



HAL
open science

Programme de recherche et de conservation de l'esturgeon européen *Acipenser sturio*: bilan scientifique et technique 2009

Eric Rochard

► To cite this version:

Eric Rochard. Programme de recherche et de conservation de l'esturgeon européen *Acipenser sturio*: bilan scientifique et technique 2009. [Rapport de recherche] irstea. 2011, pp.67. hal-02597238

HAL Id: hal-02597238

<https://hal.inrae.fr/hal-02597238>

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 2009

Juillet 2011



Eric ROCHARD (coordinateur)

Unité Ecosystèmes estuariens et poissons migrateurs amphihalins

CEMAGREF

Groupement de Bordeaux, étude n° 141

50 Avenue de Verdun 33612 CESTAS Cedex



« Ce projet a été cofinancé par l'Agence de l'Eau Adour-Garonne, la Région Poitou-Charentes, le Département de Charente-Maritime et le CEMAGREF

La Région Aquitaine a contribué au financement des moyens opérationnels de recherche utilisés»

Références à mentionner :

- pour l'ensemble du document :

Rochard E. coord., 2011. Programme de recherche et de conservation de l'esturgeon européen *Acipenser sturio* ; bilan scientifique et technique 2009. Cemagref de Bordeaux, étude n°141. 67 p.

- pour des citations partielles :

Chèvre P., Rochard E. & Gessner J. Etat récapitulatif des stocks ex situ. 5-11 In *Rochard E. coord., 2011. Programme de recherche et de conservation de l'esturgeon européen Acipenser sturio ; bilan scientifique et technique 2009. Cemagref de Bordeaux, étude n°141.*

Rochard E., Acolas M.L. & Rouleau E. Action n° 6 : Suivi de la population relictuelle (niveau opérationnel). 33-37 In *Rochard E. coord., 2011....*

Acolas M.L., Rouleau E. & Rochard E. Action n°10 Localisation et caractérisation des habitats fluviaux fréquentés par les jeunes. 38-51 In *Rochard E. coord., 2011....*

Chèvre P., Rouault T., Pelard M., Jacobs L., Mercier D., Fraty R. & Saint Sevin J. Action n°14 Mise en œuvre d'un protocole de préparation à la reproduction. 11-20 In *Rochard E. coord., 2011....*

Chèvre P., Rouault T., Jacobs L., Pelard M., Mercier D., Fraty R. & Saint Sevin J. Action n°15 : Réalisation de reproductions assistées en 2009. 20-32 In *Rochard E. coord., 2011....*

Jatteau P. & Locht A. Action n°18 : Mise au point d'une méthode de marquage vital des alevins. 55-58 In *Rochard E. coord., 2011....*

Sauf autre spécification, le crédit photo est © Cemagref.

1	Etat récapitulatif des stocks ex situ.....	5
1.1	Stock ex situ français (Station Cemagref de St Seurin sur l'Isle, gestion Cemagref)	5
1.1.1	Enceintes de conservation.....	5
1.1.2	Effectifs	6
1.2	Stock ex situ allemand (IGB Berlin, gestion IGB)	9
2	Travaux de recherche sur le stock ex-situ.....	11
2.1	Action n°14 : Mise en œuvre d'un protocole de préparation à la reproduction.....	11
2.1.1	Introduction, facteurs externes intervenant dans la maturation sexuelle.	11
2.1.2	Choix des géniteurs pour les reproductions	14
2.2	Action n°15 : Réalisation de reproductions assistées en 2009	20
2.2.1	Introduction.....	20
2.2.2	Sélection finale.....	20
2.2.3	Intérêt de l'utilisation d'indicateurs physiologiques pour le suivi de la maturation et le déclenchement des pontes chez les femelles.....	22
2.2.4	Bilan des informations concernant la maturation finale des femelles	28
2.2.5	Tentatives de reproduction	29
3	Travaux de recherche en milieu naturel et élaboration des plans de restauration.....	32
3.1	Action n° 6. Suivi de la population relictuelle (niveau opérationnel).....	33
3.1.1	Campagnes d'échantillonnages.....	33
3.1.2	Suivi des captures accidentelles.....	35
3.2	Action n°10 Localisation et caractérisation des habitats fluviaux fréquentés par les jeunes. 38	
3.2.1	Introduction.....	38
3.2.2	Matériels et méthodes	38
3.2.3	Résultats	42
3.2.4	Discussion et perspectives	49
3.3	Action n°17 Définition des règles et pratiques d'alevinages.....	51
3.3.1	Introduction.....	51
3.3.2	Déversement en milieu naturel de jeunes poissons issus de la reproduction contrôlée.....	51
3.4	Action n°18 : Mise au point d'une méthode de marquage vital des alevins.....	55
3.4.1	Introduction.....	55
3.4.2	Tests effectués en 2009.....	56
3.4.3	Protocole de marquage retenu pour les <i>A. sturio</i> 2009.....	57

Introduction :

L'esturgeon européen *Acipenser sturio* est le plus grand poisson migrateur des eaux françaises et ouest européennes. Autrefois présent dans 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 connue en milieu naturel 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 autres fleuves fréquentés historiquement.

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 dépendre de captures de géniteurs sauvages (Williot et al., 2002).

Constitué progressivement depuis 1993, accueilli dans un bâtiment dédié de la station expérimentale 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, et a été poursuivi depuis dans l'attente d'un nouveau programme d'ampleur suffisante. Compte tenu de la longueur du cycle de maturation (12 à 15 ans réciproquement pour les premières maturités espérées mâles et femelles), la restauration de cette espèce nécessite pour sa conservation des efforts de recherche et de mise en œuvre d'actions sur le long terme. Un stock secondaire initié à partir de 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, les efforts réalisés pour : suivre la population naturelle ; sensibiliser les pêcheurs et les acteurs qui les environnent (services de contrôle, circuits de commercialisation) ; surveiller le respect de la réglementation ; améliorer l'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 une année marquante pour la restauration de l'espèce. En effet pour la première fois nous sommes parvenus à obtenir la reproduction assistée de poissons en captivité depuis plus de dix ans. Les équipes ont de ce fait progressé dans leur compréhension des mécanismes et ont beaucoup amélioré leur savoir faire. Cette réussite après plus de dix ans d'attente a permis d'enclencher des actions de recherche pour améliorer la gestion du stock captif repeuplement et de conduire des alevinages de soutien de la population (Rouault et al., 2008b).

L'année 2008 a permis de confirmer les bons résultats obtenus en 2007 avec la réussite de plusieurs reproductions assistées à partir de géniteurs ayant réalisé leur croissance et leur maturation dans la station de Saint-Seurin sur l'Isle et la réalisation d'alevinages de soutiens. Les tests sur l'alimentation des alevins et des jeunes ont été poursuivis et plusieurs actions

ont également été menées pour mieux connaître l'écologie des jeunes poissons que ce soit en structure expérimentale ou par télémétrie en milieu naturel.

L'année 2009 se situe dans le prolongement immédiat des travaux entrepris en 2007 et 2008 avec pour l'essentiel une amélioration des méthodes zootechniques (reproduction, élevage des jeunes) et un début de reprise des travaux en milieu naturel (suivi des poissons lâchés).

Ce document présente les résultats scientifiques et techniques des travaux conduits par le CEMAGREF en 2009, sur les différentes actions du Programme de recherche et de Conservation de l'esturgeon européen (Rochard et Williot coord. 2006) retenues pour cette année. Sont présentés successivement:

1. l'état du stock ex situ
2. les travaux de recherche menés sur le stock ex-situ.
3. les travaux de recherche menés sur la population en milieu naturel et les actions contribuant au plan de restauration

1 Etat récapitulatif des stocks ex situ

Patrick Chèvre, Eric Rochard & Jörn Gessner (IGB)

L'esturgeon européen est une espèce protégée, dont les effectifs de géniteurs en milieu naturel sont très réduits. 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 Gironde Garonne Dordogne 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) devant permettre, à terme, la production de sujets de repeuplement sans être dépendant d'éventuelles captures accidentelles de géniteurs sauvages.

1.1 Stock ex situ français (Station Cemagref de St Seurin sur l'Isle, gestion Cemagref)

Il s'agit numériquement du stock principal, c'est également le seul qui comprenne des poissons nés en milieu naturel. Il a été initié en 1993 avec des poissons immatures (nés en 1988), après plusieurs essais infructueux avec des géniteurs. Le stock initial a été constitué progressivement à partir d'individus capturés en milieu naturel à différents stades, puis de juvéniles nés en captivité en 1995 puis 2007 et 2008. Ce stock sur lequel repose quasiment l'avenir de l'espèce *Acipenser sturio* a bénéficié du programme LIFE pour sa constitution (Elie, 1997). Il nécessite des financements pérennes : pour sa conservation ; la poursuite de recherches visant à lever certains verrous l'optimisation des procédures et le développement à l'échelle nécessaire des opérations de repeuplement.

Ce stock a permis depuis 2007 la production de juvéniles destinés aux repeuplements et expérimentations. Des individus issus des reproductions réalisées en 2007, 2008 ont également été conservés pour renforcer le stock ex situ et permettre à terme le remplacement des géniteurs actuels.

1.1.1 Enceintes de conservation

Les géniteurs sont conservés dans une structure dédiée (bâtiment Sturio 1) (Figure 1) de la station du Cemagref à Saint-Seurin sur l'Isle où ils bénéficient d'installations adaptées. Ils sont répartis dans neuf bassins indépendants fonctionnant en circuits fermés et dans deux circuits ouverts utilisés en période de reproduction. Les systèmes d'épuration des eaux sont ceux couramment employés en aquaculture marine (filtration mécanique, désinfection par UV, filtration biologique, ré oxygénation de l'eau filtrée).

Les bassins mesurent 4 m de diamètre, ronds, ou sub-carrés avec deux hauteurs différentes (1 m et 2,2 m). Les plus haut accueillent les plus grands spécimens.

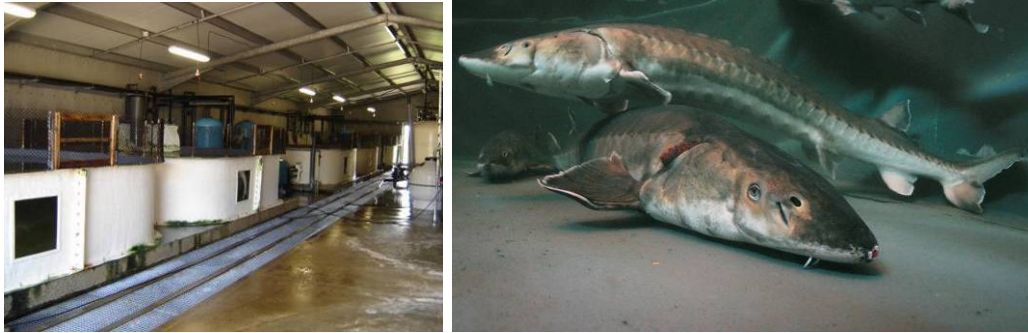


Figure 1 Vue d'ensemble du bâtiment « Sturio 1 » hébergeant les géniteurs (g), vue de quelques géniteurs à travers un des hublots © Ragot (d)

Les sorties d'eaux ont été adaptées à la taille des géniteurs et à l'utilisation de proies naturelles (une évacuation centrale à grille fine et deux sorties latérales). L'eau utilisée est saumâtre (salinité de 15). Une climatisation de l'ensemble du bâtiment permet de maintenir un régime thermique de consigne en écrétant les températures extrêmes. La photopériode est calée sur le régime naturel du site via une cellule photoélectrique extérieure.

Les circuits fermés permettent de contrôler les principaux paramètres d'élevage et de s'affranchir de la variabilité des conditions du milieu naturel. Ils permettent également de limiter les prélèvements d'eaux et les rejets. Le pourcentage de renouvellement journalier en eau neuve est de l'ordre de 4 à 7 %. Il varie en fonction du taux d'alimentation des géniteurs. Les fèces et aliments non consommés sont collectés et utilisés comme engrais.

1.1.2 Effectifs

La constitution initiale du stock a été très opportuniste : géniteurs sauvages capturés accidentellement, immatures sauvages capturés lors d'échantillonnages en estuaire, ou poissons issus des reproductions artificielles effectuées en 1995, 2007 et 2008 (Tableau 1).

Toute nouvelle entrée dans le stock est désormais réfléchi de façon à maximiser la variabilité génétique et optimiser la structure en âge et le sex-ratio. Elle est soumise pour avis au comité de pilotage du plan national d'action français (PNA F).

Tableau 1. Répartition synthétique des individus du stock ex situ français en fin d'année 2009. Effectifs (N) et poids moyen individuel en Kg par classes d'âge et sexe. Les classes d'âge suivies d'une astérisque sont issues de reproductions assistées

	Cohortes	Femelles		Mâles		Indéterminés	
		N	Poids (kg)	N	Poids (kg)	N	Poids (kg)
Adultes	Anciennes ?	1	27.2	2	19.8		
	1970-1988	1	18.8	7	19.0		
	1994-1995	1	22.9				
	1994	14	12.4	9	13.7		
	1995*	24	12.8	18	11.7	2	7.1
Immatures	2007*					309	1.7
	2008*					390	0.6
	2009*					200	0.2
Total		41		36	899		

Le consensus actuel concernant le nombre de poissons qui devraient constituer le stock ex situ français (Figure 2) est guidé par les critères suivants :

1. Pouvoir disposer annuellement d'œufs issus d'une trentaine de femelles. Compte tenu du sex ratio actuel, de la maturité plus précoce et plus fréquente des mâles cela conduit également à environ 120 mâles matures annuellement (Figure 3).
2. Maximiser autant que possible la diversité génétique au sein du stock ex situ (actuellement très limitée).
3. Intégrer des individus de chaque nouvelle cohorte.¹

Selon Chevassus (1989), l'effectif génétique ou effectif efficace est lié au nombre de reproducteurs, à la proportion des sexes ainsi qu'à la variance de la taille des familles. Une gestion génétique appropriée intégrant un sex ratio et une participation équilibrée des géniteurs aura une part déterminante pour le maintien de la diversité génétique.

A contrario l'utilisation d'effectifs déséquilibrés (nombre très important de mâles et relativement réduit en femelles) ne permettrait pas d'augmenter significativement la variabilité collectée. Cette situation en outre poserait problème pour la gestion zootechnique.

Les effectifs de mâles matures annuellement vont rapidement être excessifs. Cette question n'a pas encore été abordée mais sous réserve d'un avis favorable ils pourraient être lâchés en milieu naturel ou être confiés à des aquariums pour des actions de sensibilisation. La possibilité d'un sexage précoce permettrait de limiter la taille du stock et de relâcher les poissons plus tôt.

