel ?

De nouveaux essais devront être mis en place pour parfaire la maîtrise de cette première phase alimentaire.

En 2007, la prophylaxie mise en place nous a évité d'avoir recours à des traitements curatifs, toujours dommageables, surtout pour des alevins destinés au repeuplement.

2.6 Action n° 20 : Amélioration des techniques d'élevage larvaire et repeuplement

Objectif :

Reproduire les essais menés sur la cohorte née en 1995 sur une nouvelle cohorte d'*A. sturio*, ou sur des larves d'une autre espèce d'esturgeon utilisé comme modèle

Intérêt :

Etablir les protocoles permettant d'obtenir une bonne survie des animaux

2.6.1 Introduction :

La sauvegarde de l'esturgeon européen passe par la mise en place de stock ex situ, permettant des repeuplements à grande échelle et dans la durée, compte tenu de l'aire de répartition de l'espèce, des pressions pesant sur l'espèce et de la longueur de son cycle jusqu'à reproduction.

Les méthodologies employées pour l'acclimatation des géniteurs sauvages et enfermés et la conduite des reproductions artificielles, commencent à être mieux maîtrisées, même si d'importants travaux de recherche et d'expérimentation restent à conduire pour en améliorer les performances. Un travail très important reste à faire pour l'élevage des jeunes stades du fait de la rareté des occasions de reproduction réussie et des alevins permettant de rechercher les méthodes d'élevage les plus adaptées au développement d'un programme de production efficient.

2.6.2 Travaux conduits et résultats généraux :

L'obtention de larves suite à la reproduction artificielle réalisée en juin 2007, a permis de relancer les essais d'élevages larvaires. Le sevrage précoce des larves à 200 mg n'a pas donné de bons résultats. L'ingestion de l'aliment inerte a été observée, sans toutefois permettre le développement des poissons (Voir action n° 19).

La cinétique de mise en place des fonctions digestives, les liens possibles avec la qualité de l'eau employée ne sont pas connus. L'utilisation d'eau brute et d'aliments fortement digestes type protéines de poissons hydrolysées (PPH) est à tester.

Jusqu'à fin janvier 2008, la majorité des lots conservés ont été nourris avec de l'alimentation naturelle (vers de vase et broyats de moules et crevettes). La croissance a été suivie, permettant d'affiner le rationnement en vers de vase. Les besoins journaliers ont été établis à 9 % de la biomasse.

Des tests d'appétence et suivis de taux de croissance ont été réalisés avec utilisation de différentes proies naturelles. Les poissons sont très sensibles à la taille, texture et durée d'appétibilité des aliments. L'alimentation sur proies naturelles pose des problèmes liés à l'approvisionnement, à la qualité, au stockage et mode de distribution.

Des essais de sevrage dits tardifs ont été réalisés (le passage des juvéniles sur aliment inerte étant une nécessité dans un contexte de développement des stocks ex situ).

Ils ont d'abord été menés en auges sur des juvéniles âgées de 145 jours. Ils se sont étalés sur une période d'environ 2,5 mois. Sept aliments différents ont été testés, ainsi que différentes méthodologies : sevrage brutal, utilisation de pâtes d'aliments, co feeding (mélanges d'aliments naturels et inertes), aliment inerte trempé, et enfin fabrication d'un aliment spécifique.

Le contrôle des taux de croissance (gains de poids par semaine, en % du poids initial), mais également des suivis comportementaux ont été utilisés pour l'évaluation des résultats. Des

seuils de pertes de poids ont été fixés pour éviter les mortalités. Les poissons trop maigres ont été retirés des expérimentations et remis sur alimentation naturelle.

Les aliments testés en auges et les « recettes traditionnelles de sevrage » n'ont pas fonctionné.

Des essais de sevrage en conditions d'exploitation ont alors été lancés. Les premiers résultats significatifs de sevrage ont été obtenus sur le bassin B5, avec utilisation d'un aliment créé spécifiquement en interne (appelé « terreau »)

70 % de poissons sont passés sur alimentation artificielle sans qu'aucune mortalité n'ait été à déplorer. L'utilisation de l'aliment est actuellement étendue à l'ensemble des lots à sevrer.

Les observations montrent que l'état de forme des individus, évalué à partir de la mesure de l'embonpoint intervient dans la réussite du sevrage. Les méthodologies à utiliser (durée du co feeding) sont à moduler en fonction de ce paramètre.

Les taux de croissance observés sur les individus sevrés sont bien supérieurs à ceux conservés sur proies naturelles. Le rationnement intégrant l'IC le plus faible et une croissance proche du milieu « naturel » des juvéniles reste à établir.

Les rythmes de distribution d'aliments, les densités d'élevage et modalités de tris (notamment en cours de sevrage) les plus adaptés doivent être établis sur les lots sevrés.

Il convient de mieux comprendre les comportements spécifiques (notamment sociaux). Ils sont à prendre en compte pour optimiser la gestion de l'élevage mais également des repeuplements.

Des problèmes de torsion ont souvent été rencontrés chez les esturgeons en élevage. Les causes n'ont jusqu'à présent jamais été clairement établies. Maintenir un taux de croissance moyen via le rationnement, la nage forcée ou le suivi d'un régime thermique naturel sont à favoriser.

L'aliment doit contenir les éléments permettant le développement et la consolidation du squelette cartilagineux (notamment les sels métalliques).

La question du passage des juvéniles en eau saumâtre ou salée après une saison de grossissement se pose (en rapport avec le cycle naturel de l'espèce). Elle présente également un intérêt dans l'optique de repeuplements tardifs. La description d'hormones liées à l'osmorégulation permettrait d'orienter les choix.

La gestion sanitaire de l'élevage a essentiellement porté sur les aspects prophylactiques (séparation des zones d'élevage, utilisation de matériels spécifiques, nettoyages et désinfection systématique des bassins et matériels d'élevage). Aucune épidémie ne s'est déclarée. Les mortalités sont restées très limitées tout au long du cycle d'élevage.

2.6.3 Descriptif des moyens techniques utilisés et effectifs conservés

Pour le pré grossissement, les poissons ont été placés dans sept bassins sub carrés de 2mx2m, ainsi que deux bassins ronds de 1m de diamètre.

Les bassins, placés à l'intérieur d'un bâtiment, fonctionnent en circuit ouvert. Ils sont alimentés par de l'eau de forage à température constante (proche de 17°C). L'éclairage est assuré par des néons latéraux. Ils possèdent une légère pente et une évacuation centrale. L'eau d'amenée est ré oxygénée, les débits réglés pour que la concentration en oxygène soit comprise entre 7 et 8 mg/l.

L'entretien consiste en des nettoyages journaliers réalisés matin et soir (siphonage des restes et fèces). Les bassins sont nettoyés au balai toutes les 3 semaines en présence des poissons. Ils sont désinfectés sans les poissons tous les 2 mois. Température, oxygène et PH sont contrôlés de façon hebdomadaire.

La répartition des poissons a été établie en fonction de leur origine parentale. Les poissons ayant été soumis au sevrage précoce ont été placés dans les bassins B2 et B4. Les bassins B7, B8, et B9 ont reçu des lots destinés à des expérimentations spécifiques (marquage à l'oxytétracycline pour les poissons des B8 et B9, et pose d'émetteurs acoustiques pour ceux du B7).

Au 8 octobre 2007, date de la création des derniers lots B8 et B9, nous avons au total 844 poissons âgés de 103 jours. Leur répartition est indiquée dans le tableau ci dessous.

Tableau 11 Descriptifs des lots formés (état à 103 jours)

Num bassin	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9
Origine lot		B1		B3			B5	B2	B5
Parents	père	Emile	Emile	Justin	Justin	Emile	Justin	Emile	Emile
	mère	Francine	Francine	Francine	Francine	Francine	Francine	Francine	Francine
particularités	maintien alim nat	essai sevrage précoce	maintien alim nat	essai sevrage précoce			maintien alim nat		
Nb individus/bassin	132	73	129	103	137	163	57	25	25
Biomasse (kg)	0,99	0,32	0,86	0,44	1,04	1,43	0,44	0,09	0,28

2.6.4 Gestion sanitaire

L'eau de forage utilisée pour les élevages est très peu chargée en bactéries. Les contaminations peuvent donc provenir essentiellement d'éléments exogènes (personnes, matériel, aliments ...) et d'une mauvaise gestion zootechniques : entretien insuffisant, sur nourrissage, dégradation des conditions d'élevages.

La gestion sanitaire a donc essentiellement été basée sur la prophylaxie. Des pédiluves ont été installés dans chacune des zones d'élevage. L'accès aux zones techniques a seulement été autorisé aux personnels de la station. Le nettoyage des déchets (fèces, aliments non consommés) a été réalisé matin et soir. Il comprend un siphonage des gros déchets, non évacuables par la grille centrale, ainsi qu'une chasse d'eau réalisée en parallèle avec un décolmatage du collecteur d'évacuation. Des nettoyages au balai sont réalisés dès apparition de films graisseux et de fooling sur le fond des bassins. Les matériels utilisés (bassins, auges, épuisettes, bassines, siphons, plans de travail, balais..) sont systématiquement désinfectés, avant utilisation, au peroxyde d'hydrogène. La même procédure est employée lors des contrôles de croissance (désinfection des seaux, ichtyomètres, serpillières..) et les marquages.

Tous les 2 mois, les bassins sont mis à sec, nettoyés et à nouveau désinfectés. L'emploi de peroxyde (employé habituellement pour les traitements de désinfection externe des poissons) a donc été étendu à l'ensemble de la désinfection courante. Ce choix a été fait compte tenu du peu de nocivité du produit par rapport au milieu naturel, aux utilisateurs et aux poissons, sous respects des conditions d'utilisation d'usage (dosages adaptés, port de gants, et de lunettes). Les désinfectants de type ammonium quaternaires n'ont plus été réservés qu'aux traitements des sols et pédiluves.



Figure 25 Nettoyage et désinfection des bassins

2.6.5 Suivi des effectifs sur Alimentation naturelle :

2.6.5.1 Proies utilisées, approvisionnement et stockage, risques sanitaires

Durant une première période (octobre à décembre), les poissons ont été nourris à partir de larves de chironomes et d'un broyat de moules et crevettes (65% crevette, 35 % moules). Les carapaces de crevette apportent les éléments nécessaires à la formation de cartilage, les minéraux. Les larves de chironomides ont été choisies pour leur forte appétence, et leur composition proche de celle des vers consommés habituellement par les jeunes esturgeons en milieu naturel. Elles sont essentiellement composées d'hémoglobine (forts taux de protéines hautement digestibles et fer servant dans la consolidation des cartilages...). Les 2 aliments sont complémentaires et assez pauvres en matières grasses.

L'incorporation de moules a été abandonnée (fin décembre 2007) car le régime sans moules semblait produire les mêmes résultats de croissance.

Des essais d'incorporation d'éperlans dans le broyat ont été réalisés du 5 au 20 novembre 2007. Ils n'ont pas été poursuivis, car un ralentissement de la prise de poids des juvéniles avait été observé (baisse de 5% du gain de poids).

L'absence d'assimilation du broyat de crevette a été mise en évidence au cours des essais de sevrage. Une perte de poids de 10 % après une semaine a été observée sur le lot témoin conservée sur ce seul régime. Si l'on en juge par les observations visuelles, ce n'est pas la taille des particules qui est en cause, mais la dureté des restes de carapaces. Au contact du broyat, les juvéniles montrent des difficultés d'ingestion (séquence caractéristique du sursaut de la tête). L'utilisation de broyats plus fins a été testée, mais elle conduit à des pertes d'aliments à travers la grille, quasi totales.