Le nombre de poissons dans le stock ex situ devrait être un compromis entre ce qui est possible compte tenu des structures disponibles, du personnel et du budget affecté à cette tâche, et ce qui serait souhaitable en absolu. Ce nombre n'a pas encore été arrêté. Pour l'instant nous avons fondé nos simulations sur un stock ex situ ne dépassant pas 1100 individus (toutes classes d'âge confondues). Ce qui compte tenu des valeurs actuelles considérées pour les paramètres de survie conduit à faire entrer annuellement environ 120 jeunes poissons dans le stock ex situ.

¹ Ce critère qui vise à une structure en âge équilibrée du stock ex situ n'est pas forcément compatible avec le critère n°2 et pourrait être revu à l'avenir.

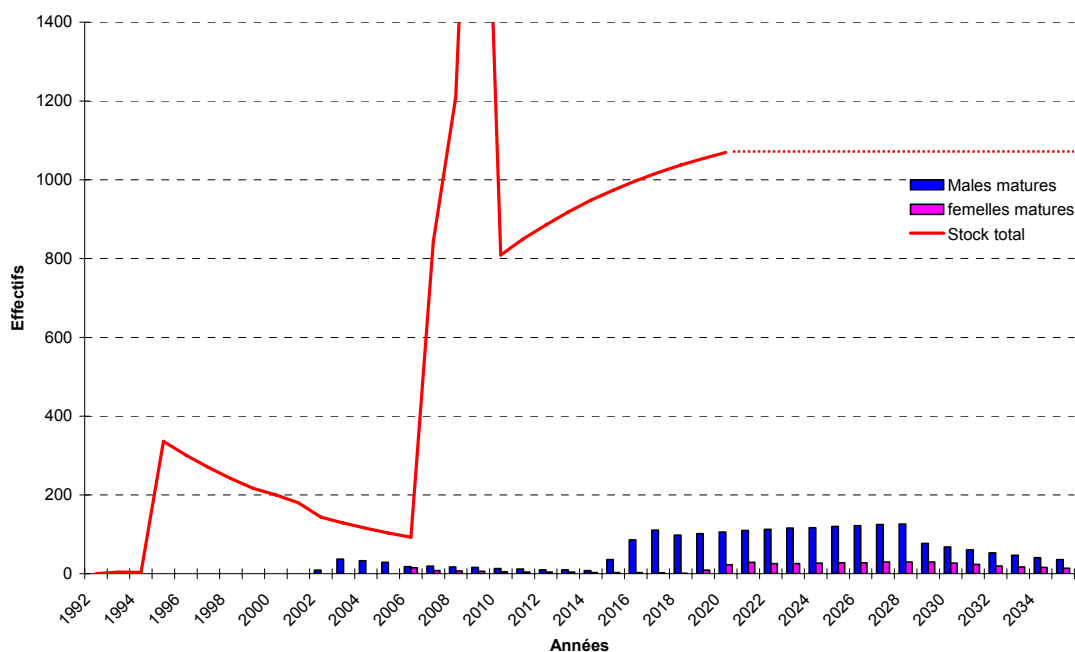


Figure 2 Evolution observée (pour la période passée) et simulation (pour la période à venir) des effectifs de poissons adultes matures une année donnée dans le stock ex situ et évolution des effectifs totaux du stock ex situ (toutes classes d'âge confondues).

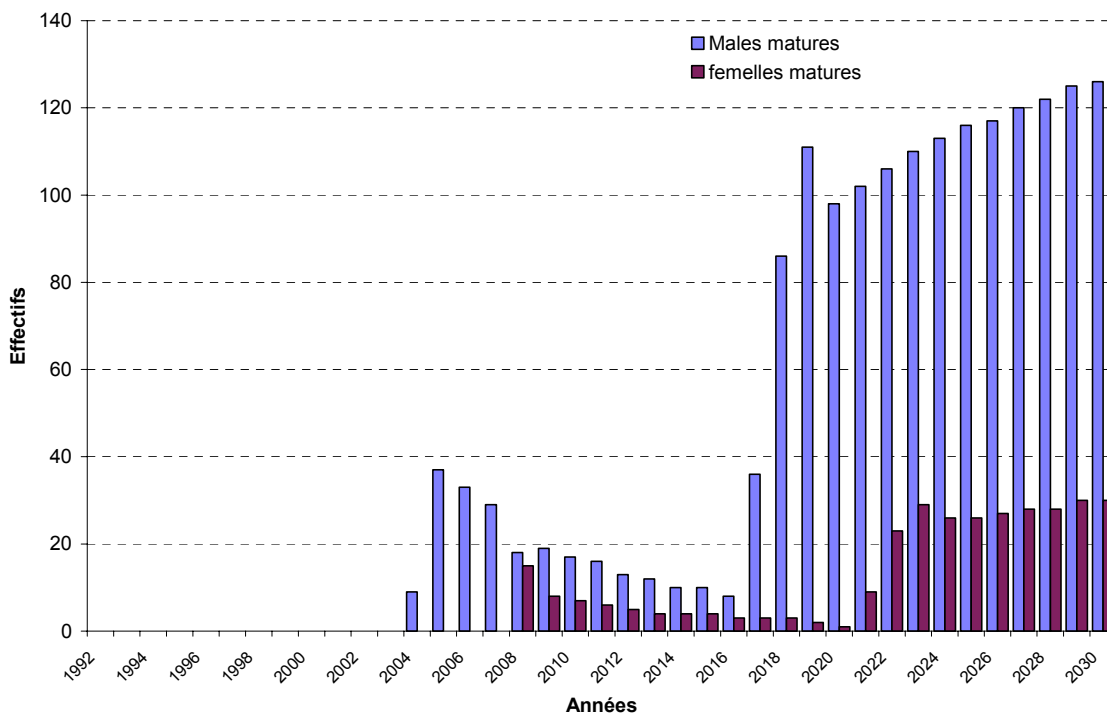


Figure 3 Projection des effectifs de géniteurs matures annuellement selon les règles de constitution actuelles du stock ex situ français.

1.1.2.1 Géniteurs

Chaque géniteur a été marqué avec un transpondeur (PIT tag) interne qui permet une identification individuelle à long terme. Il est également muni d'une marque externe.

Les 79 géniteurs sont issus de différentes classes d'âges. Pour 3 d'entre eux l'année de naissance n'est pas précisément établie (difficultés dans la lecture des rayons osseux).

Les sexes ont été progressivement identifiés par dosages hormonaux et biopsies, le sex ratio des géniteurs est proche de 50%. Il subsiste une incertitude sur le sexe de 3 poissons ayant une taille adulte.

On ne compte que 8 sujets appartenant avec certitude aux cohortes les plus anciennes, les plus diversifiées au niveau génétique. Il n'y a parmi eux qu'une seule femelle.

Les mâles des cohortes les plus anciennes (capturés après un séjour prolongé en milieu naturel) ont un embonpoint inférieur à ceux des cohortes plus récentes (issus de reproductions assistées ou capturés très jeunes en milieu naturel). Nous interprétons cela comme une plus grande difficulté d'adaptation à la captivité.

Les effectifs de la cohorte 1995 (première reproduction assistée réussie de l'espèce) sont les plus importants (54 % du stock total, 56 % des femelles), ceci malgré des mortalités régulières liées à l'apparition de torsions irrémédiables (Bergot, 2002). Les poissons tordus (une dizaine en 2009) ont des difficultés à s'alimenter ce qui limite leur chance de se reproduire. L'effectif potentiellement efficace pour les reproductions est donc seulement d'environ 70 poissons.

La croissance en poids et en longueur des poissons dans les différentes conditions d'élevage est suivie par des mesures trimestrielles. Une relation taille poids linéaire a été établie à partir de mesures effectuées sur le stock captif (Figure 4). Elle complète celles établies en milieu naturel par Rochard et Jatteau (1991), Rochard (1992) et Lochet et al. (2004).

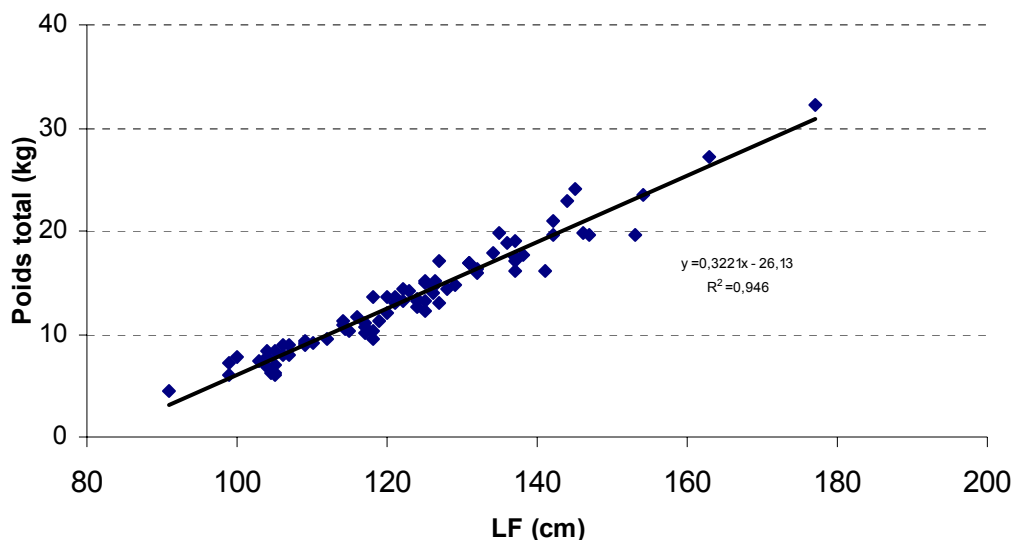


Figure 4 Relation entre la longueur à la fourche (LF en cm) et le poids total (kg) établis pour les géniteurs *A. sturio* du stock ex situ

1.2 Stock ex situ allemand (IGB Berlin, gestion IGB)

Le stock ex situ allemand est un stock fils du stock ex situ français. Il a été constitué par transfert d'individus issus des reproductions assistées de 1995, 2007, 2008 et 2009. Il est

hébergé dans un bâtiment dédié de l'institut d'écologie des eaux douces allemand (IGB) à Berlin (Figure 5 et Figure 6).



Figure 5 Bâtiment de l'IGB hébergeant le stock ex situ allemand (g) et signalétique mentionnant l'origine des poissons (d)



Figure 6 Exemple de bac hébergeant les *A. sturio* (g), poissons de la cohorte 1995 (d).

Tableau 2 Répartition synthétique des individus du stock ex situ allemand en fin d'année 2009. Effectifs (N) et poids moyen individuel en Kg par classes d'âge et sexe. Les classes d'âge suivies d'une étoile sont issues de reproductions assistées

	Cohortes	Femelles		Mâles		Indéterminés	
		N	Poids (kg)	N	Poids (kg)	N	Poids (kg)
Adultes	1995*	4	12.23	7	9.52		
Immatures	2007*					168	0.38
	2008*					254	0.13
	2009*					300	0.02
Total		4	48.91	7	66.61	722	97.12

2 Travaux de recherche sur le stock ex-situ

Les actions de recherche ont été numérotées suivant 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°14 : Mise en œuvre d'un protocole de préparation à la reproduction

Patrick Chèvre, Thierry Rouault, Marcel Pelard, Louis Jacobs, Daniel Mercier, Rémi Fraty & Julien St Sevin

Objectifs :

Identifier les conditions nécessaires pour 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 mais elle est également conditionnée par les conditions d'élevage tout au long de la vie en captivité des individus. Elle correspond aux phases finales de la gamétogenèse et comporte trois étapes successives : la vernalisation, la sélection des géniteurs et la simulation de migration.

2.1.1 Introduction, facteurs externes intervenant dans la maturation sexuelle.

L'atteinte de la puberté, puis de la maturation sexuelle, ainsi que la durée des cycles de reproduction chez les acipenseridés sont influencés par des facteurs environnementaux et génétiques. Température et alimentation interviennent de façon déterminante, notamment via la croissance. C'est ainsi qu'en captivité, l'utilisation d'aliments artificiels et d'eau réchauffée entraîne généralement une première maturité sexuelle plus précoce. Il est de 6 à 20 ans pour la plupart des espèces d'esturgeon en milieu naturel (Rochard et al., 1991), contre 3 à 10 ans en élevage (Doroshov et al., 1996).

En captivité, un conditionnement spécifique doit être adopté pour l'obtention des gamètes. Il est parfois différent de ce que l'on observe en milieu naturel, tout en restant dans les limites tolérées par l'espèce. L'objectif recherché est double : permettre un bon développement des gamètes (maturation), et rendre les géniteurs plus réceptifs au traitement hormonal qui est nécessaire pour leur libération.

Comme pour beaucoup d'autres espèces les travaux menés sur l'esturgeon sibérien ont montré qu'une vernalisation était nécessaire pour obtenir l'obtention de gamètes de bonne qualité et la synchronisation des pontes (Williot et al., 1991b). On sait par ailleurs que des températures chaudes (18 à 22°C) favorisent le développement ovarien et la spermatogénèse chez cette espèce. A contrario, les derniers stades de développement gonadiques sont affectés par des températures trop élevées qui peuvent entraîner des atrésies.

Cela conduit en captivité à mettre en place une gestion thermique adaptée au stade de développement sexuel des individus (matures ou immatures).

Peu d'informations sont disponibles concernant la nécessité de passage en eau douce des géniteurs. Mohler (2004) le recommande pour les géniteurs d'*A. oxyrinchus*, tout en indiquant que température et photopériode sont les facteurs essentiels pour la production de semences.

Pour le stock captif de géniteurs d'*Acipenser sturio*, les modalités de gestion actuelles tiennent compte des connaissances disponibles sur cette espèce en milieu naturel, des besoins spécifiques à des individus captifs (croissance, pathologie), des connaissances acquises dans le maintien en captivité d'autres espèces d'esturgeon, des moyens techniques disponibles.

2.1.1.1 Contrôle des conditions thermiques hors périodes de reproduction

Le contrôle de la température dans le bâtiment Sturio 1 est réalisé via une climatisation générale air/air. Ce dispositif a été installé afin de préserver les animaux des températures extrêmes (<10°C et >20°C), des mortalités avaient en effet été enregistrées lors de l'été 2006 ($T^{\circ} > 26^{\circ} \text{C}$). Toutefois il ne permet pas de gérer les bacs individuellement ni de réaliser des changements rapides de température. Cela semble tout à fait approprié pour les juvéniles en croissance (les conditions de vie marine sont assez stables), mais c'est pénalisant pour l'induction de l'ovulation chez les adultes.