Le process de fabrication du broyat n'est pas satisfaisant du point de vue sécurité alimentaire. En effet la matière première congelée doit être partiellement décongelée pour faciliter le broyage. Le broyat est ensuite recongelé puis décongelé à la demande en fonction des besoins journaliers. Plans de travail et broyeur (de catégories ménagères), ne peuvent être correctement nettoyés et désinfectés. On sait que la congélation décongélation de matières surtout déstructurées favorise la contamination bactérienne.

Le remplacement des crevettes adultes broyées par des larves de crustacés au stade mysis a été testé sur 3 semaines.

Un gain de poids constant de l'ordre de 3 % par semaine a été mesuré. Les mysis sont donc consommées par nos alevins, mais dans des proportions insuffisantes (dans nos conditions d'essais) pour leur assurer le meilleur développement. D'autre part elles présentent une durée d'appétibilité réduite.

Il semble donc important d'arriver à maintenir un régime diversifié des juvéniles conservés sur proies naturelles. Les larves de chironomes semblent apporter l'essentiel de l'énergie permettant leur croissance. Des larves de crustacés à différents stades de leur développement peuvent être utilisées en complément.

Les séquences alimentaires (dont la durée reste à préciser) pourraient intégrer successivement des stades tardifs d'artémies, des mysis, puis du krill et crevettes adultes.

L'approvisionnement en proies naturelles s'effectue auprès de différents grossistes. Elles sont achetées sous forme congelée dans des conditionnements variables (en cubes de quelque cm³, en plaques de 100 g jusqu'à 20 kg). Le stockage s'effectue en chambre froide à -20°C. Les données concernant les dates, lieux de pêche ou collecte, mode de congélation, qualité nutritive, taux de contamination ne sont, la plupart du temps, pas disponibles. Cela pose un problème, notamment pour les chironomes (proies les plus utilisées), que l'on sait pouvoir être largement contaminés par des métaux lourds. On peut observer des différences importantes dans les tailles des proies en fonction des dates de captures. Cela affecte la croissance des larves ou juvéniles qui sont très sélectifs pour ce critère. L'approvisionnement en produits fraîchement congelés n'est pas toujours possible, en raison des fluctuations des volumes de ventes et des aléas de la pêche. Il est assez courant de trouver des produits congelés pendant une longue période, ce qui altère leur qualité. Pour s'assurer des aspects qualitatifs (composition, taille des proies) et quantitatif, il est souhaitable de diversifier les sources d'approvisionnement et espèces utilisées.

Le principal problème rencontré est donc le manque de garantie concernant les aspects sanitaires. Les proies naturelles peuvent véhiculer des pathologies lourdes (parasites, bactéries, virus..). La congélation n'est pas suffisante pour détruire l'ensemble des germes. L'ionisation permettrait de s'en assurer, mais c'est une technique développée principalement pour un usage industriel.

2.6.5.2 Tests d'appétence sur différentes proies naturelles

De façon à pouvoir diversifier l'alimentation naturelle, des tests d'appétence ont été réalisés sur différents produits. On entend par appétence l'intérêt manifesté pour la nourriture par les juvéniles via des observations comportementales (sens de la nage, excitation...), sans contrôle de l'ingestion. Les résultats sont indiqués dans le

Tableau 12. On peut noter principalement que les larves de moustiques noirs, les jeunes stades de crevettes, le krill présentent de l'intérêt.

Il y a toutefois des conditions d'utilisation à respecter (taille, dureté des proies, temps d'appétibilité) en rapport avec le développement des juvéniles. Ainsi les jeunes stades de larves de chironomes, ou de moustiques noir peuvent être employés directement après utilisation d'artémies. Les crevettes au stade Mysis, le krill sont préférentiellement destinés à des individus plus âgés. A l'exception des larves de chironome, une perte assez rapide du pouvoir d'appétence des proies testées a été observée.

Tableau 12 Résultats des tests d'appétence

Num	date	appellation	dureté	appétence	forme	prise	observations
1	nt	red plancton					trop petite taille
2	12/10	Mysis	faible	très bonne	entier	très bonne	donne de très bons résultats
3	15/10	artémia	très faible	très bonne	entier	bonne	conviendrait mieux aux plus jeunes stades, conservation délicate, déstructuration après décongélation
5	11/10	Bloodworms		bonne	entier	bonne	voir origine et fiche sur métaux lourds
5	12/10	Bloodworms	très faible	bonne	entier	bonne	voir origine et fiche sur métaux lourds
5	15/10	Bloodworms	très faible	bonne	entier	bonne	voir origine et fiche sur métaux lourds
7	11/10	black mosquito	très faible	bonne	entier	bonne	convient en remplacement chironomes
8	11/10	gammarus	forte	moyenne	entier	très faible	aliment trop dur et de trop grande taille à utiliser en entier pour des poissons plus gros
8	11/10	gammarus	moyenne	bonne	broyé	moy à bonne	à tester sur poissons plus âgés
8	15/10	gammarus	moyenne	bonne	broyé	moy à bonne	à tester sur poissons plus âgés
9	11/10	White shrimp	faible	bonne	broyé	bonne	à tester en entier sur des poissons plus âgés
10	16/10	tubifex	très faible				trop de pertes après broyage, à tester sur adultes non testé, texture trop fragile
11	16/10	cockles	faible	moy à bonne	broyé	bonne	pourrait remplacer les moules pour diversification à tester en entier sur adulte
14	12/10	White mosquito			entier	nulle	aliment flottant
15	11/10	Krill pacifica	faible	très bonne	entier	moyenne	très appétent, mais trop d'éléments grossiers pour le stade considéré, à essayer entier sur des juvéniles plus âgés
15	11/10	Krill pacifica	faible	très bonne	broyé	faible?	trop petite taille, voir autre méthode de broyage ou préparation
16	4/10	lance fish	faible	bonne	broyé	bonne	pourrait remplacer les moules, à tester sur adultes
16	10/10		faible	bonne	broyé	bonne	pourrait remplacer les moules
17	16/10	tropical shrimp			broyé		aliment flottant à tester en entier sur adultes
18	17/10	pangasius			broyé		aliment flottant à tester en entier sur adultes

2.6.5.3 Rationnement

Les rationnements ont d'abord été établis de façon empirique. Nous nous sommes placés dans une situation d'excédent volontaire. La ration a ensuite été abaissée progressivement, tout en contrôlant l'incidence sur les gains de poids, jusqu'à trouver la situation d'équilibre.

Début octobre le rationnement journalier en chironome a été fixé à 10% de la biomasse et le rationnement en broyat (moules crevettes) à 25,1 %. Au cours de l'élevage, le rationnement en chironome a été porté à 9%. L'utilisation du broyat a été largement diminuée jusqu'à 6 % de la biomasse (utilisation alors exclusive de mysis).

Le rationnement a été actualisé chaque semaine en fonction des pesées de contrôle, ou du prévisionnel de croissance.

2.6.5.4 Préparation des repas, mode et rythmes d'alimentation

Les repas sont préparés chaque jour durant la semaine, et d'avance pour les week-end. Des récipients attribués à chacun des bassins sont utilisés. Ils sont rincés tous les jours et désinfectés une fois par semaine.

Les portions sont réalisées le matin, à partir de la matière brute (découpée et pesée), sous sa forme congelée. Le nombre de repas a été arrêté à 2 par jour. Le repas prévu pour le soir est stocké au congélateur. Les rations sont décongelées avec de l'eau des bassins concernés, juste avant leur utilisation (temps d'attente proche de 20 mn pour la décongélation).

La distribution ne peut être mécanisée (utilisation de distributeurs) compte tenu de l'origine des produits (denrées naturelles décongelées, collantes, avec des risques importants de contaminations bactériennes). Elle s'effectue donc manuellement, le mélange proies eau est

versé en périphérie des bassins. Pour limiter les pertes, il semble préférable de distribuer la ration en 2 fois en respectant un intervalle de l'ordre de 15 à 20 mn.

La pente des bassins, la taille et position de la grille d'évacuation, les vitesses de courant (liée à l'orientation des arrivées d'eau) ont une incidence sur les pertes d'aliments.

2.6.5.5 Contrôle de l'état de santé

L'observation des poissons est un élément clef de la gestion sanitaire. Le contrôle de l'état de santé s'effectue en routine par des observations visuelles (état sanitaire externe, embonpoint, suivi des comportements, positionnement dans les bassins, déplacements, suivi de l'alimentation). Ces observations sont réalisées essentiellement au moment des nettoyages et du nourrissage. Leur fréquence est augmentée en cas d'apparition de symptômes alarmants ou de modifications concernant la gestion de l'élevage.

Les manipulations de poissons (transferts, tris, marquages, pesées, traitements..) parfois réalisées sous anesthésie, sont des moments privilégiés pour valider les observations et orienter la gestion de l'élevage. Il est donc important durant ces opérations que soient associés les personnels en charge des élevages.

La mise en place d'indicateurs simples de l'état des poissons (embonpoint, état des nageoires, taux d'engraissement ..) est indispensable pour disposer de données quantitatives. Ce sont des outils primordiaux d'aide à la décision. Ces indicateurs doivent être comparés aux données de référence recueillies sur des individus en milieu naturel. Nous ne disposons pas de ce type de références pour la zone fluviale. Les différentes expérimentations menées cette saison ont toutefois permis d'obtenir les premiers éléments sur la variabilité des embonpoints (Tableau 13).

2.6.5.6 Suivi des croissances, distribution des poids

La croissance en poids des différents lots a été suivie par des pesées réalisées sur des échantillons de 30 individus.

Le gain de poids observé entre chaque pesée correspond au taux de croissance. Nous l'avons exprimé en % de gain de poids par semaine (durée entre 2 pesées). L'IC (indice de consommation) n'a pas été calculé, compte tenu des difficultés d'appréciation des quantités d'aliments réellement consommées durant les premiers mois de l'élevage.

Les poissons en élevage n'ont été mesurés que lors des opérations de marquage. Il n'a donc pas été possible d'apprécier les embonpoints et leur évolution au cours des premiers mois d'élevage.

On observe des différences significatives de croissance en fonction de l'origine des lots (Figure 26). Les croissances les plus faibles sont observées dans les lots utilisés lors des expérimentations précoces de sevrage (bassins B2, B4, B6). La sous nutrition semble donc avoir des effets à long terme, difficilement réversibles.

Tableau 13 Etat de l'embonpoint des poissons au moment du marquage

bassin	Maintien alimentation naturelle			Essais de sevrage					
	B1	B3	B7	B2	B4	B5	B6	B8	B9
effectifs	128	119	58	72	100	137	147	25	25
âge (j)	266	293	281	258	261	226	259	217-230	217-230
moy des K	0,5	0,49	0,53	0,5	0,45	0,51	0,45	0,54	0,53

D'abord exponentielles les croissances prennent une allure linéaire à partir de 110 jours (Voir Fig 2).

D'abord très forts, les taux de croissance se réduisent significativement dès la fin octobre (fin de la phase de croissance exponentielle). Les valeurs les plus basses sont essentiellement à mettre en rapport avec des modifications du régime alimentaires (changement dans les types ou tailles de proies).