Le schéma thermique prévisionnel annuel a été fixé entre 12.0 et 18.0° C \pm 1.0, ce qui correspond vraisemblablement à la gamme thermique rencontrée par les individus en mer autour de l'isobathe 20m. Par rapport aux températures rencontrés en estuaire (Min ca 6°C, max ca 25°C pour les juvéniles) ou en rivière (max 28°C pour les jeunes ou pour les adultes), on remarque que la gamme a été très réduite dans le schéma appliqué en captivité. La limite haute de 20° C a été principalement fixée pour des raisons de sécurité (temps d'intervention, en cas de panne du système général de thermorégulation). Même limitée la baisse de température hivernale semble efficace puisque l'on observe des maturations chez les géniteurs captifs, et qu'elles se déroulent durant la période naturelle de reproduction (mi mai - début juillet).

Le schéma thermique retenu conduit à un écrêtement des pics tout en maintenant une période chaude assez longue (début juin - mi septembre) (Figure 7). La baisse de la température se fait à l'automne sur un rythme plus lent que celui de l'augmentation printanière. Cela stimule la reprise alimentaire des géniteurs et facilite le fonctionnement du système de filtration biologique.

2.1.1.2 Contrôle des conditions thermiques et de la salinité pour les reproductions

Une gestion thermique spécifique est nécessaire pour les poissons en cours de maturation durant la période de reproduction (mai – juin) (Magnin, 1962). Les températures retenues sont celles observées au printemps sur les zones de frayères naturelles (de 18 à 20°C) (Figure 7).

Les moyens techniques actuellement à notre disposition dans le bâtiment Sturio 1 n'offrent que peu de possibilités pour simuler une migration de reproduction (dessalure et augmentation de la température) dans les bassins. L'eau des bassins abritant les géniteurs est remplacée en quelques heures par de l'eau douce issue d'un forage à 18°C. Cela conduit à une augmentation rapide de la température (par exemple fin mai de 15 à 18°C²). Cette

² Les premiers « réchauffements » réalisés fin mai sur les bassins réservés aux poissons en maturation entraînent une élévation de la température générale du bâtiment difficilement compensable par le système de climatisation actuel.

température est proche de ce que l'on observe en milieu naturel au mois de mai, mais la montée en température des poissons en migration est probablement plus rapide.

En 2009, il était prévu de faire coïncider au mieux les températures avec le modèle servant de référence les années précédentes (cf. Figure 7).

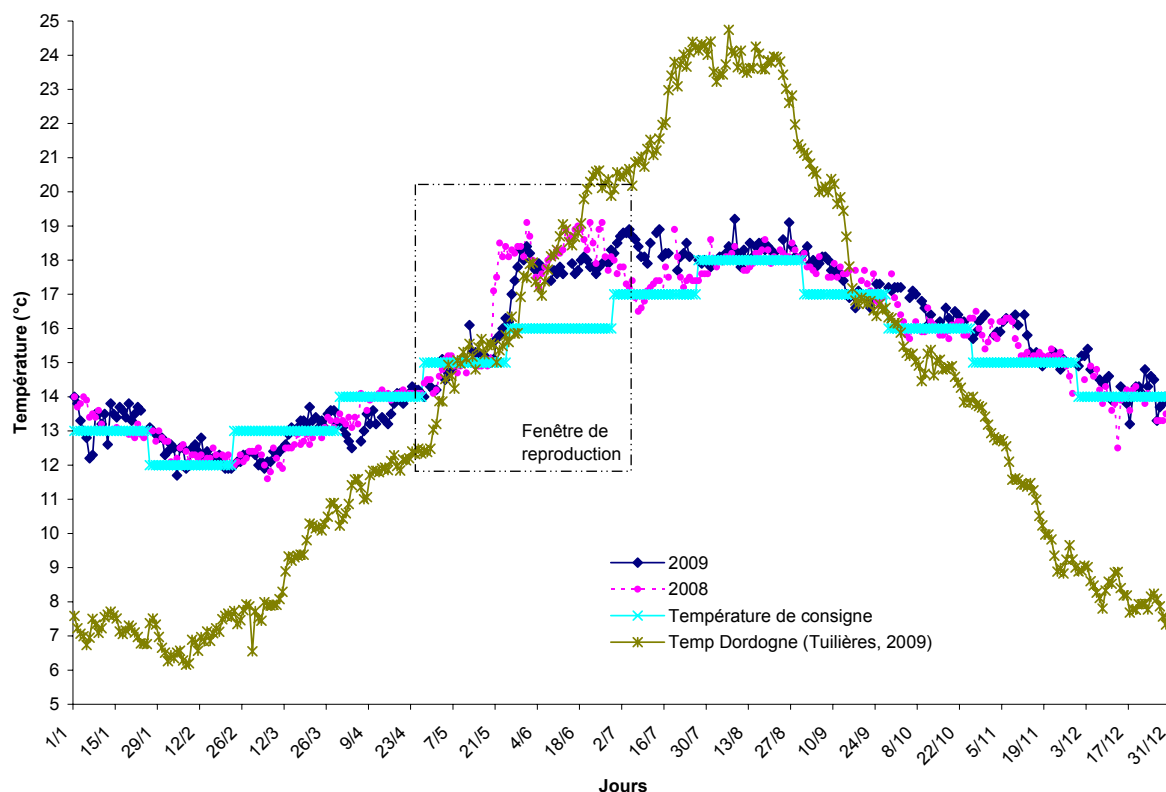


Figure 7 Températures de l'eau de la Dordogne, température de consigne du système de climatisation, température de l'eau dans les bacs des géniteurs du bâtiment Sturio 1 en 2008 et 2009. La fenêtrée de reproduction met en évidence les températures observées durant la période proche de la reproduction.

Il apparaît aujourd'hui nécessaire de gérer la température printanière de manière différente pour les immatures (pour lesquels le patron actuel de consigne semble approprié) et les géniteurs pour lesquels nous devons améliorer la phase finale de maturation. A cette fin, il serait souhaitable pour les géniteurs d'adopter en hiver et au début du printemps une température d'au moins 1°C inférieur à la consigne actuelle ; par contre l'augmentation à l'approche de la période de reproduction devrait être plus rapide. Nous allons progressivement faire évoluer nos structures pour pouvoir avoir un meilleur contrôle de ce paramètre.

2.1.1.3 Contrôle de la salinité

Dans la grande majorité des cas, nous avons procédé à un passage direct des géniteurs mâles et femelles d'une eau salée à 15°C et 15 de salinité à une eau douce à 18°C (eau de forage).

Une simulation essentiellement basée sur la hausse de température avec seulement une légère baisse de la salinité (passage de 15 à 9 sur 3 jours) a également été testé avec la femelle Francine en 2009. Ce protocole qui a conduit à 86 % de survie à l'éclosion des larves contre 20 à 30 % les années précédentes présente de nombreux avantages. Tout d'abord il limite le stress et le risque de maladies pour les poissons. Par ailleurs il permet de conserver l'utilisation de l'essentiel des bassins d'élevages, en effet, en cas de passage en eau douce, le fonctionnement des circuits fermés concernés est interrompu. La remise en route de la

filtration biologique après reproduction demande 2 à 3 mois, ce qui oblige temporairement à déplacer des poissons et à des concentrations élevées défavorables à la reprise alimentaire.

2.1.1.4 Effet des schémas thermiques et des variations de salinité réalisés.

L'objectif des simulations de migration est de préparer les poissons à la reproduction, notamment en agissant sur les dernières étapes du développement sexuel. Les effets du conditionnement peuvent être mesurés soit directement via l'observation du développement des gamètes et l'obtention de gamètes lors de la ponte ; soit indirectement au travers d'indicateurs sanguins liés à la reproduction.

L'obtention de gamètes de bonne qualité est bien sur le critère le plus déterminant. Dans nos conditions elle ne peut être obtenue sans l'utilisation conjointe d'une hormone de libération. Il faut donc être assuré de son efficacité pour pouvoir conclure sur l'efficacité du mode de gestion des paramètres de l'environnement. Des gamètes ont été récoltés de 2007 à 2009, dans des conditions environnementales différentes, permettant de recueillir des premiers enseignements.

Il semble nécessaire pour un meilleur contrôle de la maturation, de faire subir aux poissons sur l'année une plus grande variation de température. Vraisemblablement le passage en eau douce présente plus d'intérêt pour la stimulation des mâles qui séjournent plus longtemps en eau douce lors de la période de reproduction que les femelles.

2.1.2 Choix des géniteurs pour les reproductions

Nous ne disposons pas pour le moment de moyens simples permettant de distinguer avec certitude les géniteurs en maturation des autres. Tous les poissons d'une même cohorte n'arrivent pas à maturation en même temps. En élevage le cycle de reproduction est le plus souvent biennal chez les femelles d'esturgeon et annuel chez les mâles (Williot et al., 1991a Doroshov et al 1994) .

La sélection des géniteurs s'effectue en 2 étapes: la pré sélection et la sélection finale.

La pré sélection consiste à identifier les poissons en maturation parmi le stock de géniteurs. Une première indication peut être obtenue à cette occasion concernant les dates potentielles de ponte. Cette première étape est aujourd'hui relativement bien maîtrisée.

La sélection finale entre dans le champ de la préparation à la reproduction. Elle permet de choisir les géniteurs ayant les meilleures chances de donner des gamètes de qualité.

2.1.2.1 Méthodes employées pour la pré sélection des géniteurs

Dans les élevages d'esturgeons commerciaux, la pré sélection est réalisée à l'automne. La présélection des mâles est réalisée simplement par observation visuelle de l'embonpoint. Seuls les mâles ayant un embonpoint suffisant sont retenus. La détection des femelles en maturation est réalisée grâce à des biopsies. Elles révèlent, ou pas, la présence d'ovocytes ainsi que leur stade de développement, caractérisé par l'index de polarisation (IP). L'IP exprimé en %, correspond au rapport de la distance de la vésicule germinative à la périphérie de l'œuf et de la taille de l'œuf. Les IP faibles traduisent un développement gonadique avancé. De façon empirique, il a été possible chez *A. baerii*, de faire correspondre à chacun des groupes d'IP, la période de ponte la plus favorable (dans des conditions environnementales données). Cela a été rendu possible par l'analyse des résultats d'un très grand nombre de reproductions assistées.

Ce type d'information n'est pas disponible pour *A. sturio*. L'apparition des premières maturations est récente et nous ne disposons que d'un effectif limité de femelles adultes.

Le choix de l'automne comme période de pré sélection n'a pas semblé adapté pour *A. sturio* dans nos conditions d'élevage. L'alimentation naturelle utilisée n'est pas très riche et les

sujets ne peuvent pas facilement être nourris ad libitum. Ce qui oblige à un étalement de la période d'alimentation y compris en automne et en hiver.

Il a donc été décidé de réaliser la présélection en période de baisse de la consommation d'aliments (de fin mars à mi avril), qui précède la période traditionnelle de ponte de l'espèce. Les mesures annuelles de poids et tailles sont réalisées à cette occasion. Pour éviter de perturber inutilement les poissons, le choix a été fait de ne pas faire de biopsies à ce stade mais de privilégier des méthodes d'investigation moins invasives : l'échographie (pour tous les poissons) et le dosage sanguin de l'oestradiol (E2) et de la vitellogénine (Vtg), ou du calcium total (Ca^{2+}) pour les femelles.

L'échographie révèle la présence ou l'absence de gonades développées, et donne une indication sommaire concernant la taille des ovocytes pour les femelles. La prise de sang est réalisée dans la veine caudale des poissons. Des concentrations très élevées d'analytes indiquent que les femelles sont en phase de vitellogénèse.

L'échographie utilisée depuis 2008, semble être un outil très efficace pour identifier les géniteurs en maturation. Les suivis physiologiques sont complémentaires. Ils permettent de valider les résultats obtenus par échographie et de renseigner sur le stade de développement des ovocytes.

Le suivi des données de croissance des géniteurs a montré qu'il y avait un lien entre croissance et maturation chez les femelles. Certains critères comme l'embonpoint (K) et la prise de poids (TCJ) pourraient peut être à l'avenir également être utilisés pour la pré sélection des femelles.

2.1.2.1.1 Intérêt du TCJ comme indicateur pour la pré sélection des femelles

2.1.2.1.1.1 Evolution générale des TCJ

Une analyse des taux de croissance TCJ (en %) a été réalisée sur 4 années de 2006 à 2009. Une baisse de la moyenne des taux de croissance apparaît à partir de 2008 (TCJ moyen de 0,038 en 2006 et 2007 à moins de 0,02 les années suivantes). Plusieurs facteurs peuvent avoir conduit à cela :

- des charges trop élevées en élevage ;
- le ralentissement naturel de la croissance lors de l'ontogénèse ;
- l'accroissement du nombre de femelles en maturation.

La saison 2009 correspond à la plus faible croissance (TCJ moyen = 0,001). Plusieurs causes peuvent être évoquées : un nourrissage insuffisant des géniteurs d'avril 2008 à janvier 2009, mais également un nombre important de femelles ayant mûri la saison précédente. En effet après maturation, les femelles rencontrent des difficultés pour se réalimenter. Si l'on ne prend pas en compte ces femelles, la moyenne des TCJ en 2009 est alors de 0,016.

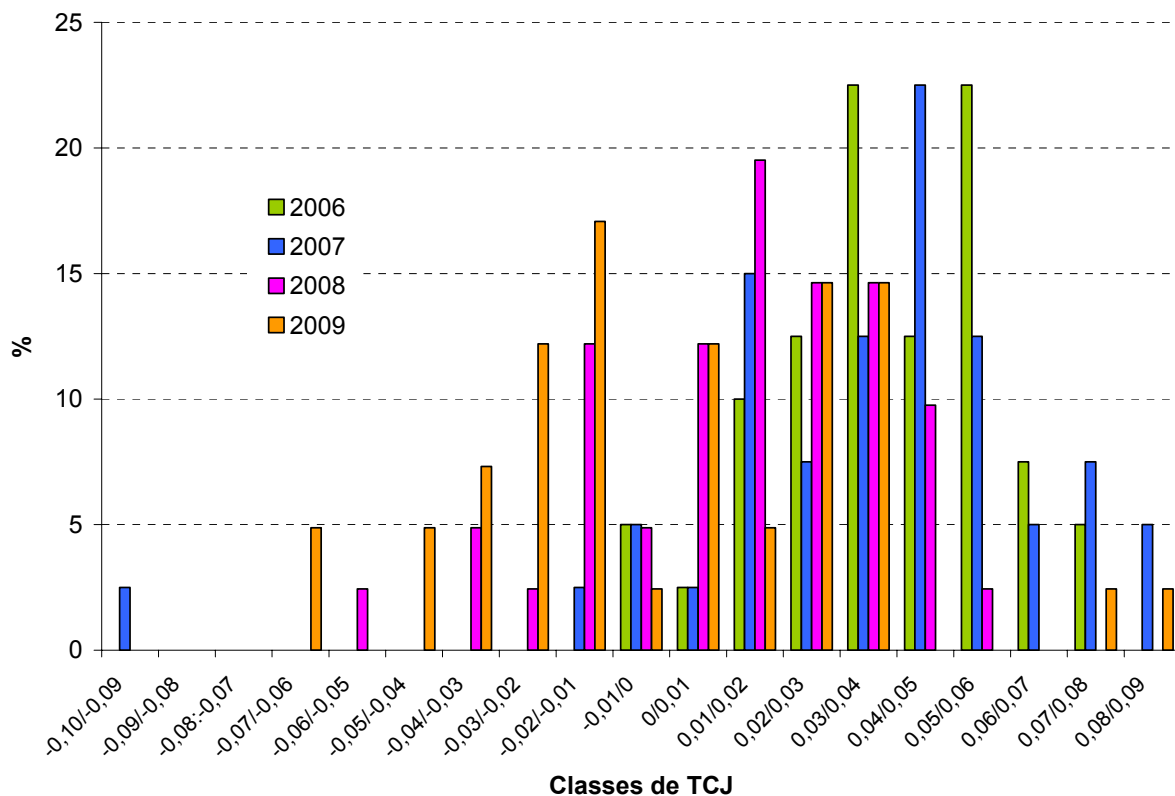


Figure 8. Distribution des taux de croissance journalière observés chez les géniteurs lors des quatre dernières années.

2.1.2.1.1.2 Relation entre taux de croissance et maturation sexuelle chez les femelles

Les données permettant de relier le taux de croissance journalière (TCJ) et la maturation sexuelle ont été collectées durant les saisons de reproduction 2007 à 2009 et concernent 41 femelles. Soit globalement 29 maturations et 128 "non maturations". L'analyse de la distribution des TCJ en fonction de l'état contrôlé des femelles permet de dégager certaines tendances (Tableau 3).

Sans prise de poids d'une année à l'autre, les femelles semblent avoir très peu de chance de mûrir. Les TCJ des femelles en maturation sont compris entre 0,01 et 0,09 (la majorité est située entre 0,03 et 0,04) et pour les valeurs de TCJ $\geq 0,07$, le taux de maturation est proche de 90 %.

Ces premiers résultats confirment le besoin d'un nourrissage suffisant des géniteurs et de rechercher les conditions les plus favorables à leur croissance. Il y a donc lieu de travailler à l'optimisation des rations et à une gestion spécifique tenant compte : des charges d'élevage, du stade de développement sexuel, ainsi que des modalités spécifiques de croissance (séparation nécessaire entre individus à croissance lente et forte). Un des facteurs les plus limitant actuellement est peut-être la surface d'élevage disponible. Le TCJ semble pouvoir apporter des éléments intéressants concernant la maturation des femelles, même s'il ne peut être utilisé seul comme outil de pré sélection.

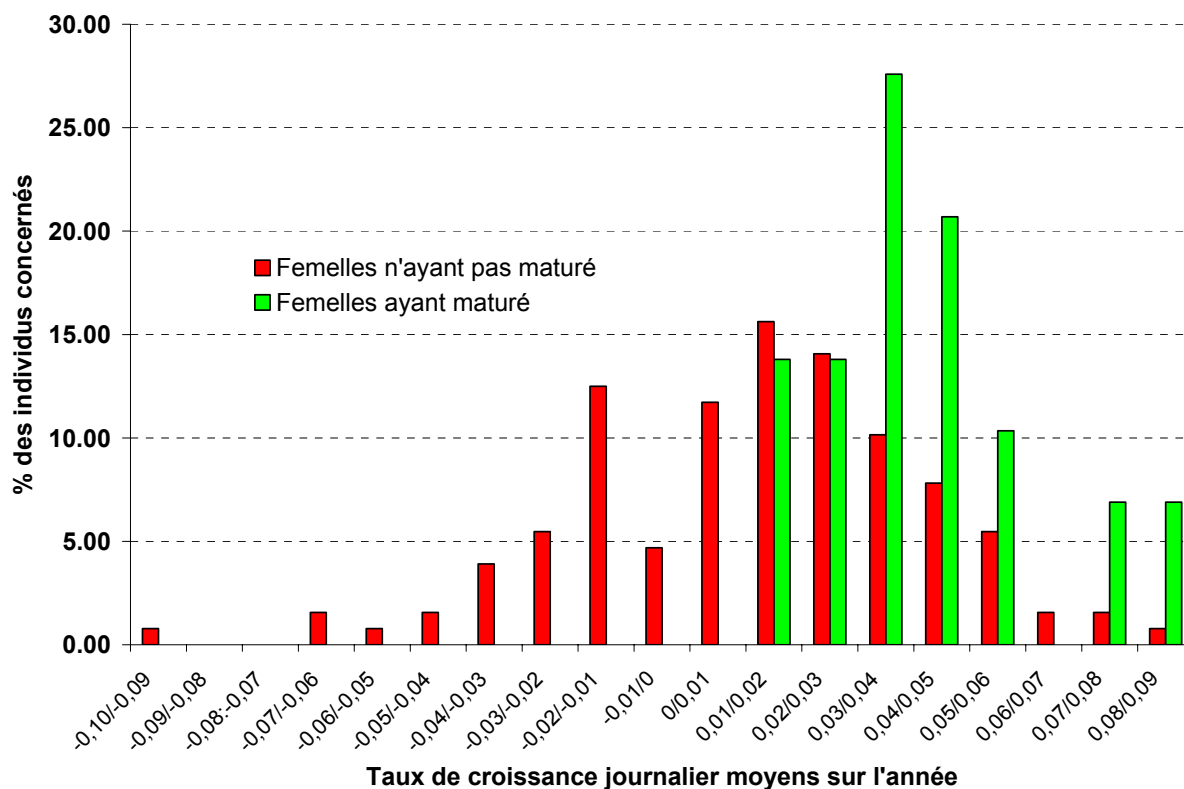


Figure 9 Comparaison de la distribution des taux de croissance journalier (%) de 2007 à 2009 en fonction du statut sexuel, l'année de l'observation, des femelles adultes du stock captif.

2.1.2.2 Effectifs pré sélectionnés, prévisions à N+1 et validation des méthodes employées

En 2009, la pré sélection des femelles s'est appuyée sur le dosage de stéroïdes sexuels (oestradiol, E2) et de la vitellogénine (VTG). Les prises de sang ont été réalisées les 24 et 25 mars 2009 sur 72 adultes du stock captif et les analyses ont été réalisées par Blandine Davail-Cuisset (LPTC, Université de Bordeaux I).

Treize femelles ont été retenues : Henriette, Aristide, Francine, 951201, DN, Julie, Thierry, Séverine, 337, Léonce, 313, 360 et 005. Nous avons par ailleurs examiné 20 mâles.

Tableau 3 Taux moyens d'hormones (E2, VTG) et de calcium l'année n dans le sang des esturgeons femelles selon l'état des femelles (maturation lors de l'année N, N+1 ou immature)

Saison	Date de prélèvement	Maturation en N			Maturation en N+1		Immatures	
		E2 (pg/ml)	VTG (µg/ml)	CA2+ (mg/l)	E2 (pg/ml)	VTG (µg/ml)	E2 (pg/ml)	VTG (µg/ml)
2008	20/02	33111	4967		2497	28	1539	3.96
2009	24/03	26243	9049	178	2997	21	1123	3.26

Tableau 4 Caractéristiques des femelles en maturation en 2009, biométrie et concentrations en analytes sanguins au moment de la pré sélection

Identifiant	Cohorte	Longueur (LF en cm)	Poids (en g)	[E2] (en pg/ml)	[VTG] (en µg/ml)
-------------	---------	---------------------	--------------	-----------------	------------------

Henriette	1994	118	13500	34710	13530
Aristide	?	131	16900	32660	7076
951201	1994	107	9000	14422	4980
Francine	1994	106	9000	23179	10610

Les 18 et 19 mai 2009 des échographies ont été réalisées sur l'ensemble des mâles et femelles. Elles ont confirmé la présence de 4 femelles et 14 mâles en maturation. Des biopsies et prise de sang ont été réalisées sur 3 des femelles dont la maturation semblait avancée (Henriette, Aristide, et 951201). Pour la quatrième femelle (Francine) la petite taille des ovocytes à l'échographie plaide pour une maturation en N+1. L'analyse des données sanguines (E2) a montré une stabilité des concentrations sur la période du 24 mars au 19 mai.

Les données issues des biopsies et cultures in vitro (Tableau 5) montrent que la maturation est significativement plus avancée chez la femelle 951201. Les ovocytes sont assez gros, proches du maximum observé de 3,2 mm. Les deux autres femelles semblent très loin de la maturation finale.

Tableau 5. Données issues des biopsies du 18 Mai 2009

Identifiant	Diamètre ovocyte (mm)	IP (%)	VGBD (%)
Henriette	2.5	24	33.5
Aristide	2.5	32	28.9
951201	2.9	13	90

2.1.2.3 Bilan

Il se confirme que les femelles en maturation l'année N présentent des valeurs très élevées à la fois pour l'oestradiol ([E2], 10 à plus de 100 fois supérieures à celles des autres poissons), la vitellogénine ([VTG], 100 à 3000 fois supérieures à celles des autres poissons) et le calcium ([Ca2+]). Sur cette base nous posons l'hypothèse d'une relation entre taux intermédiaires ([E2] de 2500 à 3000 pg/ml et [VTG] de 21 à 28 µg/ml) et maturation des femelles l'année N+1.

Il semblerait plus intéressant à l'avenir de rapprocher les dates choisies pour la préselection, des dates supposées de pontes. Cela permettrait d'améliorer l'alimentation des géniteurs, perturbée lors des manipulations. On peut penser in fine à regrouper biométrie, préselection et sélection finale. Cela permettrait de limiter le nombre de manipulations et de les réserver aux manipulations essentielles (biopsies, injections et reproductions).

Cela doit se faire progressivement, en fonction de l'avancée des connaissances concernant l'état de maturation des femelles du stock captif dans le temps. Plus on avance vers la période de maturation, plus on s'expose en effet au risque de rencontrer des poissons précoces en atrésie.

L'échographie seule pour les mâles, l'échographie associée aux dosages sanguins de l'E2 et de la VTG ou du calcium total pour les femelles, sont des moyens fiables pour la pré sélection. Il subsiste toutefois des cas particuliers pouvant poser problèmes, notamment des femelles présentant de petits œufs à l'échographie et des concentrations moyennes d'oestradiol et de calcium. Le dosage de la VTG permettrait une réelle discrimination de ces cas mais cela n'est pas réalisable dans des délais compatibles avec les impératifs de la

reproduction. Pour les cas litigieux, demandant une réponse rapide, une ou plusieurs biopsies de contrôle doivent être réalisées pour s'assurer du stade et de l'évolution des ovocytes.

2.2 Action n°15 : Réalisation de reproductions assistées en 2009

Patrick Chèvre, Daniel Mercier, Louis Jacobs, Marcel Pelard, Rémi Fraty & Julien Saint Sevin

2.2.1 Introduction

Chez de très nombreuses espèces de poissons en captivité, la maturation sexuelle ne va pas pour les femelles jusqu'à la maturation finale et l'ovulation. Cela est lié à l'artificialisation des conditions de conservation (Sumpter et al., 1994; Pankhurst and Van der Kraak, 1997). Des paramètres environnementaux différents de ce que l'on trouve en milieu naturel intervenant de façon défavorable (Zohar, 1989a,b; Yaron, 1995; Battaglione and Selosse, 1996; Ohta et al., 1997). Ces problèmes ont tendance à s'atténuer en fonction du degré de domestication des générations.

Maturation finale et ovulation chez les femelles, ainsi que spermiation chez les mâles ne peuvent le plus souvent³ être obtenues significativement que de façon provoquée. Cela s'effectue via un contrôle spécifique des paramètres environnementaux (principalement la température comme décrit précédemment) et (en fonction des espèces) l'utilisation d'une hormone de libération.

2.2.2 Sélection finale

La sélection finale permet de choisir les individus les plus aptes à libérer des gamètes. La spermiation des mâles est plus facile à obtenir en captivité que l'ovulation des femelles, car le cycle sexuel des mâles est plus court que celui des femelles. Elle semble pouvoir se dérouler sur une période d'environ 3 semaines, à l'intérieur de la période de reproduction.

En élevage intensif on joue principalement sur la taille de l'effectif sélectionné (10-15 mâles par ponte) pour s'assurer d'une production quantitativement et qualitativement correcte de semences. Cela n'est pas forcément le cas pour le stock d'*A. sturio*, composé d'effectifs réduits et dont l'alimentation ne peut être complètement optimisée.

En ce qui concerne les femelles dont on veut induire l'ovulation, le choix ne peut se faire à partir d'observations visuelles. Il est nécessaire de disposer d'outils spécifiques d'investigation.

2.2.2.1 Outils utilisés pour la sélection finale des mâles et femelles

La sélection finale des mâles est effectuée en élevage intensif d'*A. baerii* par contrôle visuel de l'embonpoint et massage abdominal. Les poissons à maturité libèrent partiellement de la semence, ce qui constitue un très bon indicateur. Ce protocole testé sur le stock captif de mâles d'*A. sturio* n'a jamais donné de bons résultats. Cela peut être lié à différents facteurs : la faiblesse des stimuli naturels dans les conditions d'élevage, le caractère peu domestique des individus (poissons issus de parents sauvages) les rendant plus sensibles aux stress et la qualité de l'alimentation ne permettant pas un développement optimal des gonades.

Des biopsies de contrôles sont réalisées avant injection. Elles permettent de disposer d'une indication concernant l'état de maturité de la gonade. Malheureusement aucun lien n'a encore été établi entre cet état et la capacité à donner de la semence. Le suivi des stéroïdes sexuels, compliqué à mettre en œuvre (nombre de poissons élevé, besoin de multiplication des prélèvements.), n'a pas été retenu. Des difficultés demeurent donc pour déterminer le

³ A noter toutefois les protocoles de reproduction basés sur des conditions environnementales particulières mais sans injections développés par Boyd Kynard pour *A. brevirostrum*.

meilleur moment pour injecter les mâles. Les efforts portent aujourd'hui sur l'amélioration de leur condition via une amélioration du nourrissage.

Pour les femelles, il existe des méthodes classiques permettant d'apprécier leur état de maturation et leur capacité à répondre à la stimulation hormonale. Il s'agit de l'examen microscopique des ovocytes, de l'observation de l'index de polarisation et du suivi in vitro de la maturation. Il est nécessaire pour cela de pratiquer des biopsies. Les informations recueillies manquent toutefois de précision, notamment pour renseigner sur le choix des meilleures dates de stimulation hormonale.

Cela ne pose pas de difficultés majeures dans le cadre d'un élevage à grande échelle. Un taux d'échec moyen après stimulation est intégré au plan de production et est compensé par le sur dimensionnement de l'effectif sélectionné.