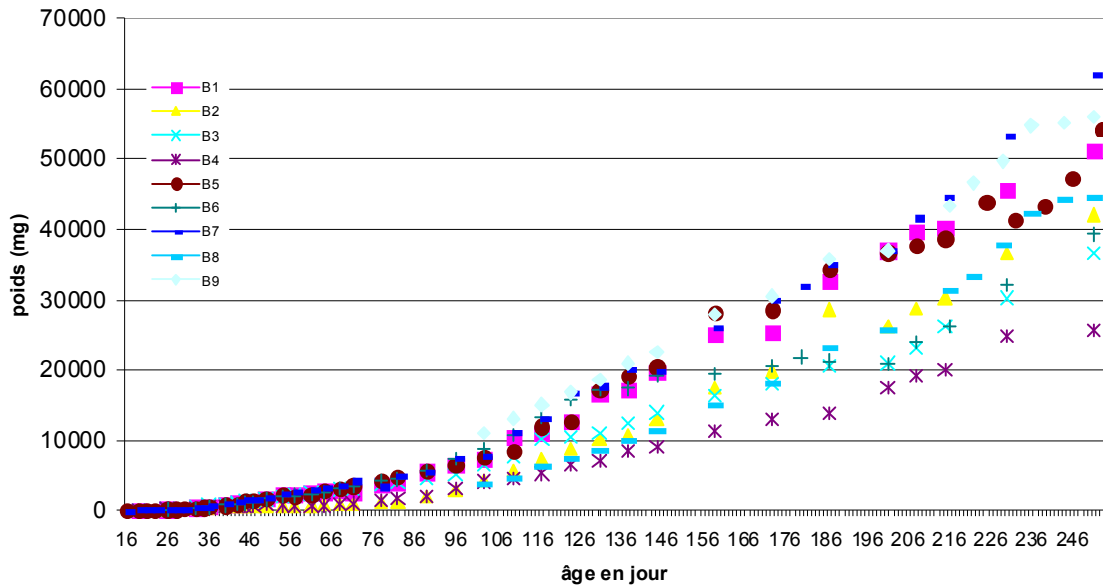


Figure 26 Evolution du poids moyen des individus des différents lots

Des diagrammes de distribution des poids ont été établis pour chacun des lots suivis à partir des échantillonnages (voir Figure 27 pour un exemple).

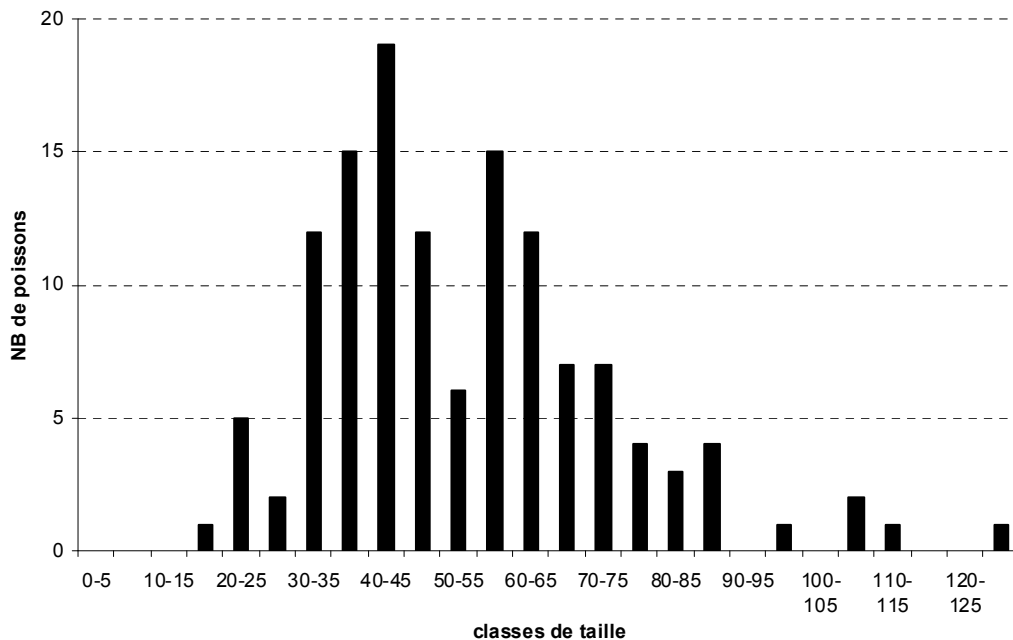


Figure 27 Exemple de structure en poids d'un lot de juvéniles de *A. sturio* (bassin B1, J265)

On constate des variations dans le temps de cette distribution, qu'il reste à analyser (effet de la compétition, facteurs nutritionnels, génétiques...). Il sera possible de s'appuyer pour cela sur le suivi des croissances individuelles en cours (grâce au marquage).

Compte tenu de la grande qualité et stabilité de l'eau d'alimentation, seuls les principaux paramètres d'élevage (débit, température, oxygène, biomasse ont été suivis). Aucun de ces paramètres n'a jamais été limitant (Température proche de 17°C, oxygène compris entre 7,5 et 8,5 mg/l).

2.6.6 Essais de Sevrage :

2.6.6.1 Objectifs poursuivis

Il s'agit d'améliorer les méthodes d'alimentation pour la création de stocks de géniteurs enfermés et la production de juvéniles pour le repeuplement.

Les difficultés liées à l'utilisation de proies naturelle pour les juvéniles ont été décrites précédemment. L'utilisation d'un aliment inerte au stade le plus précoce possible est indispensable pour assurer la production à grande échelle de sujets de repeuplement et assurer un développement optimal des géniteurs enfermés.

Les pertes concernant les jeunes stades de poissons se situent essentiellement lors du passage de la nourriture endogène à la nourriture exogène. Après épuisement des réserves vitellines, l'individu dispose de capacités à jeûner limitées (variable selon les espèces). Il doit donc rapidement apprendre à chasser et trouver les proies nécessaires à son développement. L'absence de proies ou la présence de proies mais de taille inadaptée, des difficultés pour chasser (modifications hydrologiques..) peuvent conduire à des mortalités quasi totales.

Pour une même espèce, les alevins de grande taille (issus de gros œufs) ont des chances supérieures de survies, car ils peuvent notamment jeûner plus longtemps.

Il existe pour chaque espèce des optimum de températures permettant d'assurer la meilleure vitesse de croissance de l'embryon et d'optimiser le rendement de transformation du vitellus en masse corporelle.

L'aptitude au changement alimentaire des larves dépend donc de la qualité des œufs dont ils sont issus (taille, réserves protéiques et lipidiques..) et des conditions thermiques rencontrées durant l'embryogenèse et les premiers stades larvaires.

La maîtrise en élevage de la qualité des géniteurs (âge, état d'engraissement..) et des conditions thermiques peut donc permettre d'assurer sur le long terme une fiabilité de la production de larves. Ce n'est pas le cas en milieu naturel ou la variabilité des conditions environnementales peut poser problème pour la qualité des géniteurs et la survie des larves.

2.6.6.2 Conséquences sur les choix en matière d'élevage et de repeuplement :

Le facteur alimentation des géniteurs est un des facteurs clef du succès de la maturation sexuelle et de la qualité des larves produites.

Il est donc indispensable d'avoir des indicateurs fiables du succès de l'alimentation. Cela passe en premier lieu par la connaissance des quantités réellement consommées et des pertes. Les pesées permettent de se renseigner précisément sur l'évolution des poids. Elles doivent être toutefois limitées en raison du stress qu'elles engendrent.

Les températures adoptées au cours de l'embryogenèse et du développement des larves doivent se caler sur le milieu naturel. Il serait intéressant d'effectuer une recherche plus fine des optimum si la disponibilité en œufs le permet.

L'utilisation de larves non nourries pour les repeuplements est délicate. Cette stratégie est choisie pour des raisons économiques (cycle d'élevage très court) et la possibilité de produire un nombre très important de larves sans surcharger les éclosiers.

Elle présente des difficultés majeures : les transports ne peuvent s'effectuer en cuves (petite taille des larves) et demandent beaucoup de personnels sur une courte période. Il n'est pas possible de choisir la date de lâcher qui dépend spécifiquement du développement des larves (conditions naturelles pas forcément favorables au moment du lâcher). Enfin il est très difficile d'apprécier le degré d'utilisation des réserves, qui influe sur les capacités de nage et d'alimentation. Les alevins doivent être largement dispersés dans le milieu naturel pour limiter la prédation.

Les résultats de ce type d'alevinage sont donc très aléatoires. Ils s'entendent essentiellement pour des sites ou modes de production, en prise directe avec le milieu récepteur (synchronisme parfait entre conditions d'élevage et naturelles).

Le déversement de larves nourries peu de temps apparaît comme un bon compromis entre coût économique et capacités de survie en milieu naturel. Le stade délicat de l'apprentissage alimentaire est passé. Les larves ont des réserves leur permettant de jeûner. Elles n'ont pas encore acquis de comportements domestiques, compte tenu du peu de temps passé en structures artificielles.

Pour des déversements de juvéniles réalisés plus tardivement (été ou automne) se posent les problématiques d'adaptation au milieu naturel et de richesse des ressources trophiques (éclosions des larves d'insectes principalement au printemps). Des aménagements peuvent être réalisés dans les structures d'élevage pour limiter la perte des comportements sauvages.

Les sujets peuvent être élevés jusqu'à la période de dévalaison. Cette technique est employée pour le saumon atlantique où les poissons sont conservés jusqu'au stade pré smolt. Cela permet d'éviter les mortalités importantes rencontrées durant la phase eau douce. Cette stratégie est coûteuse (durée du cycle d'élevage). Elle est essentiellement choisie pour l'obtention de retours rapides. Il y a un manque de connaissances concernant les performances des sujets lors du passage en mer pour l'optimisation de la filière.

2.6.6.3 Sevrages précoces

Des sevrages précoces dès 25 jours ont été tentés sur 2 lots de larves (Voir action 19). Pour les poissons concernés (bassins B2 et B4), l'aliment paraissait ingéré, mais non assimilé. Le développement des larves et juvéniles a été affecté. Pendant plusieurs mois, les poissons sont restés apathiques, leurs déplacements étaient très limités y compris pour l'accès à la nourriture et ils ont montré une sensibilité particulière à la lumière (fuite et maintien en périphérie du bassin).

Il serait bon de disposer de connaissances sur la cinétique de mise en place des fonctions digestives au cours du développement larvaire.

Le choix d'un sevrage lent semble devoir être privilégié (alternance progressive de proies vivantes, proies congelées et micro particules artificielles). Le suivi des lots maintenus sur proies naturelles a montré que l'adaptation aux changements alimentaires est difficile et lente. Appétibilité, taille et texture des proies interviennent de façon déterminante.

Les juvéniles maintenus sur proies naturelles en captivité ont essentiellement consommé des larves de chironomes. Des aliments de sevrage fortement digestibles doivent donc être employés. L'utilisation de PPH (protéines de poissons hydrolysées) en complément des micros particules artificielles serait à tester.

Du point de vue des conditions d'élevage on peut se demander si l'utilisation d'eau de forage (eau faiblement chargée en bactéries, température stable) n'intervient pas défavorablement dans le développement des fonctions digestives. Il serait intéressant de mener des essais comparatifs de sevrage sur eau de rivière et eau de forage.

2.6.6.4 Sevrages tardifs

Compte tenu de l'échec des sevrages précoces, de nouveaux essais ont été réalisés sur des poissons plus âgés (de 145 jours pour les premiers essais à 260 jours). L'objectif était de sevrer un maximum de sujets (bassins 2, 4, 6, 7, 8, 9) pour faciliter l'élevage, tout en conservant des effectifs (bassins 1, 3, 7) sur alimentation naturelle.

Deux méthodologies de suivis complémentaires ont été adoptées pour l'évaluation des essais de sevrage. Une première méthode basée sur des observations comportementales pour valider les aspects d'appétence et d'ingestion des aliments. La seconde basée sur des pesées régulières pour quantifier l'évolution du poids.