Cela ne peut pas être réalisé pour les stocks captifs d'espèces menacées. Les effectifs sont en effet souvent réduits, ce qui est le cas pour *A. sturio*. Nous nous sommes alors penché sur les informations complémentaires pouvant être apportés par des indicateurs physiologiques. Il a donc été décidé de continuer durant la maturation les dosages d'E2 et de calcium total (faciles à mettre en œuvre et facilement exploitables en conditions de production). Des tests préliminaires ont d'abord été réalisés sur des esturgeons sibériens pour mesurer l'effet du stress lié aux prélèvements hebdomadaires, l'intérêt et la qualité des données recueillies.

2.2.2.2 Indicateurs classiques

Les méthodologies concernant les biopsies, le calcul de l'IP, et les cultures in vitro d'après Conte et al., (1988) ont été détaillées dans un document précédent (Rouault, et al., 2008b).

L'examen microscopique des ovocytes (taille, forme, colorations, état des enveloppes..) permet d'apporter des éléments sur le stade de maturation et leur qualité. Une variabilité importante dans la taille, la forme des ovocytes et des IP pour une même femelle ; ainsi que des enveloppes fragiles traduisent une maturation de mauvaise qualité. Des survies embryonnaires faibles sont généralement constatées à partir de tels ovocytes.

La taille des ovocytes augmente en fonction de l'âge des femelles et durant l'ovogénèse (Linares-Casenave 1993 ; Amiri et al 1996b ; Van Eenennaam and Doroshov 1998). En fin de vitellogénèse, l'ovocyte chez *A. transmontanus* atteint un diamètre >3mm. Il subit des changements architecturaux majeurs et prend une forme ovoïde avec un pôle animal légèrement saillant (Doroshov., 1996).

Le calcul de l'IP apporte une première information sur les chances d'obtenir l'ovulation par stimulation provoquée. Un indice inférieur ou égal à 0,07 est indiqué comme très favorable chez différentes espèces : *A. gueldenstaedti*, *A. transmontanus*, et *A. oxyrinchus*. Toutefois plusieurs auteurs (Williot et al.,1991, B. Gontcharov com. pers.) ont souligné le manque de fiabilité de ce critère.

La culture in vitro des ovocytes permet de vérifier leur capacité à atteindre la maturation finale. L'évaluation est réalisée via le suivi dans le temps de la migration du noyau vers la périphérie de l'ovocyte, jusqu'au stade de VGBD (vésicule germinal break down). Il s'agit d'une méthode plus fiable que la précédente. Elle apporte une première indication concernant la période favorable d'injection, en fonction du temps nécessaire pour atteindre le stade VGBD (observations réalisées toutes les heures, de 9h jusqu'à 24h après mise en contact avec la progestérone)

2.2.2.3 Données issues des indicateurs classiques (bilan saisons 2008 et 2009)

Chez les femelles d'*A. sturio* âgées de 14 à 15 ans, il semble que les ovocytes à un stade proche de l'ovulation puissent mesurer dans leur plus grand diamètre de 3,0 à 3,2 mm. A la

mi mai, les femelles dont les ovocytes ont une taille inférieure à 2,6 mm ont une forte probabilité d'ovuler en fin de période de reproduction (fin juin - début juillet).

A la même époque, la distribution des IP est comprise entre 0,10 et 0,32. Ces valeurs sont supérieures à ce que l'on peut observer en milieu naturel à l'approche de la maturation finale chez *A. gueldenstaedtii* (Moy IP=0,07 selon Dettlaff et al. 1993) et *A. oxyrinchus* (Moy IP = 0,10 selon Van Eenennaam et al. 1996). On semble par contre se rapprocher des valeurs observées par Stahl (2004) chez *Scaphirhynchus platyrhynchus*, avec un IP compris entre 0,25 et 0,35. Mi mai, la moyenne des IP pour les femelles *A. sturio* dont l'ovulation est prévue fin mai est de 0,14. Pour celles dont l'ovulation intervient fin juin, la moyenne est de 0,22.

2.3.2.2 Résultats des cultures in vitro

Environ 50 % des femelles en maturation observées en 2008 et 2009 ont montré des œufs de qualité moyenne à mauvaise en cultures in vitro. Dans les deux cas, il s'agissait d'ovocytes fragiles, de forme variable et de petite taille. Cela peut s'expliquer en partie par la jeunesse des poissons qui pondaient pour la première fois et en partie à une alimentation insuffisante.

En 2008 et 2009, les ovocytes d'environ la moitié des femelles en maturation montraient mi mai une réponse positive en culture in vitro (90 à 100 % de VGBD). Depuis 2008, très peu de femelles ont montré une réponse positive en juin (14,3 %).

Cela pose questions concernant :

- l'adéquation des paramètres zootechniques avec un développement gonadique en deuxième partie de période de reproduction ;
- la qualité pour *A. sturio* du milieu de culture in vitro mis au point sur *A. baerii*.

Les femelles qui ne mûrissent pas en début de saison ont fait l'objet d'un suivi supplémentaire. Cela pourrait engendrer un stress défavorable au développement gonadique. Il semble donc souhaitable dans les années qui viennent pour ces poissons d'espacer les biopsies de contrôles.

Pour la sélection finale, le choix des femelles se porte en premier lieu vers celles dont les ovocytes ont répondu rapidement (dans un délai de 13 à 15 heures) à la stimulation hormonale en culture in vitro.

2.2.3 Intérêt de l'utilisation d'indicateurs physiologiques pour le suivi de la maturation et le déclenchement des pontes chez les femelles

Les outils classiquement utilisés pour décider du déclenchement artificiel des pontes sont invasifs (biopsies) et lourds à mettre en œuvre. Les données issues de cultures in vitro informent surtout sur la capacité de réponse des femelles à la stimulation hormonale. Bien que plus fiables que l'observation de l'IP, elles sont peu informatives sur le choix de la date pour la stimulation hormonale. Il y aurait donc un intérêt à disposer d'informations complémentaires permettant d'apprécier l'état de maturité des femelles. Cela est possible de façon indirecte via l'interprétation des taux d'hormones sexuelles. De nombreux auteurs ont décrit l'évolution des taux sanguins des principales hormones stéroïdiennes, de la vitellogénine et du calcium en relation avec les stades ovocytaires. Il est toutefois difficile d'établir des comparaisons entre espèces car effectuées de façon non standardisée.

2.2.3.1 Régulation stéroïdienne et évolution des taux d'hormones durant le cycle sexuel

On constate une évolution annuelle des taux d'hormones liés à la reproduction chez de nombreuses espèces de poissons.

Le développement des gonades est contrôlé par l'axe hypothalamo hypophysaire. Sous l'influence de gonadotrophines (GTH 1 et GTH II chez l'esturgeon) produites par l'hypophyse, les gonades produisent des hormones stéroïdes (androgènes, œstrogènes et progestérones). Ces dernières sont responsables de la maturation et de la libération des gamètes.

L'esturgeon ne pond qu'une seule fois au cours de la période de reproduction. L'ovogénèse se déroule de manière synchrone pour les ovocytes de l'année.

La vitellogénèse exogène s'accompagne d'un accroissement significatif des niveaux d'œstradiol. La maturation finale et l'ovulation sont provoquées par une chute de la concentration en œstrogènes et un pic de l'hormone inductrice de la maturation (dérivé de la progestérone). L'évolution des concentrations en œstradiol (augmentation durant les phases de la vitellogénèse, et diminution durant les derniers stades de maturation) a été observée chez l'esturgeon par Linares-Casenave et al. (1994), Amiri et al. (1996), Doroshov et al. (1997), Webb et al. (1999). Selon Lu (2010), on constate chez l'esturgeon une augmentation des taux d'E2 au démarrage de la vitellogénèse, un pic en vitellogénèse moyenne, et une baisse en fin de vitellogénèse. Barannikova et al. (2004) ont montré que les taux d'E2 chez les femelles d'esturgeon russe *Acipenser gueldenstaedtii*, belouga *Huso huso* et esturgeon étoilé *A. stellatus* peuvent atteindre des pics en stade II (early previtellogenic) ou III (vitellogenic) et chutent en fin de maturation finale. Stahl en 2004 chez *Scaphirhynchus platyrhynchus* a trouvé une valeur maximale de 574,36 pg/ml au stade FIV (vitellogénèse tardive). Chez les femelles d'esturgeon Atlantique *A. oxyrinchus* les concentrations en E2, atteignent des valeurs élevées durant la maturation (5100 pg/mL) et chutent très fortement après la ponte (600 pg/ml; Van Eenennaam et al. 1996). Chez *A. sturio*, des valeurs très élevées ont été observées lors des contrôles réalisés en février-mars. La moyenne des concentrations en E2 pour les saisons 2008 et 2009 est de 34 000 pg/ml. Après ovulation les valeurs sont beaucoup plus faibles comprises entre 400 et 1000 pg/ml.

L'œstradiol stimule la production de vitellogénine par le foie. Cette dernière est une phospholipoprotéine qui est responsable de la production de granules vitellines dans les ovocytes (Barannikova et al. 2004). Sa concentration évolue durant l'ovogénèse. Chez la femelle Bester (hybride entre femelle belouga et mâle sterlet) les concentrations en VTG sont très basses chez les poissons immatures, augmentent durant la vitellogénèse (pic >3 mg/ml) puis chutent rapidement en fin de maturation finale (<1 mg/ml) selon Amiri et al. (1996). Van Eenennaam et al. (1996) indiquent que chez les femelles d'*A. oxyrinchus*, la concentration en VTG est élevée durant la gestation (2,52 mg/ml). Elle atteint selon eux un maximum au stade de l'ovulation (6,53 mg/ml), et chute après la ponte (1,32 mg/ml). Chez *A. sturio*, les données actuellement disponibles, montrent une augmentation des concentrations sanguines au cours du développement ovarien. La moyenne des concentrations en VTG le 20 février 2008 est de 4,961 mg/ml, celle des individus prélevés le 25 mars 2009 est de 9,049 mg/ml.

La VTG en circulation se lie avec le calcium libre. Les poissons maintiennent alors leur homeostasie grâce à la mobilisation de leurs réserves calciques ou l'augmentation des prélèvements dans l'eau (Linares-Casenave 1993). Comme cela a été dit précédemment de nombreux auteurs ont mis en évidence après previtellogénèse, une relation linéaire entre le ca total et la VTG. Il apparaît donc possible pour ces stades de mesurer indirectement la [VTG] via la mesure de [Ca²⁺] total.

2.2.3.2 Choix des paramètres sanguins et méthodes d'analyses

L'objectif principal est de parvenir à identifier le stade de maturation finale. C'est à ce stade précédant l'ovulation que les ovocytes arrivent à maturité.

Comme cela a été dit, en fin de vitellogénèse, les taux sanguins d'œstradiol, de vitellogénine et de calcium total baissent fortement. Le suivi dans le temps de ces taux est donc

susceptible de nous renseigner. L'intérêt du suivi d'un analyte par rapport à un autre reste à déterminer. Leur cinétique fine durant la maturation finale jusqu'à l'ovulation n'a pas été décrite chez *A. sturio*. Il y a par ailleurs des incertitudes sur la qualité de l'indication apportée par le calcium total. Les concentrations peuvent en effet varier en fonction de l'espèce et de son habitat. Allen (2009) a ainsi montré chez *A. fulvescens* des différences significatives en fonction de la rivière d'origine.

Les analyses doivent être fiables et nous devons pouvoir disposer des résultats dans un délai court (un ou deux jours), compatible avec la gestion en temps réel des reproducteurs pendant les pontes. Notre choix s'est orienté vers le suivi de l'œstradiol et du calcium total. Le suivi de la VTG n'a pas été retenu, car non réalisable dans les délais requis. Des échantillons sanguins ont toutefois été conservés pour une analyse à posteriori et vérifier la relation avec les données calcium. Le dosage du calcium par spectrophotométrie est facile à réaliser et peu coûteux (2,5 euros par analyse).

L'œstradiol est une hormone stéroïde gonadique. Ce type d'hormone est généralement peu spécifique. Dans ce cas, il peut être possible d'utiliser des anticorps humains pour sa détection par ELISA ou RIA. Nous avons fait le choix d'expérimenter ce type de méthode. En effet l'utilisation d'un test spécifique pose le problème déjà évoqué du temps nécessaire pour l'obtention des données. Les tests humains produits industriellement ont pour intérêt d'être peu onéreux et de bénéficier de nombreux tests qualité (dosage des sérums de contrôle au moins une fois par 24 h, vérification pour chaque nouveau produit d'absence d'altération des réactifs, calibration réalisée pour chaque série de réactifs à l'ouverture des produits, puis tous les 14 jours).

Notre objectif est dans un premier temps essentiellement qualitatif. Nous cherchons à dégager des tendances d'évolution (essentiellement la diminution importante des concentrations en fin de la maturation finale).

La vérification d'une relation éventuelle entre les valeurs trouvées avec anticorps humain et le développement ovocytaire ne peut être envisagée qu'après plusieurs années (accumulation des données de biopsies). Cela pourrait conduire à établir un référentiel (indépendant de valeurs spécifiques) permettant l'identification des stades de maturité.

Les différentes analyses ont été réalisées par un laboratoire de biologie médicale, proche géographiquement de la station d'expérimentation. Le dosage du calcium a été réalisé par test colorimétrique sur un automate Hitachi 911. L'œstradiol a été dosé sur un appareil de type VIDAS avec les réactifs VIDAS Estradiol II. Il permet la mesure quantitative du 17 B œstradiol totale par technique ELFA (Enzyme linked fluorescent assay). Le principe du dosage associe la méthode par compétition à une détection finale en fluorescence. Toutes les étapes du test sont réalisées automatiquement par l'instrument. La gamme de dosage standard va de 5 pg/ml à 4300 pg/ml. La reproductibilité intra essai varie de 2,2 à 7,5 (CV en %). La reproductibilité inter essai testé sur une période de 8 semaines varie de 3,2 à 9,5 (CV en %).

Pour les valeurs d'œstradiol > à 3000 pg/ml une dilution est possible dans du sérum humain. Des tests de dilution réalisés par la firme jusqu'au 1/8 montrent un pourcentage de récupération très proche de 100%. Pour les valeurs hautes sortant de la gamme, nous avons réalisés des dilutions jusqu'au 1/10. Le transport des échantillons, puis l'analyse et la transmission des données par le laboratoire a en moyenne pris une 1h 30 min.

Que ce soit pour les dosages d'œstradiol ou de calcium, des tests préliminaires ont été réalisés pour vérifier :

- les possibilités de détection et les taux décelables dans nos conditions d'élevage ;
- l'adéquation des gammes de lecture avec les concentrations observées ;
- l'efficacité des méthodes de dosage employées ;

- le pas de temps le plus approprié pour les prélèvements ;
- l'innocuité des prélèvements sur la santé des individus et les processus de maturation.