Différentes séquences comportementales ont été décrites en rapport direct avec l'alimentation :

- Mise en activité et formation de bancs pour la recherche de nourriture.
- Excitation (accélération de la nage et recherche de nourriture) à proximité d'aliments appétants.
- Brusque sursaut de la tête lors du passage sur un aliment trop gros ou trop dur à ingérer.
- Adoption d'une nage très contrôlée et forte augmentation de la fréquence de battements operculaires lors de la phase alimentaire.
- Mouvements de nage désordonnés (villes, nage sur le dos, se laisse flotter..) après un jeûne prolongé.

Deux autres comportements non reliés spécifiquement à la phase alimentaire ont été fréquemment observés :

- Accélération très rapide de la nage en surface pour un petit nombre d'individus (attribuée à une réaction de fuite ou d'excitation).
- Poissons en position verticale, avec la tête hors d'eau et agitation de la queue (prospection, recherche d'aliments..?).

Le préalable aux essais de sevrage était de ne pas compromettre le développement ultérieur des juvéniles. Nous sommes dans un contexte particulier d'expérimentation, les sujets utilisés devant constituer le futur stock de géniteurs enfermés. Les limites fixées étaient donc de ne pas atteindre le point de non retour (mortalités après jeûne trop prolongé) et de conserver aux poissons des possibilités de récupération. Cela a conduit à fixer des limites concernant la perte de poids (variables suivant le PM des sujets) à partir des suivis de croissance. C'est ainsi que pour des juvéniles de 20g de PM, une perte de poids de l'ordre de 10 % à 15 % sur une semaine a été adoptée comme limite maximale.

Sept aliments artificiels différents ont été testés pour des essais de sevrages directs et progressifs en auges (cf. Tableau 14). Ils ont été choisis notamment pour leur forte teneur en protéines. Les granulométries sont proches de 1 mm. L'aliment N° 4 de granulométrie significativement plus importante a été concassé manuellement. On distingue 2 types très différents d'aliments. Les aliments 1, 3, 4, 5, 6, 7 sont fabriqués selon les schémas standards à partir de farines. L'aliment n° 8 est composé de microcapsules intégrant directement de la chair de poissons.

Huit lots de 19 individus ont été constitués à partir des poissons du bassin B6 (âgés de 145 jours). La répartition des poissons a été réalisée de façon aléatoire dans huit auges différentes. Le lot témoin a été placé dans l'auge 2, le numéro d'aliment étant attribué aux autres auges.

Les poissons ont semblé « peu à l'aise en auges ». Cela est à mettre en rapport avec le changement brutal de conditions d'élevage (absence de courant circulaire, faible hauteur d'eau..). La présence des soigneurs a été plus fortement ressentie (observation de nombreux

comportements de fuite). Cela n'a toutefois pas semblé intervenir significativement sur les comportements alimentaires si l'on s'en réfère à la croissance du lot témoin.

Tableau 14 Caractéristiques des aliments testés

TAB 4 : Descriptif des aliments utilisés

	1 Crumble stur	3 bio opt start	4 écostart 74	5 NRD	6 marine start	7 gemma PG	8 caviar
type	extrudé	extrudé	extrudé	extrudé	extrudé	extrudé	mcapsules
taille	1,2-1,5	1,1 mm	1,9 mm	1,2 à 2 mm	0,5-0,8	1,2 mm	0,8 mm
mat sèche							
protéine	58%	56%	56%	59%	64%	52%	50%
lipids	12%	18%	18%	16%	12%	20%	15%
cellulose	0,50%	0,40%	0,30%	1%	0,20%	0,60%	2%
crude cendre	11%	11%	12,20%	12%	11%	10%	20%
calcium							2%
phosphore	1,60%	1,60%	1,53%	1,70%	1,60%	1,30%	1,50%
met+ cist			2,36%		2,80%		
Lysine					4,20%		
vit A	22500 IE/kg	9 000 UI/ kg	7500 UI/kg	30 000 UI/kg	17 000 UI/kg	15 000	20 000 UI/kg
Vit D3	2000 IE/kg		1500 UI/kg	2500 UI/KG	3 000 UI/kg	1125 UI/kg	4000 UI/KG
Vit E	200 IE/kg	400 mg/kg	260 mg/kg	400 mg/kg	500 mg/kg	225 UI/kg	400 PPM
VIT C	300 IE/kg		500 PPM	2000 MG/kg	2000 mg/kg		1100 ppm
CU	2,5 mg/kg			5 mg/kg		9 ppm	

L'essai de sevrage direct a démarré le 19 novembre 2007. Il a été arrêté après une semaine. En effet le résultat des pesées montrait que les poissons en expérimentation avaient en moyenne perdu 12 % de poids en une semaine (Tableau 15). On observe une hétérogénéité dans les pertes (de - 9 % à - 14 %) sans qu'il soit possible de se prononcer sur un éventuel effet aliment. Le poids moyen du lot témoin avait quant à lui progressé de 10 % sur la même période.

La semaine suivante, les poissons ont été remis sur régime alimentaire naturel. La remise en forme a fonctionné. La moyenne des gains de poids observée après une semaine s'est établie à 13 %.

Compte tenu des observations précédentes, il a été décidé de démarrer des essais en Co feeding. Les différents aliments naturels et artificiels ont été mélangés entre eux (ajout d'eau) avant distribution (expérience n° 3). Le mélange a été réalisé à l'aide d'un batteur manuel sans déstructuration des différents composants.

La ration de chironome a été diminuée pour forcer le passage à l'alimentation artificielle.

Avec cette méthodologie, la taille des particules artificielles reste adaptée, le mélange trempage ramollit l'aliment artificiel qui absorbe des éléments issus des proies naturelles.

Ce régime a été testé sur une période de 3 semaines.

Il est apparu particulièrement lourd à gérer compte tenu du temps à consacrer aux préparations (7 aliments différents, incorporation des proies naturelles, 2 repas par jour).

Des croissances positives et homogènes, mais relativement faibles ont été observées (moyenne de 3,6 %) proches de la moitié de celle du lot témoin.

Il a alors été décidé de poursuivre les essais en retirant les chironomes (expérimentation 4), en imbibant les aliments à partir de jus de chironome, mais en conservant le broyat de crevettes.

Après une semaine les poissons avaient cette fois perdu du poids (-5 %) dans des proportions donc bien plus faibles que celles observées la première semaine.

Cela a conduit à se poser la question de l'intérêt du broyat de crevettes. L'expérience a été poursuivie une semaine de plus (expérimentation 5) en retirant le broyat de crevette. Les poissons ont à nouveau perdu un peu plus de 3 % de poids.

Les essais ont alors été à nouveau interrompus car nous étions proches de la limite de pertes de poids fixée. Les poissons ont à nouveau été remis en forme et seulement 3 lots ont été conservés (le lot témoin, les lots A8 et A1).

De ces premiers essais, il ressort que nos juvéniles sont capables de jeûner une semaine (perte de poids de 10 à 15 %) sans dommages irréversibles. Cette limite basse a donc été jugée comme acceptable et retenue pour nos expérimentations.

Cette perte de poids peut être rattrapée en une semaine avec l'adoption d'un taux de rationnement de 9 à 10 % en larves de chironomes.

Les gains de poids ont été uniquement réalisés à partir de l'ingestion des larves de chironomes. Les mélanges réalisés, le rationnement des proies naturelles, n'ont pas conduit les poissons à changer de régime alimentaire. Les observations visuelles ont montré que la taille, la texture et la durée d'attractabilité de l'aliment intervenaient de façon déterminante dans le choix des juvéniles. Les aliments artificiels ne sont restés attractifs que pendant une faible durée après distribution. Cela était très marqué pour les aliments enrobés, difficiles à « imprégner ». Les caractéristiques physiques de l'aliment (capacités d'absorption) sont apparus plus déterminantes que leur composition pour le succès de la prise alimentaire.

Un dernier essai de sevrage en auge a alors été mené, pour tester une nouvelle formulation alimentaire. 2 aliments ont été conservés (aliments 1 et 8) tous deux typés marin (présence de krill), mais très différents du point de vue des process de fabrication (voir plus haut).

Des mélanges ont été réalisés associant les aliments avec un attractant (poudre de krill) et un liant (alginate) l'ensemble étant imbibé de jus de chironomes.

Les résultats se sont une nouvelle fois avérés négatifs. Une perte de poids de l'ordre de 10 % après une semaine a été observée pour chacune des deux préparations. Les mêmes aliments présentés à des poissons en conditions d'élevage semblaient pourtant être ingérés. Il nous a donc semblé y avoir au moins l'intervention d'un effet poissons.

Les sujets en expérimentation depuis 2 mois n'étaient plus dans la même dynamique de recherche de nourriture que ceux en élevage. Il a donc été décidé de poursuivre les essais de sevrage en intégrant 2 nouveaux éléments :

- Utiliser des individus en bonne forme, dans leur enceinte d'élevage pour ne pas perturber les phénomènes sociaux (dont la compétition pour l'accès à la nourriture).
- Concevoir un aliment ayant une meilleure capacité d'attractabilité dans le temps.



Figure 28 Illustration de l'alimentation en auges (à gauche) et en bassin sub carré (à droite)

Tableau 15 Bilan des tests de sevrage

Num manip	Mode nourrissage	date pesée	Gains de poids moy des % par semaine hors témoin)	
1	sevrage brutal: aliment artificiel	19/11/07	-12,05	
		26/11/07		
2	remise en forme : pâte + chiros	26/11/07	11,58	
		03/12/07		
3	sevrage prolongé (20j) mélange: alim art+broyat+chiros limités	03/12/07	3,64	
		10/12/07		
		10/12/07		
		17/12/07		
		17/12/07		
		TOTAL 3		
4	sevrage mélange: jus chiros+alim art+broyat	24/12/07	-5,32	
		31/12/07		
5	sevrage aliment imbibé seul: Jus chiros+alim art	31/12/07 07/01/08	-3,29	
6	remise en forme: Jus chiros+alim art (8r/J)+chiros (4 j)	07/01/08	7,51	
		14/01/08		
		nourrissage témoin normal chiros et crevettes	14/01/08 21/01/08	1,67
7	nourrissage témoin uniquement crevette dans A2 T	22/01/08	-9,69	
		28/01/08		
8	aliment spécifique avec liant (alginate)	22/01/08	-10,20	
		29/01/08		
9	utilisation uniquement de myzis sur témoin	29/01/08	3,01	
		04/02/2008		
		04/02/2008		
		11/02/2008		
		18/02/2008		

Le premier essai de sevrage progressif a été réalisé dans le bassin B5, choisi pour sa bonne dynamique alimentaire. Les suivis ont été favorisés par le marquage individuel (pit tag) des poissons.

Un aliment conçu spécifiquement a été utilisé. Un co feeding a été réalisé pendant les 15 premiers jours, sans baisse du rationnement en proies naturelles. L'aliment artificiel préparé a été distribué seul à partir de la 3^{ème} semaine (rationnement de 2 %).

De résultats satisfaisants ont été observés qui ont conduit à étendre le sevrage aux autres bassins B2 (regroupant également B8 et B9), B4 et B6. Les expérimentations se poursuivent actuellement. Elles donneront lieu à une nouvelle présentation.

L'aliment a été conçu à partir des enseignements des expériences précédentes.

L'utilisation de granulés de taille inférieure aux standards habituellement employés facilite la prise alimentaire dans le cas de sevrage tardif. Cela se vérifie également pour l'alimentation d'individus malades, en convalescence ou en cours de maturation. L'aliment doit avoir une consistance molle et être fortement attractant.

Du point de vue de la composition, de forts taux de protéines doivent être recherchés. C'est le cas dans les vers et crevettes, ou la part des lipides ne représente pas plus de 4 %. Les carapaces de crevettes apportent minéraux et divers éléments permettant la fabrication du squelette cartilagineux. L'hémoglobine (constituant dominant dans les vers) est très riche en protéines hautement digestibles et en fer.

L'aliment conçu est en fait un assemblage (aliments, attractants). Il n'est destiné à être utilisé que pendant une phase transitoire avant passage sur aliment standard. Il est composé des trois aliments « typés mer », pris dans des gammes complémentaires de granulométrie, ainsi que de deux attractants.

Les attractants (poudre de krill et poudre d'hémoglobine) sont incorporés à deux niveaux de telle sorte que leur temps d'action soit renforcé. Ils permettent un fort rapprochement avec le régime proies naturelles. Les besoins énergétiques sont largement couverts. L'un des aliments est prévu pour être utilisé seul par la suite.

La fabrication est réalisée en deux étapes principales.

- Etape 1 : forte hydratation et association des différents aliments.
- Etape 2 : séchage superficiel et enrobage par un attractant périphérique.

Les différents aliments et la poudre de krill sont d'abord mélangés. Un jus d'hémoglobine est rajouté qui permet l'hydratation et la liaison entre les différents composants. Après séchage de courte durée de la poudre d'hémoglobine est rajoutée en enrobage, fixée par de l'huile de poissons. Le taux d'humidité final est proche de 30 %. L'aliment est conditionné par quantités de 190 g, en couches épaisses, dans des pots fermés hermétiquement. Il est stocké au réfrigérateur et utilisé dans les 2 jours. Tout cela contribue à lui conserver son taux d'humidité et d'appétibilité.

Compte tenu de ses caractéristiques physiques (couleur noire, texture, humidité) il a reçu l'appellation de « terreau ». L'hémoglobine d'abord issue des larves de chironome a été rapidement remplacée par de l'hémoglobine de porc. Nous avons fixé à 10% son taux d'incorporation. Contrairement à l'utilisation d'hémoglobine de chironome, il s'agit d'un produit alimentaire industriel dont les différents composants sont parfaitement contrôlés.

Des pesées individuelles ont été réalisées chaque semaine dans le bassin B5 pour vérifier l'évolution des poids. Après arrêt d'utilisation des proies naturelles, les poissons qui prenaient du poids ont été considérés comme sevrés. A quelques exceptions près il n'y a pas eu par la suite de pertes de poids chez ces poissons.

La question s'est posée de séparer les individus sevrés (reconnaissables par leur numéro de marque) de ceux qui ne l'étaient pas, pour limiter la compétition alimentaire. Cette option n'a pas été retenue, pour ne pas risquer d'entamer la dynamique alimentaire. C'est le retrait des individus montrant un trop fort amaigrissement au fil des semaines (perte proche de 15 % du poids initial) qui a été choisi. Des distributions manuelles d'aliments, en plus des distributions automatiques ont été réalisées, pour limiter la compétition.

Les résultats en terme de taux de sevrage sont indiqués dans le Tableau 16.

Après un recul lié au changement alimentaire, les taux de croissance progressent largement (Figure 29). Fin mars, la moyenne des croissances hebdomadaires dans le bassin B1 sur proies naturelles est proche de 14 % contre 24,5 % dans le bassin B5 sevré. Cet écart de plus de 10% est probablement lié à la différence de qualité des aliments employés. Toutefois, le rationnement et le mode de distribution (en continu dans le cas de l'aliment artificiel) doivent également intervenir. On peut penser que l'augmentation du nombre de repas (pour les poissons nourris avec des proies naturelles) permettrait d'améliorer sensiblement les croissances. Cela est malheureusement difficile à mettre en place pour des raisons pratiques déjà évoquées.

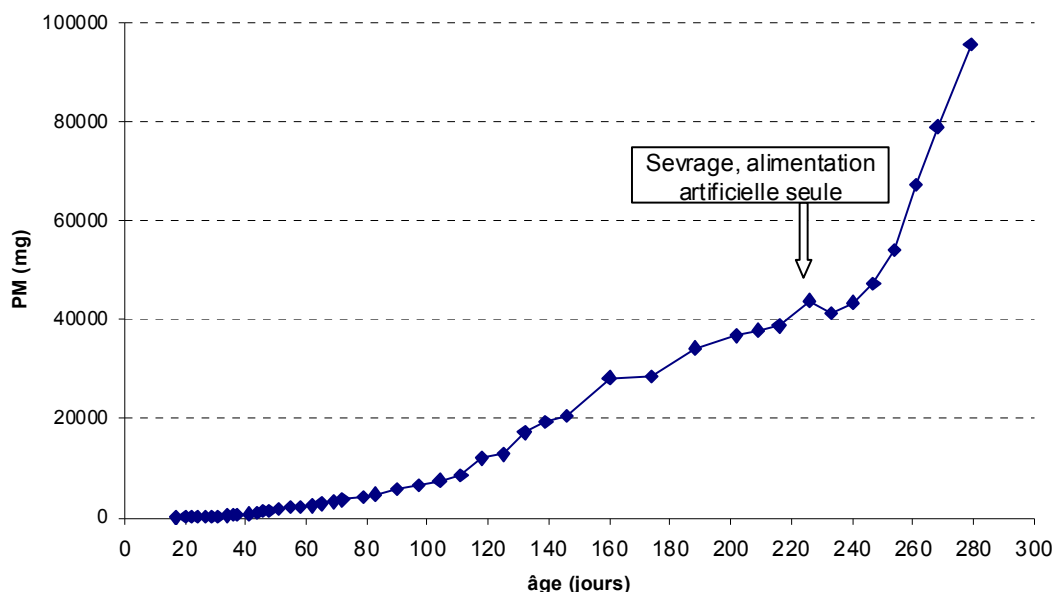


Figure 29 Evolution du poids moyen des juvéniles *A. sturio* du bassin B5 au cours de l'expérimentation de sevrage.

Tableau 16 Evolution du taux de sevrage du bassin B5

date contrôle	14/2	21/2	28/2	6/3	13/3	20/3
nb de nouveaux individus avec prise poids>0 /semaine	11	49	17	8	7	9
nb cumulé d'individus avec prise de poids>0 /semaine	11	60	77	85	92	101
nb restant à sevrer/semaine	136	125	71	54	29	21
% de sevrage/ semaine	8,09	39,20	23,94	14,81	24,14	42,86
% de sevrage cumulé/ semaine	8,09	44,12	56,62	62,50	67,65	74,26

Le sevrage avec l'aliment « terreau » dans l'ensemble des bassins testés (B2, B4, B6) semble en bonne voie. Le co feeding paraît donner de meilleurs résultats que le sevrage brutal.

L'état de départ du stock à sevrer (embonpoint, dynamique d'alimentation) doit être pris en compte pour fixer la durée du co feeding et les rationnements retenus. La moyenne des embonnements est considérée comme correcte lorsque $K \geq 0,5$

Grâce au suivi individuel de croissance, il est possible de déterminer la part de poissons sevrés, sans avoir à stopper l'apport en nourriture naturelle. Cela devrait faciliter la gestion du sevrage en limitant l'apparition d'individus très amaigris.

Il apparaît nécessaire de maintenir les taux de croissance des individus sevrés, proches de ceux observés en milieu naturel. Il est en effet généralement admis que les individus ayant une surcharge pondérale sont fragiles et donc plus sensibles aux pathologies comme les phénomènes de torsion observés il y a quelques années sur des sujets sevrés (après 17 mois d'élevage) entraînant des pertes élevées. Dans le cas de sevrage tardif, ce risque est important. On soumet en effet des poissons dont la constitution peut être fragilisée (carences alimentaires), à une brusque accélération du développement somatique.

Il convient donc de s'assurer d'un rythme cohérent de croissance. Le meilleur indicateur du bon état de forme est l'embonpoint, qu'il faut conserver proche de celui des individus en milieu naturel. Cela passe par l'adoption d'un régime thermique naturel, le contrôle des vitesses de courant, du rationnement et des tris. Une attention particulière doit être apportée à la qualité de l'aliment, notamment la composition en sels métalliques qui interviennent dans le renforcement des cartilages.

Des questions se posent quant aux conditions d'élevage particulières à mettre en place l'année n+1, en rapport avec le cycle naturel de l'espèce. L'étude des taux d'hormones liées à l'osmorégulation permettraient d'orienter les choix zootechniques.

2.6.7 Marquages individuels

Des marquages par pit tag ont été réalisés pour l'essentiel en février mars. Ils sont indispensables pour la gestion de l'élevage (suivis du stock, de la répartition, des croissances, du nourrissage, des mortalités, gestion sanitaire..) et les expérimentations.

2.6.7.1 Méthodologie employée

Nous disposons de marques (Pit tag) dans des aiguilles sous emballage stériles, et de matériels équivalents préparés sur place, désinfectés (alcool à 90°) et séchés (étuve).

Les poissons sont anesthésiés par groupe de 3 à 4 dans une solution d'eugénol, marqués, puis réveillés.

Un pistolet injecteur ou une seringue sont indifféremment utilisés pour le marquage. Avant utilisation, la pointe de chaque aiguille est trempée dans de la vétédine. Une désinfection de la peau (vétédine) avant injection a été le plus souvent réalisée. C'est un point particulier à recommander (voir résultats). La marque est injectée flanc gauche, à environ 1 cm de l'opercule, sur la médiane séparant écussons osseux dorsaux et latéraux. Une très légère inclinaison est donnée à l'aiguille de façon à passer plus facilement sous la peau, tout en restant à sa proximité. La partie inférieure de la marque est poussée à une distance d'au moins 3 à 4 mm du point d'injection. Une injection pas assez profonde limite, voire empêche la cicatrisation.

2.6.7.2 Résultats, observations

En date du 16 avril 2008, 684 individus ont été marqués (

Tableau 17). Aucun phénomène de déformation ou torsion n'est encore apparu. Les limites en deçà desquelles les marquages sont difficiles à réaliser se situent en dessous de 16 cm pour les tailles et 20 g pour les poids.

Les pertes de marques ont varié entre 0,7 et 10 % des effectifs marqués. 3 à 4 % devraient constituer la limite haute. Les plus mauvais résultats ont été observés lorsque la marque n'a pas été injectée suffisamment loin du point d'injection et sans désinfection préalable de la peau. Dans ce cas, la cicatrisation n'est pas possible et l'on peut voir apparaître des infections.

Les mortalités (2 poissons) sont restées très limitées. Les pathologies déclenchées, en cours de traitement, sont en bonne voie de guérison.

Tableau 17 Suivi des opérations de marquage (situation au 14 avril 2008)

bassin	dates marquage	nb poissons	nb marqué	mortalités	taux pertes marques (%)	taux d'infection (%)
B8	29/01/07-11/02/08	25	25	0	8,00	0,00
B9	29/01/07-11/02/08	25	25	0	4,00	0,00
B5	07/02/2008	137	135	0	0,74	0,00
B2	10/03/2008	120	120	0	3,33	1,67
B6	11/03/2006	147	147	0	2,04	0,68
B4	13/03/2008	101	94	1	8,51	9,57
B1	18/03/2008	129	129	1	10,08	6,98
B7	02/04/2008	58	58	0		

2.6.8 Conclusion et perspectives :

La maîtrise complète du cycle d'élevage de l'esturgeon européen est nécessaire pour la mise en place des repeuplements. La reproduction effectuée en juin 2007 a permis de mener des expérimentations sur les élevages larvaires et le pré-grossissement des juvéniles. Environ 800 poissons ont été conservés à la station de Saint Seurin.