2.2.3.3 Tests préliminaires

Des dosages de calcium ont été réalisés en 2009 sur 3 lots différents d'*A. baerii* au moment de la sélection pour les reproductions. Les observations ont montré que les concentrations en calcium total sanguin, variables en fonction des individus étaient détectables. Elles se situent dans les gammes observées par de nombreux auteurs : J. Linares Casenave (2003) chez *A. transmontanus*, Peter J Allen (2009) chez *A. fulvescens*, JP Van Eenennaam (1996) chez *A. oxyrinchus*.

Les femelles au moment de l'ovulation semblent montrer des concentrations basses proches de la valeur plancher avant maturation.

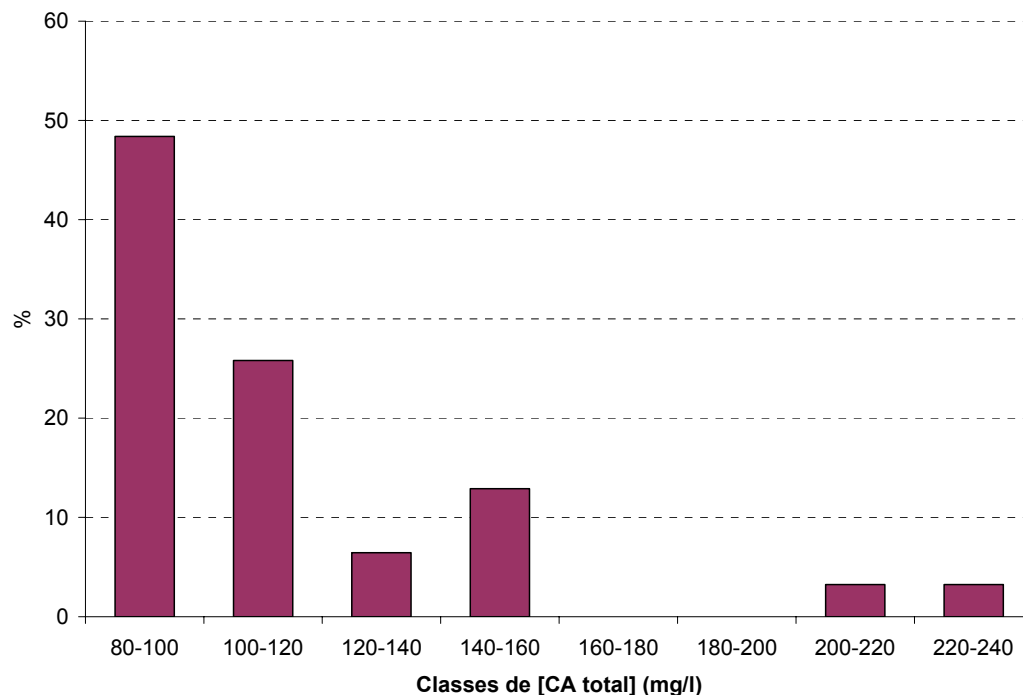


Figure 10 Evolution de la concentration en Calcium total (mg/l) chez des femelles d'*A. baerii*

Des tests comparatifs ont été réalisés à partir de trois méthodes différentes de dosages : La méthode ELISA traditionnelle avec anticorps spécifique, la méthode ELFA décrite plus haut avec anticorps humain, ainsi qu'une méthode RIA (radio immuno essay) utilisant également un anticorps non spécifique.

Le 25 mai 2008, deux femelles en maturation (Jeanne et Odile) ont été dosées par ELISA et ELFA. Les valeurs obtenues par ELISA sont comprises entre 16000 pg/ml et 19000 pg/ml et proches de 12000 pg/ml par la deuxième méthode

En 2009, des tests comparatifs ont été menés sur trois autres femelles (DN, Fiacre et Aristide) avec les trois méthodes. Les valeurs de référence (arrondies au millier) par ELISA étant respectivement de 2000 pg/ml, 4000 pg/ml et 32000 pg/ml. On trouve des résultats très proches en ELISA et ELFA pour les valeurs extrêmes (2031 pg/ml, 29217 pg/ml). Les valeurs en RIA semblent corrélées à celles obtenues en ELFA pour les deux concentrations les plus basses. La méthode RIA non spécifique testée a semblé la moins adaptée à la détection de valeurs hautes.

Des dosages d'oestradiol ont ensuite été réalisés sur des femelles après ovulation. Quelle que soit la méthode alternative utilisée (RIA ou ELFA), des valeurs faibles ont été détectées en rapport pour ELFA avec les données bibliographiques.

Le 25 mai 2008 on trouve pour 4 femelles une moyenne des concentrations en E2 = 521 pg/ml. Le 22 juin 2009 la valeur trouvée par ELFA chez la femelle francine après la ponte est de 1014 pg/ml.

2.2.3.4 Dosage du calcium et E2 chez *A. sturio* (analyse d'échantillons anciens 2008)

Une partie des échantillons sanguins prélevés en 2008 ayant été conservés, il a été possible de réaliser à posteriori des dosages de calcium et d'E2 avec la méthode ELFA.

Pour le calcium, on observe que les valeurs sont du même ordre de grandeur que celles rencontrées chez les autres espèces. Elles sont toutefois plus élevées que celles observées chez *A.baerij* en 2008 à stade de développement équivalent.

Au 10 mai 2009, la moyenne des concentrations en calcium total de 12 femelles en maturation est supérieure à celle observée le 15 février (243,5 mg/l contre 223,8 mg/l). Cela traduit l'avancée de la vitellogénèse. L'absence de données en mars avril ne permet pas d'indiquer si ces valeurs correspondent aux pics rencontrés en vitellogénèse moyenne ou tardive, comme indiqué par Linares et Van Eenennaam (2003).

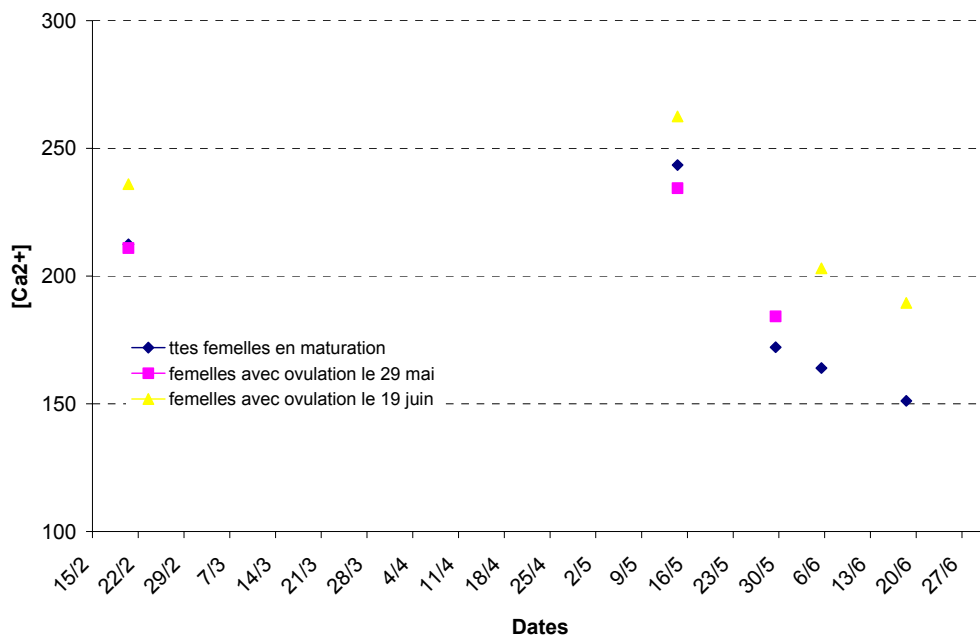


Figure 11 Evolution de la moyenne des taux de calcium chez les femelles *A. sturio* en maturation en 2008.

On observe une chute du taux de calcium total sanguin entre le 14 et le 29 mai 2008, pour les cinq femelles ayant ovulé à cette dernière date. Sur les 10 jours la moyenne du taux de calcium a baissé de 50 mg/l (soit une baisse de 5mg/l/j).

Pour les deux autres femelles ayant ovulé le 19 juin, la moyenne a baissé sur un rythme plus lent (- 73 mg/l pour une durée de 35 jours , soit - 2,08 mg/l/j).

La question se pose de savoir s'il est possible d'établir une relation quantitative entre baisse des taux et ovulation réussie. Ces seules données 2008 ne permettent pas de conclure. Il serait bon de disposer des valeurs les plus élevées pouvant servir de référence. Seul un petit nombre de femelles (7 au total) a ovulé et il existe une forte variabilité inter individuelle. De

plus le succès des reproductions (fertilité, survie embryonnaire) a été moyen à faible, avec des différences significatives entre les femelles.

La moyenne des taux d'oestradiol le 20 février 2008 est de 36620 pg/ml. Les valeurs s'étalent entre 8000 et 57000 pg/ml. Au 15 mai on observe un regroupement des concentrations et la moyenne n'est plus que de 15700 pg/ml. On constate donc une baisse générale des taux sur 3 mois, dont on ne peut connaître l'intensité faute de données intermédiaires. Les taux varient entre 8000 et 18000 pg/ml et les ovocytes ne présentent pas de signe de maturation finale. Il semble y avoir peu de risques d'observer des femelles en atrésies jusqu'à cette époque. Cela reste toutefois à valider par l'observation d'un plus grand nombre de femelles

Des ovulations ont été obtenues les 29 mai et 18 juin 2008. Après ovulation, les concentrations sont très basses, comprises entre 400 et 800 pg/ml.

Il est très probable que les femelles Thierry et Séverine (dont les taux d'E2 étaient déjà bas début juin) étaient en atrésie au moment de la 2^{ème} reproduction provoquée le 18 juin. Ces deux poissons auraient donc du répondre à la première stimulation. Cela pose la question de la qualité du conditionnement (gestion thermique, hormone).

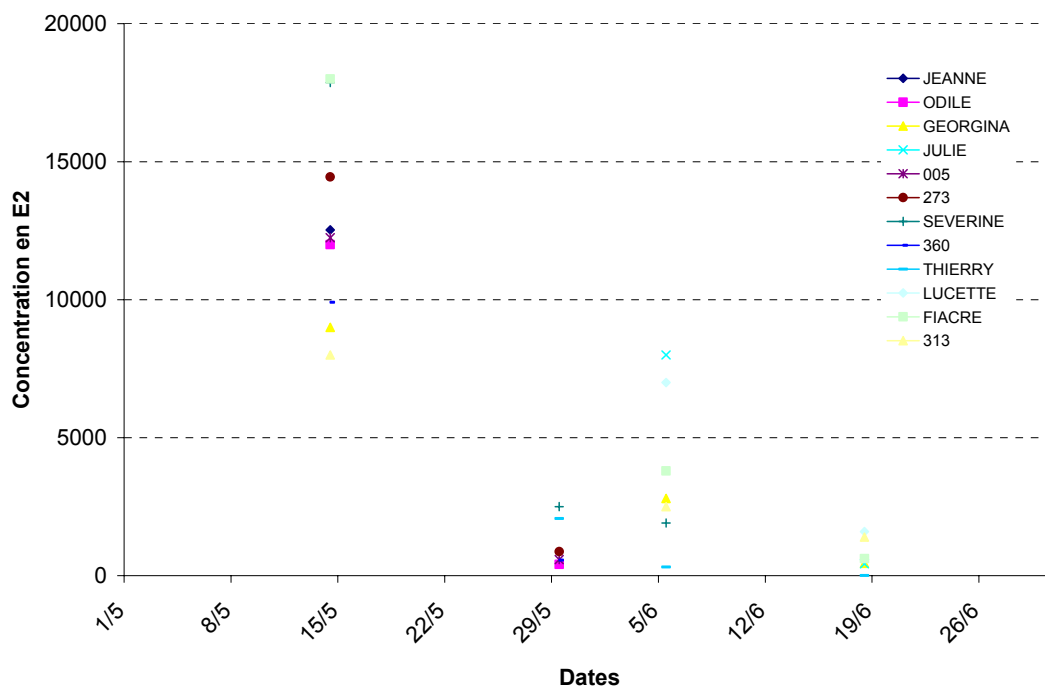


Figure 12 Evolution de la concentration en E2 chez les femelles A. sturio en maturation en 2008

2.2.3.5 Résultats des dosages de calcium, oestradiol et développement sexuel (saison 2009)

Biométrie et dosages sanguins (Œstradiol et Vitellogénine) ont été réalisés les 24 et 25 mars 2009. Ces premiers dosages, réalisés à l'Université de Bordeaux 1 ont détecté des signes de maturation pour 4 femelles (Henriette, Aristide, 951201 et Francine). Deux d'entre elles (Henriette et Aristide) ont été suivies de façon régulière pour l'E2 et le calcium. Les deux autres 951201 et Francine de façon beaucoup plus partielle.

Concernant les données calcium, une seule femelle (951201) a montré une baisse de son taux en mai. Cette baisse (mesurée à partir de la prise de sang réalisée le 18 mai) est extrêmement forte : -126 mg/l en 15 jours, soit une moyenne de - 8,4 mg/l/j. La valeur

mesurée le 2 juin est de 90 mg/l ce qui correspond à un niveau basal avant maturation. Dans le même temps, les valeurs d'œstradiol sont passées de 14400 à 1366 pg/ml. Un contrôle de l'état de maturité des ovocytes a été réalisé par biopsie le 3 juin. Il a montré un état de dégradation très avancé. La femelle a très rapidement évolué vers l'atrésie, ce qui n'est pas normal. On peut relier cela au manque d'efficacité de l'hormone utilisée, qui aurait entraîné la fin de maturation, mais pas l'ovulation. Il est également possible que le mauvais état de forme la femelle (embonpoint faible) ait conduit à la production d'ovocytes de mauvaise qualité.

Les trois autres femelles ont présenté des profils en calcium et E2 indiquant une fin de maturation en juin ou début juillet. Pour Henriette et Aristide, il n'y a pas eu de baisse significative des taux de calcium avant le 12 juin. Ils montrent ensuite une stabilisation entre le 12 et le 24 juin, puis recommencent à baisser. Les taux d'œstradiol ne semblent réellement commencer à baisser qu'entre le 22 et le 29 juin.

Chez Henriette, on trouve pour l'E2 et le calcium une évolution à la baisse beaucoup plus tardive que chez la plupart des femelles observées depuis 2008. Les résultats de cultures in vitro n'ont jamais été favorables (taux de VGBD = 0%). Une évolution positive avait pourtant été constatée concernant l'évolution de l'IP, passant de 24 % à 16 % du 24 mai au 18 juin 2009. Pour cette femelle dont la maturation apparaît fortement décalée, un effet défavorable des conditions environnementales n'est pas à exclure.

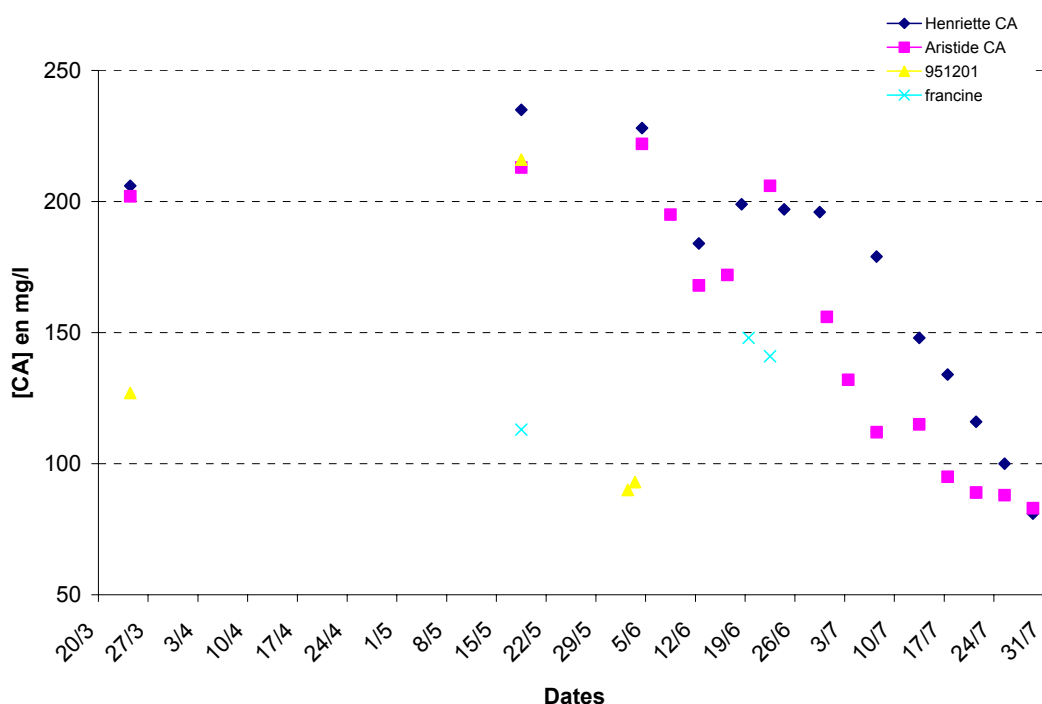


Figure 13 Evolution de la concentration en Calcium total des femelles en maturation en 2009

2.2.4 Bilan des informations concernant la maturation finale des femelles

Durant les saisons 2008 et 2009, certains éléments concernant la maturation des femelles *A. sturio* en captivité ont été mis en évidence. Le TCJ et donc l'alimentation des poissons semble intervenir de façon déterminante pour l'atteinte de la maturation sexuelle. L'échographie associée aux suivis de paramètres sanguins (E2, Ca²⁺, VTG) permet de détecter les femelles en maturation.

La technique humaine ELFA pour la détection de l'oestradiol peut être utilisée pour cela. Le dosage de la VTG (plus compliqué à réaliser) semble présenter un intérêt particulier pour la détection des individus à maturation tardive et à N+1.

Calcium et œstradiol semblent pouvoir également renseigner sur l'état d'avancement de la maturation. Le suivi œstradiol pourrait être plus informatif sur la qualité de la maturation. Les indications apportées par ces bio indicateurs sont avant tout qualitatives. Il reste à déterminer si des taux peuvent être corrélés à des stades de développement spécifiques des ovocytes.

Des prélèvements sanguins répétés peuvent générer un stress défavorable pour le bon déroulement des maturations. Il est donc proposé de les limiter dans les années à venir aux périodes où les poissons sont manipulés (pré sélection et contrôles par biopsies). Les premières biopsies ont pour l'instant été réalisées à partir de la mi mai. La taille des ovocytes observés à cette époque (24 - 32 mm) correspond aux observations réalisées sur des géniteurs sauvages capturés en milieu naturel, de mi avril à fin juin (Williot et al , 2002.). Deux groupes de poissons peuvent être différenciés :

- des femelles dont la taille des ovocytes est comprise entre 27 et 30 mm avec une moyenne des IP proche de 0,13.
- des femelles en nombre réduit présentant des ovocytes dont la taille est inférieure à 26 mm, et des IP supérieurs à 0,20.

Les résultats des cultures in vitro montrent qu'à chacun des groupes correspond une période de reproduction. De fin mai à début juin pour le premier et de mi juin à début juillet, pour le second.

Cela semble correspondre aux périodes habituelles de reproduction en milieu naturel. Certains éléments issus des indicateurs physiologiques vont dans le sens de ces données temporelles. Les taux d'œstradiol sont très élevés en février. On observe une certaine stabilité des taux entre le 29 avril et le 18 mai (moyenne [E2] = 12000 pg/ml). Ils semblent ensuite baisser fortement dans la période du 24 mai au 7 juin (en moyenne d'un facteur 2).

Les femelles présentent après ovulation des valeurs très faibles d'œstradiol comprises entre 400 et 1000 pg/ml. Les valeurs planchers de calcium comme d'œstradiol, des femelles n'ayant pas ovulé ne sont que très rarement observées après le 7 juillet.

Il semble y avoir des profils d'évolutions très différents des analytes sanguins selon l'état des géniteurs. Les poissons en bon état de santé et de forme (embonpoint), placés dans des conditions de maturation favorables (absence de températures extrêmes) montrent une progressivité de la maturation. On observe en effet un rythme à la baisse régulier des analytes et une synchronisation dans le temps. Cela peut être interprété comme favorisant la plasticité pour les dates d'ovulation.

Les cultures in vitro montrent des délais importants pour l'observation des VGBD, tout au long de la saison de reproduction. Cela n'est pas normal et pose la question de la qualité du milieu employé et de son adéquation avec l'espèce étudiée.

Il est possible d'obtenir des ovulations de qualité, malgré des IP qui peuvent être jugés élevés. La référence milieu naturel (IP proche de 0,05) ne doit pas être prise comme élément déterminant pour le choix des dates de stimulation.

2.2.5 Tentatives de reproduction

2.2.5.1 Simulation de migration

Les trois femelles présélectionnées ne paraissaient pas être à un stade proche de l'ovulation. Il a donc été décidé pour le passage en eau douce de reconduire le protocole utilisé en 2008. Les poissons ont donc été conservés une semaine en eau saumâtre pour réduire le risque d'infections après biopsies. Ils ont ensuite été transférés en eau douce le 25 mai 2009.

2.2.5.2 Suivis de maturation et Induction de pontes

Le 2 juin 2009, après une semaine passée en eau douce, la femelle 951201, la plus avancée, a reçu une stimulation hormonale (LHRH) pour tenter de provoquer la ponte. Cinq males ont également été injectés (Emile, 364, Bleu, Emeline et 365) qui ont tous donné de la semence. La femelle n'a pas ovulé. Une biopsie de contrôle a révélé que les ovocytes étaient entrés en atresie. Les analyses d'œstradiol et calcium réalisées les 2 et 3 juin ont indiqués des taux bas. Pour l'œstradiol, les taux étaient 10 fois inférieurs à ceux détectés lors de la présélection.

Pour cette femelle le temps séparant contrôle de la maturation par biopsie et date d'induction de ponte a vraisemblablement été trop long. Le passage vers l'atresie a été très rapide. Cela ne semble pas lié à un mauvais état de la femelle qui présentait un embonpoint correct ($K=0,73$) et avait eu une très bonne croissance. La gestion des paramètres environnementaux pourrait plus probablement être intervenue défavorablement. Le passage brutal d'une eau saumâtre à 16,5°C à une eau douce à 19°C a pu accélérer la maturation. Il semble donc important dans les années à venir d'avoir une meilleure gestion thermique en période de reproduction.

Le temps de passage en eau douce doit être adapté à l'état de maturation des femelles. Bien que conservés dans des conditions environnementales similaires, la vitesse de maturation peut être très variable en fonction des femelles et de leur état.

Onze biopsies de contrôle ont été réalisées du 4 juin au 26 juillet 2009. Elles concernent essentiellement les femelles Aristide (5) et Henriette (5).

Henriette n'a jamais montré un état favorable pour permettre une ovulation provoquée (10 % de VGBD au 26 juillet). Chez cette femelle, l'avancement de la maturation a semblé très lent.

A partir de la mi juin, les indicateurs de maturation ont semblé favorable chez Aristide. Une première induction hormonale a donc été réalisée le 16 juin 2009. Elle n'a pas permis d'obtenir d'ovulation. A partir du 20 juin et jusqu'au 26, juin, six injections de LHRH ont ensuite été effectuées. Elles ont entraîné un avancement de la maturation, mais jamais l'ovulation.

Pour Henriette et Aristide, on constate donc une inefficacité des moyens employés (Schéma thermique et induction hormonale) pour provoquer la fin de maturation et l'ovulation. Pour Henriette la maturation semble fortement retardée, ce qui pose également la question de l'adéquation des conditions d'élevage.

Les différentes tentatives de reproduction à partir des femelles dites avancées en terme de maturation ayant échoué, il a été décidé le vérifier l'état de maturation de Francine le 19 juin 2009. Cette femelle jugée plutôt en maturation à N+1 en début de saison avait été conservée en eau saumâtre. Les résultats de la biopsie ont semblé très favorables (diamètre des ovocytes 3,2 mm, IP 11,7 % et VGBD 100 %, avec une réponse dans les 17 heures).

De façon à ne pas risquer d'entraîner l'atresie des ovocytes (comme vu pour 951201), il a été décidé de ne pas procéder à une simulation de migration. La femelle a été conservée en eau saumâtre avec une légère dessalure (passage de 15 à 9).

Elle a reçue une injection hormonale 21 Juin. Le traitement a permis d'obtenir l'ovulation de la femelle le 22 juin à 17 heures.

Ce résultat semble montrer qu'il est possible d'obtenir des ovulations en eau saumâtre. Cela ouvre des perspectives intéressantes en matière de gestion des géniteurs femelles. Le passage en eau douce étant une opération délicate à réaliser, qui génère du stress et peut entraîner des mortalités (chocs thermiques, difficultés pour la gestion sanitaire, le contrôle de la qualité de l'eau..). La maturation peut se dérouler à des vitesses très variables suivant

les individus (très rapide dans le cas de Francine), ce qui pourrait s'expliquer par une différence de sensibilité à la stimulation hormonale.

2.2.5.3 Production de gamètes, nombre de larves produites

60205 ovocytes ont été obtenus représentant un peu moins de 9 % du poids total de la femelle. Ils ont été fécondés avec la semence de trois males de la cohorte 1995 : Hervé, 338 et Martinien, faute de pouvoir disposer de males de cohortes plus anciennes.

52902 larves ont été comptabilisées à l'éclosion, ce qui correspond à un taux de survie exceptionnellement élevé de 86,83 %. Ce taux est à rapporter au meilleur taux obtenu la saison précédente pour (30,5 %, Julie). 46878 jeunes poissons ont finalement été produits, dont 99 % ont été déversés en milieu naturel. Cela correspond à un taux de survie de l'ovocyte pondu à l'alevin déversé de 77,8 %. Il apparaît donc possible à l'avenir de compter sur des survies de cet ordre. Cela est très important dans un contexte de faiblesse à la fois des effectifs captifs (75 géniteurs) et du nombre annuel de femelle en maturation. Cela passe par la poursuite des efforts en matière d'alimentation des géniteurs et l'amélioration de la gestion des reproductions.

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 résument 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. Suite à la réussite de la reproduction 2007 nous avons programmé un minimum de campagnes de suivi en 2008 (mode veille : action 5) puis le passage en mode suivi de la population à partir de 2009 (action 6). Notre participation aux instances officielles (plans national d'action français et allemand) comme notre réponse à diverses sollicitations s'est maintenue.

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

3.1 Action n° 6. Suivi de la population relictuelle (niveau opérationnel)

Eric Rochard, Marie-Laure Acolas & Emy Rouleau

Objectifs : Suivre l'état de la population, documenter l'évolution des différentes cohortes, analyser l'intégration des poissons issus de reproductions ex situ et renseigner les captures accidentelles (toutes zones). Mettre à jour le tableau de bord de la population.

Intérêt : Avoir une vision à jour sur l'état de la population naturelle, estimer les effets des mesures de soutien et de sensibilisation.

Compte tenu des lâchers de juvéniles effectués en 2007 et 2008 nous avons activé en 2009 le passage au niveau opérationnel (Action 6)

3.1.1 Campagnes d'échantillonnages

Suite à des problèmes hydrauliques et mécaniques récurrents sur notre navire seulement 3 campagnes d'échantillonnage "Sturat" ont été effectuées en 2009 au lieu des six prévues (Tableau 6)⁴. La campagne de la campagne de septembre a été allongée pour compenser partiellement ce sous échantillonnage mais la couverture temporelle de l'année reste mauvaise. La couverture spatiale est également médiocre avec seulement une campagne (septembre) réalisant l'ensemble du protocole prévu en couvrant l'ensemble des zones.

Tableau 6 : Récapitulatif des campagnes "Sturat" effectuées en 2009. Dates des campagnes, nombre de traits de chalut effectués, nombre d'espèces de poissons capturées, nombre de poissons capturés, nombre d'esturgeons *A. sturio* capturés.

Campagnes	Nombre de traits	Nombre d'espèces	Nombre de poissons	Nombre d' <i>A. sturio</i>
30 Juin-1 ^{er} Juillet	10	13	711	1
14-16 et 28-30 septembre	21	18	3062	3
	13	16	1799	0
8-9 décembre	7	18	2052	2
Ensemble	51	25	7624	6

Le nombre très importants de poissons capturés lors de certains traits correspond à la capture de bancs de maigres *Argyrosomus regius* (49% des captures 2009) ou de mullet porc *Liza ramada* (43% des captures). Dans la mesure du possible nous essayons de les éviter en surveillant nos échosondeurs mais ce n'est pas toujours possible.

⁴ Les zones 11 et 12, situées dans des secteurs souvent difficilement praticables sont optionnelles.