Le contexte expérimental était particulier, puisque une partie de ces poissons est destinée à assurer le renouvellement du stock de géniteurs ex situ. Des limites ont été fixées pour les pertes de poids de façon à ne pas atteindre le point de non retour. Cela a permis d'éviter les mortalités au cours des différents essais menés.

Deux types d'alimentation ont été étudiés séparément (utilisation de proies naturelles et d'aliments artificiels). L'effort essentiel de recherche a porté sur le sevrage. Le recours à l'alimentation inerte est en effet nécessaire pour assurer une production de masse.

L'utilisation de proies naturelles ne peut se concevoir que dans un objectif de conservation d'effectifs réduits. Les contraintes sont nombreuses. Elles tiennent essentiellement au mode de conservation, à la variabilité des aspects quantitatifs et qualitatifs. La possibilité de contamination des produits pose également un problème pour leur utilisation. Il n'a jamais été possible de se procurer de données fournisseurs concernant cet aspect.

L'appétabilité de nombreuses proies a été testée. Un régime constitué de larves de chironomes, complété par des jeunes stades de crevettes semble permettre un bon développement des juvéniles. Il permet d'apporter de forts taux de protéines, des sels minéraux et métalliques, ainsi que les éléments permettant la constitution du squelette cartilagineux. Le taux de rationnement retenu est de 9 % de la biomasse pour les vers et 6 % pour les mysis.

L'utilisation de broyats de crevettes n'est pas à recommander compte tenu de la dureté des particules et des risques sanitaires liées à la préparation.

Les difficultés liées à la préparation et distribution des proies naturelles conduisent à limiter le rationnement journalier (2 repas par jour). L'augmentation de la fréquence des repas permettrait très probablement d'améliorer les croissances.

Les essais de sevrage précoces n'ont pas donné de bons résultats. Il serait bon pour progresser de mener des recherches sur la cinétique de mise en place des fonctions digestives chez nos esturgeons.

Des essais de sevrage tardifs (à 145 jours) ont été lancés. Sept aliments différents ont été testés à partir d'alevins conservés en auges.

L'évaluation a été réalisée via des suivis comportementaux et des pesées hebdomadaire,. Des séquences comportementales spécifiques ont été décrites.

Au total six expérimentations successives ont été menées. Les « recettes » habituellement employées ont été testées sans résultats. Les informations recueillies ont toutefois permis de mettre en évidence la nécessité de disposer à la fois, d'un aliment spécifique ainsi que de poissons présentant une bonne dynamique alimentaire.

Des critères de référence concernant les limites acceptables de pertes de poids, le bon état de forme en fonction de l'âge ont été établis.

Un aliment appelé « terreau » a alors été assemblé sur place. Il intègre différents composants dont l'hémoglobine de porc et la poudre de krill. Il a été conçu comme élément de transition avant passage sur un aliment standard. Les premiers essais réalisés ont permis d'obtenir un taux de sevrage de 75 %. La méthode du co feeding, dont la durée est à adapter à l'état de forme des poissons semble fonctionner avec cet aliment.

Des écarts très significatifs pour les taux de croissance ont été observés entre effectifs sevrés et non sevrés. Ces taux de croissance doivent être maintenus à des niveaux proches de ce qu'ils sont en milieu naturel, pour limiter l'apparition de pathologies.

L'ensemble des poissons conservés a été marqué ce qui est nécessaire pour la gestion du stock et le suivi des expérimentations. Dans la méthodologie employée, il est préconisé de veiller particulièrement aux aspects de désinfection et profondeur d'injection de la marque.

D'ores et déjà se pose la question des conditions d'élevage à retenir lors de l'année n+1 (arrivée en zone estuarienne des sujets sauvages). Des données concernant les mécanismes de l'osmorégulation, les comportements sociaux, permettraient d'orienter les choix zootechniques.



Figure 30 Juvénile de sturio âgé de 9,5 mois (photo Rollin)

3 Travaux de recherche en milieu naturel et élaboration des plans de restauration

En 2007 les travaux envisagés sur la population d'esturgeon européen *Acipenser sturio* en milieu naturel se résumaient à suivre les éventuelles captures accidentelles (action 5), à participer à des instances officielles (Convention de Berne) pour la construction d'un plan de conservation national et européen de l'espèce et ponctuellement à répondre à diverses sollicitations (Muséum national d'Histoire Naturelle de Paris, Agence nationale des aires marines protégées, bureaux d'étude) pour une bonne prise en compte de l'espèce dans les décisions.

Compte tenu de la réussite d'une reproduction contrôlée en captivité nous nous sommes également impliqué dans les procédures d'alevinages (action 17).

3.1 Action n° 5. Suivi de la population relictuelle

3.1.1 Suivi des captures accidentelles

Cette tâche est une des composantes de l'action 5 (Rochard & Williot, (coord.) 2006). Il s'agit d'une retombée des efforts de communications et de sensibilisation réalisés depuis le début du programme par le Cemagref et depuis début 2007 par le comité national des pêches maritimes et élevages marins (CNPMEM) et le WWF.

Cinq esturgeons européens *A. sturio* nous ont été déclarés capturés accidentellement en 2007, trois d'entre eux ont été remis à l'eau vivants, un a été transféré dans le stock ex situ français et un a été commercialisé. Il apparaît que l'information et la connaissance du statut de l'espèce a été cruciale pour la survie de plusieurs, les directeurs de criées notamment semblent un maillon clé pour la préservation de cette espèce.

Janvier 2007 Un esturgeon non marqué capturé entre l'île de batz et les Glénans au filet de fond. Le poisson pesait environ 12 kg mais encore vivant est proposé à la criée de Concarneau, le directeur de celle-ci M. Offret s'oppose à cette mise en vente et exige la remise à l'eau du poisson. (Information obtenue par les Affaires maritimes de Concarneau, suivie d'un courrier officiel des affaires maritimes au président du CLPM condamnant vigoureusement le comportement du pêcheur et rappelant la situation de l'espèce).

12/02/2007 Un esturgeon marqué (n° HL 1853 Cemagref) capturé en Belgique devant Nieupoort (51°11,552 N ; 002°47,947E) au chalut à perche sur un fond de 10 m. Il mesurait 1.60 m pour un poids de 25 kg. Il a été proposé à la vente à la criée de Nieupoort mais le directeur connaissant le statut de l'espèce et le poisson a été remis à l'eau vivant. Ce poisson avait été marqué par le Cemagref le 27 août 1996 dans l'estuaire de la Gironde après une capture accidentelle au filet tramail par un pêcheur de l'estuaire de la Gironde. Compte tenu de sa taille (LT 57 cm) et de son poids (WT 600g) à ce moment là, il s'agit d'un poisson né en 1995 et vraisemblablement issu de la reproduction artificielle de cette année là. (information obtenue par Jan Haelters Royal Belgian Institute of Natural Sciences, department Management Unit of the North Sea Mathematical Models (MUMM))



Photo 1. (gauche) *A. sturio* HK1853 dans les bras de l'armateur avant sa remise à l'eau (photo J. Haelters), (droite) le navire l'ayant capturé (photo W. Wackenier)

17/02/2007 un esturgeon marqué (HL n° 2797) capturé au large du Croisic au chalut de fond sur des fonds de 45 m. Longueur 1.78 m, poids 26.5 kg blessé (écussons arrachés), ce poisson avait été marqué en 2001 dans l'estuaire de la Gironde; il mesurait 1.25 m à l'époque, ce qui en fait probablement un individu de la cohorte 1994. Il a été ramené et stabulé temporairement à l'aquarium du Croisic avant d'être transféré dans le stock ex situ français à la station de St Seurin sur l'Isle. Un article paru dans la revue "Le marin" du 23/02/2007.

5/07/2007 Un esturgeon non marqué, capturé aux Pays bas au large d'Ijmuiden (52°30'N ; 004°E), ayant transité par la criée d'Ijmuiden (PaysBas) avant d'être commercialisé en Belgique pour 600 €, acheté par la société ISPC et commercialisé en tranches à Gand. Longueur 1.5 – 1.7 m (d'après les photos), poids 33 kg. Les acheteurs ont affirmé ne pas savoir que l'espèce était protégée. (information obtenue par Jan Haelters Royal Belgian Institute of Natural Sciences, department Management Unit of the North Sea Mathematical Models (MUMM))

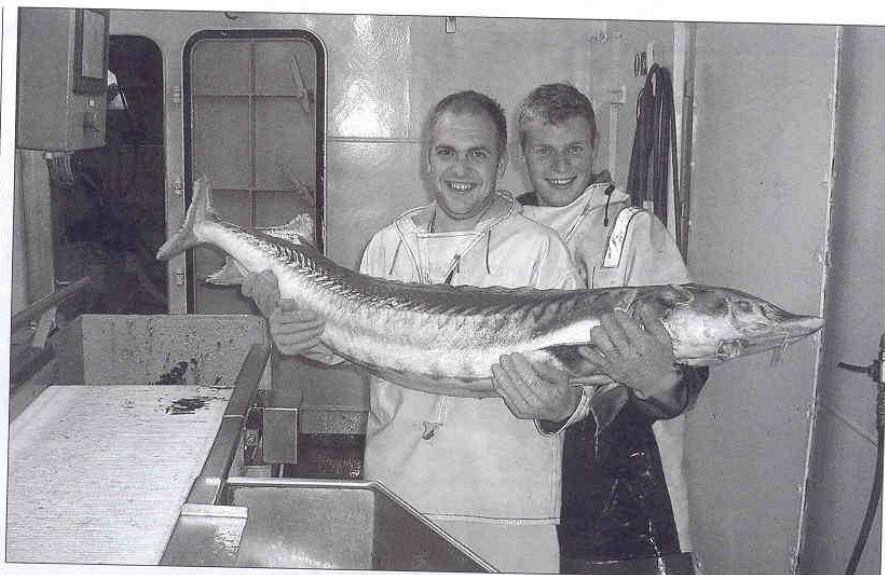
Plusieurs articles de journaux ont relaté l'événement, sans mentionner le statut protégé de l'espèce.

- Article in « Visserijnieuws » 27(28) 13 et 20 juillet 2007, page 11 (Photo 2, Photo 3)

- une photo, un article et une vidéo sur internet : DE TELEGRAAF 18/7/2007 <http://www.telegraaf.nl/binnenland/article67048861.ece?cid=rss>



Photo 2. Extrait du Visserijnieuws du 13 juillet 2007



IJMUIDEN - Het was toch wel een aparte belevenis voor de bemanning van de GO 26 'Arend-Jan' toen ze twee weken geleden een forse steur over de sorteerband zagen glijden. Natuurlijk werd de digitale camera er bij gehaald en wilden Erwin Steketee uit Yerseke (links) en Huig Guijt uit Katwijk best wel even aan hun collega's demonstreren hoe sterk ze zijn. De Gebr. Bakker namen de 33 kilo zware steur tijdens de verkoop in IJmuiden in commissie over voor rekening van horecagroothandel ISPC. De steur bracht bijna 600 euro op.

Photo 3 Extrait du Visserijnieuws du 20 juillet 2007

13/11/2007 un esturgeon marqué (n° HL 2654 Cemagref) capturé au large du Cap Ferret par 30-35 m de fond par le bateau "La Petite Chignole. Longueur 1.80m, environ 40 kg, remis à l'eau vivant. Un article du journal Sud ouest d'est fait écho de l'événement. (Information obtenue via Cross Etel et Ifremer Arcachon, remerciements adressés au pêcheur par CNPMEM). Ce poisson avait été marqué le 14/01/99 dans l'estuaire de la Gironde zone 5B LT 116 cm poids 7800 g il avait à cette date été jugé en bon état et avait subit un lavage gastrique. Il avait de nouveau été capturé le 8/06/99 dans l'estuaire de la Gironde zone 9A LT 119 cm poids 8300 g, jugé en bon état mais un peu rouge.

3.2 Participation à la préparation d'un plan de conservation

3.2.1 Élaboration d'un plan d'action pour la sauvegarde et le rétablissement de l'esturgeon d'Europe *Acipenser sturio* (Convention de Berne)

Nous avons poursuivi en 2007 notre contribution à l'élaboration et à la rédaction d'un plan de restauration de l'esturgeon européen sous l'égide de la convention relative à la conservation de la vie sauvage et du milieu naturel de l'Europe (dite convention de Berne). Cela s'est traduit par la participation comme représentant de la France à un groupe de travail à Berlin les 30 et 31 Mai 2007. A cette occasion nous avons présenté un point actualisé sur la situation de l'espèce et nous avons contribué à l'évolution du document. Nous avons poursuivi à distance notre contribution à l'amélioration du document qui a débouché sur une version présentée pour approbation à l'ensemble des parties de la convention lors du standing Committee du 26 Novembre 2007 au Conseil de l'Europe (Rosenthal et al., 2007).

Une présentation a été faite à cette occasion de la récente reproduction contrôlée de l'espèce, des relachers effectués et du suivi envisagé.

Le document a été approuvé à l'unanimité des parties, il a également été souligné la nécessité de maintenir un minimum de coordination entre les parties pour suivre la mise en œuvre des actions et l'évolution de la situation, une réunion annuelle au minimum.

3.3 Action n°17 Définition des règles et pratiques d'alevinages

3.3.1 Déversement en milieu naturel de jeunes poissons issus de la reproduction contrôlée

3.3.1.1 Aspects réglementaires

Après information rapide de la DIREN Aquitaine sur la réussite de la reproduction contrôlée, une demande d'autorisation pour le transport et le relâché dans la nature d'alevins de l'espèce protégée *A. sturio* a été transmise avec un avis favorable le 23 août par le DIREN Aquitaine auprès du Ministère chargé de l'environnement. Cette demande était accompagnée d'un document argumentaire (Annexe I) rappelant la situation de l'espèce et proposant les modalités envisagées pour l'alevinage.

Une réunion associant nos partenaires (WWF, CNPMM, Epidor, Smeag) et les services du Ministère chargé de l'environnement (DE, DNP, ONEMA, DIREN Aquitaine) a été organisée le 10 septembre 2007 sous l'égide de la DIREN Aquitaine pour valider : d'une part le nombre de poissons à relâcher en milieu naturel ainsi que les modalités de ses déversements ; d'autre part le devenir et les modalités de gestion des poissons conservés en captivité. A l'issue de cette réunion il était convenu :

- 770 individus resteraient à la station de St Seurin sur l'Isle pour renforcer le stock ex situ français (dont 1/3 devant être élevé avec un objectif strictement conservatoire, dans des conditions se rapprochant autant que possible de celles du milieu naturel (notamment alimentation naturelle), des expérimentations (notamment essais d'alimentation artificielle) étant possibles sur les deux autres tiers) ;
- 350 individus seraient disponibles pour renforcer le stock ex situ allemand (IGB Berlin). Sous réserve de l'obtention rapide des autorisations CITES nécessaires au transfert de ces poissons.³
- Aucun individu n'était réservé pour les aquariums français, charge à eux de faire la demande au MEDAD en justifiant de leurs possibilités techniques et du projet de communication qui pourrait accompagner l'exposition des poissons. Après autorisation, les demandes seront satisfaites à partir du stock ex situ français, dans la mesure du possible.
- Le reste des poissons soit 6380 individus seront lâchés en milieu naturel.
 - 3115 en Dordogne le 21 septembre 2007 (entre St Jean de Blaignac et Pessac sur Dordogne).
 - 3115 en Garonne le 24 septembre 2007 (entre Couthures et Meilhan sur Garonne)..
 - 50 seront lâchés en milieu naturel équipés d'émetteurs entre le printemps et l'été 2008. Ils seront conservés à la station de St Seurin jusqu'à cette date
- Les poissons lâchés en milieu naturel feront tous préalablement l'objet d'un marquage chimique par balnéation dans un bain d'oxytétracycline

L'autorisation obtenue auprès du ministère de l'environnement pour déverser dans le milieu naturel de jeunes *A. sturio* issus de la reproduction artificielle était assortie de la nécessité d'exposer à la commission faune du Conseil National de protection de la nature du 16

³ Ces poissons seront transférés à l'IGB le 2007.

octobre 2007 les modalités de préparation et de déversement de ces poissons ainsi que les mesures envisagées pour évaluer le d

evenir de ces poissons en milieu naturel et au final l'efficacité de cette action. Cette présentation a été effectuée ; les membres de la commission ont salué ce succès et exprimé leur souhait d'être tenu au courant de la suite du programme.

3.3.1.2 Conditions de relâcher des poissons

3.3.1.2.1 Choix du moment

Le moment doit correspondre à une période où les jeunes individus ont une taille suffisante pour limiter leur mortalité naturelle et par prédation, leur assurer un comportement identique à leurs congénères nés en milieu naturel et où les ressources trophiques de l'espèce sont suffisamment abondantes (hypothèse du match-mismatch).

Faute de nombreuses expériences bien documentées nous disposons de peu d'éléments pour juger de l'âge ou de la taille auxquels il est préférable de relâcher des esturgeons issus de reproduction artificielle. Un consensus empirique existe pour préconiser une taille de 3-4 g au moment du relâcher (St-Pierre, 1999). Les esturgeons *A. sturio* issus de la reproduction contrôlée de 1995 et relâchés à cette taille (1 - 6.5 g) ont fait l'objet d'un suivi qui a permis de conclure à un comportement, une croissance et des déplacements similaires à ceux des poissons nés en milieu naturel (Lochet et al., 2004).

Les poissons relâchés plus jeunes subissent logiquement une mortalité plus élevée et quelques expériences réalisées avec des esturgeons déversés plus âgés (longueur totale 30 cm) dans le milieu naturel (J. Waldman, com. pers.) ont conclues à un non retour du poisson dans le bassin versant d'origine. L'interprétation est que pour qu'un individu retrouve son bassin d'origine après sa phase de croissance en mer (homing) il est nécessaire qu'il se soit imprégné lors de son "jeune âge" de certaines caractéristiques chimiques du bassin.

Au final nous avons retenu de déverser les poissons en septembre (longueur totale 10 cm, poids moyen 3,4 g)

Afin de pouvoir disposer d'un élément de jugement sur l'efficacité de notre alevinage tous les poissons ont été marqués par balnéation dans une substance chimique (cf action n°18)

3.3.1.2.2 Choix des secteurs de lâchers.

Afin de partager les risques comme les motifs de satisfaction entre les deux sous bassins la moitié des poissons ont été déversés en Dordogne et l'autre moitié en Garonne.

Les sites de frayères potentielles sont répartis sur un linéaire important le long des deux axes (Trouvery, 1980 ; Jégo et al., 2002), les lieux de déversement ne devraient pas se situer à l'amont de ces secteurs.

Nous n'avons pas pour l'instant d'éléments sur les habitats utilisés par les jeunes esturgeons de cette taille, nous savons toutefois qu'ils arrivent dans l'estuaire saumâtre à une taille plus grande (environ 30 cm LT) et donc plus tard (environ 6 mois plus tard) (Rochard et al., 2001). Nous avons donc choisi de déverser les jeunes animaux en zone fluviale, immédiatement à l'amont de la limite de marée dynamique, ce lieu de déversement situé au milieu du secteur des zones de reproduction potentielles (Figure 31) devant leur permettre, soit de rester en eau douce soit de dévaler dans une zone soumise à la marée voire saumâtre jusqu'à des habitats leur convenant mieux.

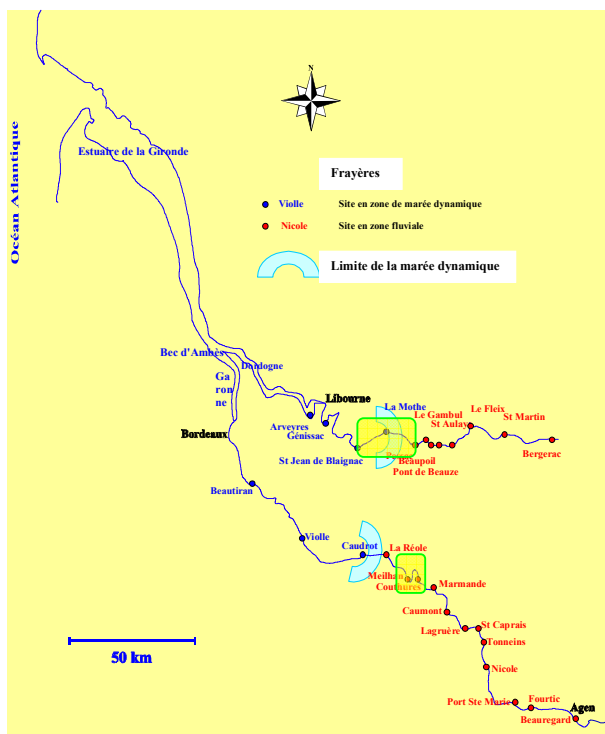


Figure 31 Localisation des deux secteurs retenus pour les lâchers (rectangle jaunes) au sein des sites de frayères potentielles (rouge en zone fluviale, bleu en zone soumise à marées)

3.3.2 Modalités pratiques

La veille du déversement, la qualité de l'eau (T° , conductivité, oxygène dissous) a été contrôlée sur les sites envisagés. Le matin même les poissons ont été conditionnés dans des sacs plastiques gonflés à l'oxygène pur et placés dans des caisses en polystyrène (isolation thermique). Le transport vers les sites de déversements (environ 1 h) a été effectué en camionnette. Les températures de l'eau des sacs et de la rivière ont été équilibrées avant déversement en laissant simplement se réchauffer les sacs par contact avec l'air. Les déversements ont été effectués en bateau et les poissons ont été répartis sur des secteurs de quelques km.





Photo 4. Préparatifs et réalisation des lâchers

Pour des raisons pratiques (présence de cales de mise à l'eau) les lieux de départ des alevinages St Jean de Blagnac sur la Dordogne et Couthures sur Garonne ont été choisis un peu à l'aval des secteurs de lâcher.

Au moment des lâchers le ciel était dégagé et les conditions étaient les suivantes :

St Jean de Blagnac - Pessac sur Dordogne (21/09/2007)

- Limite amont de la marée dynamique (coef 24)
- Débit fluvial 149 m³/s (mesure effectuée à 45 km en amont, Gardonne)
- Aval du secteur (7h30) 17,6°C, 30,4 µS/cm, 6,4 mg/l Oxygène dissous
- Amont du secteur (18h30) 18,6 °C, 28,9 µS/cm, 15.3mg/l O₂
-

Couthures/Garonne – Meilhan/Garonne (24/09/2007)

- Partie basse du fleuve
- Débit fluvial, 111 m³/s (mesure effectuée à 28 km en amont, Tonneins)
- 19,9°C, 67,5 µS/cm, 14,2 mg/l Oxygène dissous

Les jeunes poissons ont été déversés sac par sac, aucun n'est mort durant le transport ni durant les opérations de déversement.

Les alevinages ont été réalisés en présence de nombreuses personnalités, dont la secrétaire d'état à l'écologie Mme Nathalie Kosciusko-Morizet ; les médias ont largement couvert cet événement avec plus d'une centaine d'articles dans la presse écrite et plusieurs reportages

sur les chaînes nationales. Des enfants de plusieurs classes de maternelles étaient présents et ont pu assister à l'ensemble de l'opération.



Photo 5 Jeunes esturgeons au moment de leur mise à l'eau.

3.3.2.1.1 Relocalisation de poissons alevinés

Seules trois informations ont été recueillies depuis le lâcher de ces poissons

- entre le 7 et le 11 avril 2008 un petit *A. sturio* (taille approximative 10 cm) capturé accidentellement dans un filet à lamproie (maille centrale 34 mm étirée) à St André de Cubzac (Dordogne) par un pêcheur amateur. Le poisson a été remis à l'eau vivant (information relayée par la DIREN Aquitaine)
- 10 avril 2008, on nous mentionne des captures dirigées de jeunes *A. sturio* devant Blaye (Gironde), les détails fournis rendaient l'information vraisemblable mais sans possibilités de vérification. Nous en avons informé les services chargés de la police de l'environnement et les partenaires du plan de restauration.
- Mi avril 2008 un petit *A. sturio* (taille approximative 25 cm) capturé accidentellement à Branne (Dordogne) par un pêcheur amateur.

ANNEXES

Annexe 1 : Etat du stock de géniteurs fin 2007

Nom	Année de naissance	Sexe	Date de capture ou naissance	Lieu de capture	Capture par	Poids lors de la capture (kg)	Poids actuel (kg) (15/11/07)	Groupe	Observations
JUDE	1970-72	mâle	05/05/2003	Garonne (Couthures)	Pêcheur d'alose	35,7	36,6	G1	Fluent lors de la capture
PHILIPPE	1984	mâle	03/05/1997	Garonne	Pêcheur	18.1	20,3	G1	Maturation en 2000, 2001, 2003, 2006
JUSTIN	1984-85	mâle	01/06/1995	Estuaire	Esturial	24.0	22,4	G1	Repro en 1995, 2007, Maturation en 1999, 2001 et 2002
PACO	1995	Mâle	09/05/2007	Dordogne	Pêcheur	17,8	16,8	G1	Fluent en 2007
BLEU	1988	mâle	23/09/1993	Estuaire	Pêcheur	5.1	10,5	G2	
DN	1988	femelle	11/08/1993	Estuaire	Pêcheur	5.5	17,4	G2	ovulation partielle après stimulation hormonale en 2002
MARIETTE	1987-88	mâle	06/07/1995	Estuaire	Esturial	11.1	18,1	G2	Maturation en 2000, 2001, 2002, 2003, 2004, 2005, 2006
ASCENSION	1988	mâle	25/05/1995	Estuaire	Esturial	5.9	12,3	G2	Maturation en 2000
EMELINE	1988-89	mâle	27/10/1995	Estuaire	Esturial	4.2	14,1	G2	Maturation en 2000, 2001, 2002, 2003, 2005, 2006

DELPHIN E	1992	mâle	26/10/200 1	Estuaire	Esturial	13,7	13,3	G2	
SEVERIN E	1994	femelle	26/10/200 1	Estuaire	Esturial	14,9	18,0	G2	
JULES	1994	femelle	08/04/200 3	Estuaire	Esturial	15,5	16,2	G2	
FIACRE	1994	femelle	30/08/200 1	Estuaire	Esturial	10,9	13,6	G2	
NATHALI E	1994	femelle	27/07/200 0	Estuaire	Esturial	14,0	20,2	G2	
GILLES	1995	mâle	30/08/200 1	Estuaire	Esturial	13,1	16,3	G2	Maturation en 2002
MARTINI EN	1995	mâle	02/07/200 2	Estuaire	Esturial	18,4	17,3	G2	
FULBERT	1995	mâle	09/04/200 3	Estuaire	Esturial	17,4	14,0	G2	
EDITH	1995	femelle	16/09/200 2	Estuaire	Esturial	11,6	13,7	G2	
THIERRY	1995	femelle	02/07/200 2	Estuaire	Esturial	9,7	17,1	G2	
HERVE	1995	mâle	17/06/200 2	Estuaire	Esturial	14,2	19,0	G2	
ARISTIDE	1995	femelle	30/08/200 1	Estuaire	Esturial	12,1	13,0	G2	
JULIE	1995	femelle	08/04/200 3	Estuaire	Esturial	21,9	24,6	G2	
LEONCE	1994-95	femelle	18/06/200 3	Estuaire	Esturial	19,2	20,6	G2	
ALEXIS	indétermi née	indétermi né	17/02/200 7	Le Croisic	Pêcheur	26,5	25,5	G2	
GAUTIER	indétermi née	mâle	09/04/200 3	Estuaire	Esturial	22,6	20,3	G2	
CAROL	1994	mâle	08/03/199 5	Estuaire	Esturial	0,18	9,5	G3	
	1994	indétermi né	08/03/199 5	Estuaire	Esturial	0,29	4,0	G3	
EMILE	1994	mâle	04/04/199 5	Estuaire	Esturial	0,19	16,9	G3	Repro en 2007
FRANCIN	1994	femelle	05/07/199	Estuaire	Esturial	0,29	6,7	G3	Repro en

E			5						2007
	1994	indéterminé	06/07/1995	Estuaire	Esturial	0,41	6,2	G3	
GEORGINA	1994	femelle	06/07/1995	Estuaire	Esturial	0,39	13,4	G3	
	1994	indéterminé	13/09/1995	Estuaire	Esturial	0,48	6,6	G3	
HENRIETTE	1994	femelle	13/09/1995	Estuaire	Esturial	0,62	11,1	G3	
ISABEAU	1994	mâle	21/09/1995	Estuaire	Esturial	0,65	6,7	G3	
JEANNETTE	1994	femelle	02/10/1995	Estuaire	Esturial	0,59	8,0	G3	
KARINE	1994	femelle	02/10/1995	Estuaire	Esturial	0,59	14,5	G3	maturation en 2005
LUCETTE	1994	femelle	03/10/1995	Estuaire	Esturial	0,73	10,2	G3	maturation en 2006
MARTINE	1994	femelle	03/10/1995	Estuaire	Esturial	0,42	20,1	G3	
NORMAN	1994	mâle	03/10/1995	Estuaire	Esturial	0,53	13,6	G3	
ODILE	1994	femelle	03/10/1995	Estuaire	Esturial	0,51	12,1	G3	
PASCAL	1994	mâle	04/10/1995	Estuaire	Esturial	0,63	13,3	G3	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle			14,8	G4	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle			5,4	G4	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle			11,2	G4	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle			8,5	G4	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle			12,6	G4	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle			8,7	G4	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle			13,4	G4	

	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle	15,4	G4	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle	13,0	G4	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle	10,5	G4	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle	9,7	G4	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle	17,7	G4	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle	5,5	G4	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle	6,9	G4	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle	11,3	G4	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle	6,6	G4	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle	7,6	G4	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle	13,7	G4	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle	15,9	G4	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle	12,8	G4	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle	10,4	G4	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle	13,0	G4	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle	13,0	G4	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle	7,4	G4	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle	7,8	G4	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle	14,1	G4	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle	13,8	G4	

		né	5				
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle	9,6	G4	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle	7,5	G4	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle	10,4	G4	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle	15,1	G4	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle	10,2	G4	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle	9,0	G4	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle	11,1	G4	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle	6,9	G4	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle	11,5	G4	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle	6,4	G4	
	1995	indéterminé	13/06/1995	Reproduction artificielle	13,2	G4	

Référence bibliographiques mentionnées dans le texte.

- Bergot, P. (2002) Essais de mise au point d'un aliment adapté au bon développement de l'esturgeon européen, influence de la nutrition sur les déformations. In *Restauration de l'esturgeon européen Acipenser sturio Rapport scientifique Contrat LIFE n° B – 3200 / 98 / 460*. (Rochard, E., ed), 15-43, Cemagref
- Elie, P.c. (1998) Rapport final Life Sturio. 381, Cemagref Bordeaux
- Jego, S., Gazeau, C., Jatteau, P., Elie, P., and Rochard, E. (2002) Les frayères potentielles de l'esturgeon européen *Acipenser sturio* L. 1758 dans le bassin Garonne-Dordogne. Méthodes d'investigation, état actuel et perspectives. *Bull. Fr. Pech. Piscic.* 365-366, 487-505
- Lepage, M., and Rochard, E. (1995) Threatened fishes of the world: *Acipenser sturio* Linnaeus, 1758 (Acipenseridés). *Environmental Biology of Fishes* 43, 28
- Lochet, A., Lambert, P., Lepage, M., and Rochard, E. (2004) Croissance de juvéniles d'esturgeons européens *Acipenser sturio* (Acipenseridae) sauvages et issus d'alevinage, durant leur séjour dans l'estuaire de la Gironde (France). *Cybium* 28 suppl., 91-98
- Magnin, E. (1959) Répartition actuelle des Acipenseridés. ***Rev. Trav. Inst. Pêches marit.* 23, 277-285
- MEDD (2005) Stratégie nationale pour la biodiversité, plans d'action patrimoine naturel. 16, Ministère de l'écologie et du développement durable
- Rochard, E. (1992) *Mise au point d'une méthode de suivi de l'abondance des amphihalins dans le système fluvio-estuarien de la Gironde, application à l'étude écobioologique de l'esturgeon Acipenser sturio*. thesis, Université de Rennes I
- Rochard, E., and Jatteau, J. (1991) Amélioration de la méthode de détermination de l'âge de l'esturgeon commun *Acipenser sturio* et premières applications. In *Acipenser* (Williot, P., ed), 193-208, Cemagref Publication
- Rochard, E., Lepage, M., Dumont, P., Tremblay, S., and Gazeau, C. (2001) Downstream migration of juvenile European sturgeon *Acipenser sturio* L. in the Gironde estuary. *Estuaries* 24, 108-115
- Rochard, E., and Williot, P. ((coord.) 2006) Actions de recherches proposées pour contribuer au plan international de restauration de l'esturgeon européen *Acipenser sturio*. 51, Cemagref
- Rochard, E.c. (2002) Restauration de l'esturgeon européen *Acipenser sturio* Rapport scientifique Contrat LIFE n° B – 3200 / 98 / 460. 224, Cemagref
- Rosenthal, H., Bronzi, P., Gessner, J., Moreau, D., Rochard, E., and Lasen, C. (2007) Draft action plan for the conservation and restoration of the European sturgeon (*Acipenser sturio*). 47, Council of Europe, Convention on the conservation of European wildlife and natural habitats
- St-Pierre, R.A. (1999) Restoration of Atlantic sturgeon in the notheastern USA with special emphasis culture and restocking. *J. appl. Ichthyol.* 15, 180-182
- Trouvery, M. (1980) Recueil de données sur l'état des zones de pêche et des frayères potentielles de l'esturgeon (*Acipenser sturio*) en Dordogne (du bec d'Ambes à Castillon la Bataille). 19
- Williot, P., Rouault, T., Rochard, E., Castelnaud, G., Lepage, M., Gonthier, P., and Elie, P. (2002) French attempts to protect and restore *Acipenser sturio* in the Gironde: status and perspectives, the research point of view. In *Species differentiation and population identification in the sturgeons Acipenser sturio L. and Acipenser oxyrinchus*, 83-99