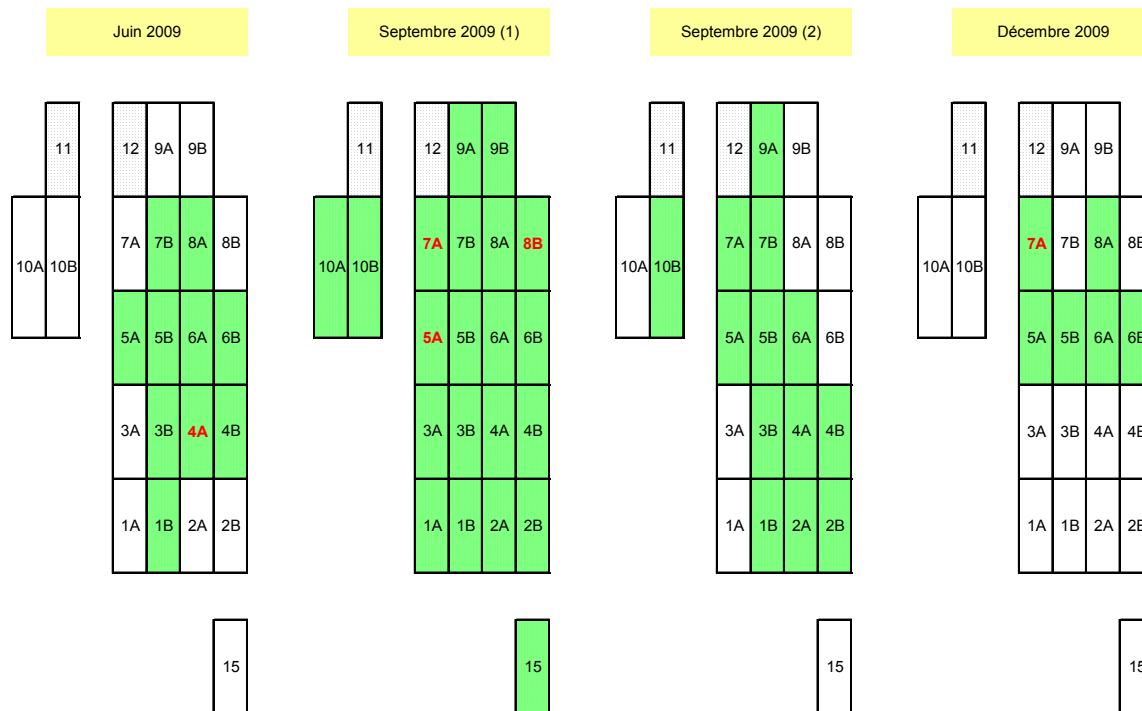


Figure 14 Récapitulatif schématique de la distribution géographique des traits de chaluts réalisés en 2009 (l'aval est en haut, l'amont est en bas). La campagne de septembre a été scindée en deux sur cette figure. En vert clair les zones échantillonnées une fois. En grisée les zones optionnelles. Les zones numérotées en rouge sont celles où ont été capturés des *A. sturio*.



Figure 15 : Exemple d'un trait de chalut (décembre 2009) avec un grand nombre de mulets porc capturés.

Seulement six jeunes *A. sturio* ont été capturés à l'occasion de ces campagnes 2009. Ils mesuraient (LF⁵) entre 42 cm et 67 cm pour un poids allant respectivement de 450 g à 2800 g. Etant donné leur taille et la localisation des captures (Figure 14) il s'agit vraisemblablement uniquement de poissons de la cohorte 2007.

Compte tenu de l'effort d'échantillonnage insuffisant cette année il n'est pas possible d'interpréter la localisation ni les périodes de captures. Il n'est pas non plus raisonnable d'estimer l'abondance dans l'estuaire des différentes cohortes.

⁵ LF : longueur fourche, mesure depuis le bout du museau jusqu'à l'échancrure de la nageoire caudale, évite les incertitudes de mesure liées à la partie distale de la nageoire caudale.



Figure 16 : Jeune *A. sturio* (n° HP3005 et PT3261694) capturé en décembre 2009 en zone 7A (LF 67 cm, 2800 g).

Le contenu digestif a été prélevé par lavage gastrique selon la méthode mise au point par Brosse et al. (2002) sur trois des individus capturés. Les identifications ont été effectuées par Laurent Brosse⁶ Le bol alimentaire était composé d'annélides polychètes (*Heteromastus filiformis*, *Nephtys sp.*), de crustacés isopodes (*Cyathura carinata*, *Idotea emarginata*), amphipodes (*Gammarus salinus*) ou décapodes (*Crangon crangon* juvéniles).

3.1.2 Suivi des captures accidentelles

Cette tâche est une des composantes de l'action 6 (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 relayé depuis début 2007 par le comité national des pêches maritimes et élevages marins (CNPMEM).

Suite à trois reproductions artificielles réussies (2007-2008-2009) et au lâcher de près de 130 000 jeunes en Garonne et Dordogne, les effectifs d'esturgeon dans l'estuaire de la Gironde ont, ou en tout cas devraient, fortement augmenter. On s'attend donc « mécaniquement » à une augmentation des captures accidentelles. Si ce n'était pas le cas il conviendrait d'en chercher les raisons en séparant ce qui ressort du comportement des pêcheurs (on signale ce qui est rare plus naturellement que ce qui est fréquent) ou de la capacité des poissons relâchés à s'acclimater dans l'environnement naturel (des travaux de recherche sont envisagés sur cette thématique).

Le suivi des captures accidentelles de la population relictuelle se poursuit à la fois dans l'estuaire de la Gironde et en mer (océan Atlantique, Manche, mer du Nord et dans une moindre mesure mer Baltique⁷). En mer il s'agit de suivre la localisation des captures accidentelles afin de détecter une éventuelle modification de l'aire de distribution de l'espèce. Le devenir des poissons est quant à lui considéré comme un indicateur de l'efficacité des mesures de sensibilisation menées par le CNPMEM auprès des pêcheurs professionnels. En Gironde il s'agit de répertorier les éventuelles captures accidentelles de répondre aux demandes des pêcheurs et de disposer d'informations complémentaires de nos échantillonnages sur le devenir et la localisation des jeunes poissons. Ces échanges ont eu lieu à l'occasion des campagnes de suivi télémétriques (3.2) et des campagnes de suivis systématique en estuaire.

3.1.2.1 Captures en zone marine

Aucun esturgeon *A. sturio* n'a été déclaré capturé accidentellement en zone marine en 2009.

⁶ Bureau d'études Aqua Logic

⁷ La veille concernant la mer du Nord et la mer Baltique est partagée avec l'IGB.

3.1.2.2 Captures dans le bassin Gironde-Garonne-Dordogne

Les captures accidentelles de 21 jeunes *A. sturio* ont été signalées en 2009. Ces captures ont essentiellement eu lieu en mars-avril (Figure 17).

La taille et la localisation des poissons sont conformes aux patrons de croissance et de déplacement des cohortes précédentes. Nous avons pu visionner une vidéo de l'un d'eux et son allure générale (forme, coloration) était également conforme. Tous les poissons ont été relâchés vivant et en bon état. Dix sept ont été signalés en Dordogne, quatre dans l'estuaire, aucun n'a été signalé en Garonne. Quatre d'entre eux étaient déjà marqués (2 de la cohorte 2007, 1 de la cohorte 2008). Les engins ayant permis ces captures sont les filets tramail à lamproie (N=14), à maigre (N=3) et à alose feinte (N=1), mais aussi la nasse à lamproie (N=2), et le haveneau à crevette (N=1) (Figure 18). Le plus petit individu mesurait environ 20 cm (probablement cohorte 2008), le plus gros environ 55 cm (cohorte 2007).

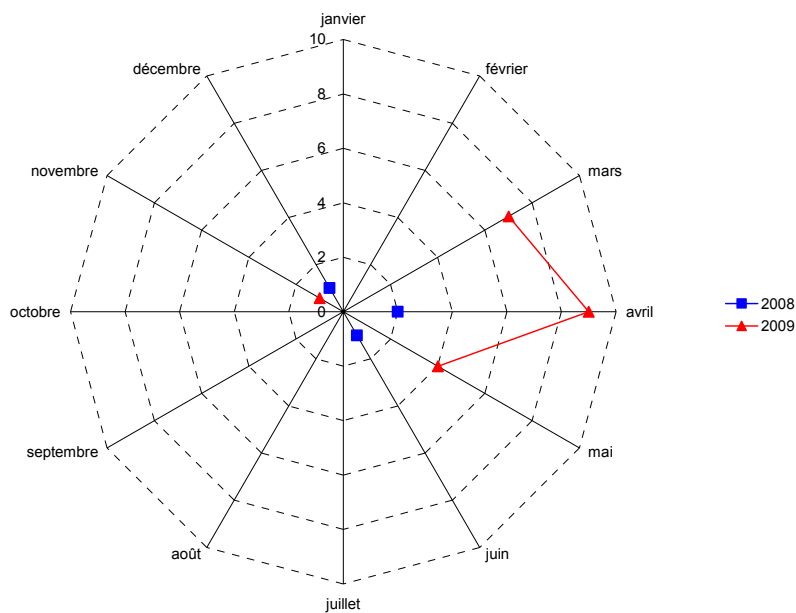


Figure 17 : Répartition mensuelle des signalements de captures accidentelles de jeunes *A. sturio* dans le bassin Gironde-Garonne-Dordogne en 2008 (bleu) et en 2009 (rouge).

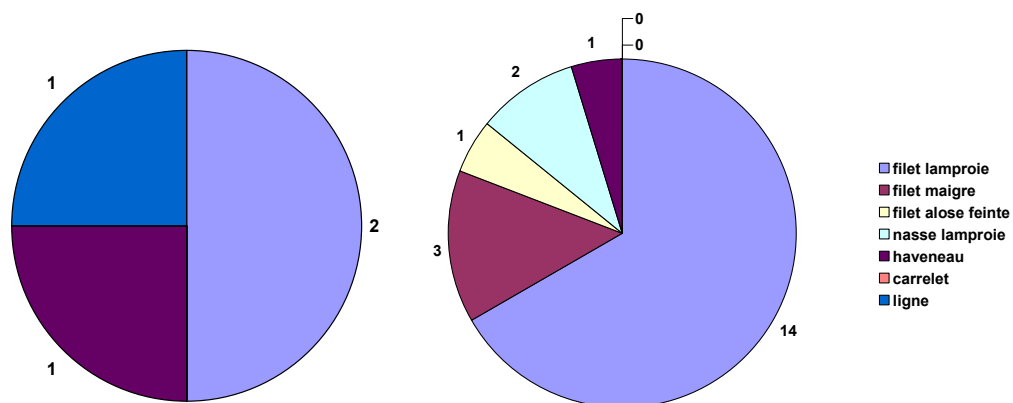


Figure 18 : Part des différents engins de pêche dans la capture accidentelle de jeunes *A. sturio* dans le bassin Gironde-Garonne-Dordogne en 2008 (g) et en 2009 (d). Les nombres correspondent aux effectifs capturés.

Compte tenu du nombre de poissons remis à l'eau depuis 2007 ce faible nombre de captures accidentelles signalées pose question. Pour une partie cela peut résulter de la forte médiatisation des lâchers en milieu naturel (cf. annexes), l'espèce apparaissant au moins localement et temporellement comme abondante aux yeux des pêcheurs ils ne voient plus l'intérêt de signaler sa présence. Par ailleurs pour de nombreux pêcheurs la déclaration est une contrainte et ils estiment ne rien avoir à gagner à cela ; au contraire ils craignent, au nom de la protection de l'esturgeon, de voir leurs pratiques encore plus limitées. Pour certains pêcheurs seuls les géniteurs méritent d'être signalés.

Nos informations ont été obtenues incidemment au hasard de rencontres sur le terrain ou via des pêcheurs avec qui nous collaborons depuis longtemps, que ce soit au sujet de l'esturgeon ou d'autres espèces. Il est notable que le CNPMM n'ait pas eu plus de retours d'informations concernant ce secteur. On ne peut pas exclure non plus que la survie (ou le séjour) des jeunes poissons déversés dans l'estuaire en 2007 et 2008 ait été plus faible qu'espéré.

3.2 Action n°10 Localisation et caractérisation des habitats fluviaux fréquentés par les jeunes.

Marie-Laure Acolas¹, Emy Rouleau¹, Eric Rochard¹ & Laurent Brosse²

1 Cemagref, UR Ecosystèmes estuariens et poissons migrateurs amphihalins

2 Aqua-Logic, 34 400 Lunel

Objectif : *Localiser et caractériser physiquement les habitats d'eau douce fréquentés par les jeunes *A. sturio*. Identifier les facteurs clés de la fonctionnalité de ces habitats, notamment leur fonction de nurserie.*

Intérêt : *Permettre la mise à jour de la cartographie des habitats fréquentés par les jeunes, proposer des mesures de gestion adaptées.*

3.2.1 Introduction

En 2009, les expériences mises en œuvre dans le cadre de l'action 10 (Rochard & Williot, 2006) avaient pour objectifs :

1) L'analyse en milieu naturel des tactiques de dévalaison de juvéniles de moins d'un an.

Dans ce cadre, le suivi des juvéniles par télémétrie acoustique initié en 2008 a été poursuivi en 2009. En 2008, les déplacements de juvéniles équipés d'émetteurs et âgés de 14 mois au moment de leur lâcher en milieu naturel ont été suivis pendant 6 mois (juillet-décembre 2008) en Dordogne, à l'aval de la Garonne et dans l'estuaire de la Gironde (Acolas et al., 2009). En 2009, des juvéniles équipés de la même façon ont été lâchés plus jeunes (9 mois) et plus tôt dans la saison (avril 2009) afin de documenter plus finement leurs tactiques de dévalaison.

En parallèle de ce suivi individuel des déplacements, nous avons réalisé des prélèvements de substrats afin de caractériser à large échelle l'habitat disponible dans la zone d'étude en termes de granulométrie et de proies benthiques potentielles.

2) L'étude en milieu contrôlé des performances de nage des juvéniles.

Afin d'apporter des éléments d'interprétations aux déplacements suivis en milieu naturel, les capacités de nage des juvéniles d'esturgeon européen ont été caractérisées en milieu contrôlé. En effet, pour cette espèce, on ne connaît pas les performances de nage ni les préférences thermiques (Staaks et al., 1999 ; Rouault et al., 2008a). Dans un premier temps, nous avons testé si la pose d'un émetteur dans la cavité péritonéale du poisson influençait les performances de nage des poissons. Dans un second temps, nous avons réalisé une étude préliminaire sur l'influence de la température sur ces performances de nage et le métabolisme associé.

3.2.2 Matériels et méthodes

3.2.2.1 Analyse en milieu naturel des tactiques de dévalaison de juvéniles de moins d'un an

3.2.2.1.1 Caractéristiques des poissons et des émetteurs acoustiques

Les poissons étudiés sont nés en 2008 et ont été élevés à la station de Saint Seurin sur Isle avec une alimentation naturelle jusqu'à ce qu'ils atteignent une taille suffisante pour être équipés d'émetteurs. Au total, 48 poissons (Longueur fourche = 31.0 cm \pm 3.0 ; poids = 165.8 g \pm 52.9) ont été équipés avec un émetteur de marque Vemco Ltd (Nouvelle Ecosse, Canada) dont la fréquence d'émission s'élève à 69 KHz avec un signal émis toutes les 15/45 secondes (puissance d'émission 142dB). De la même façon qu'en 2008 (Acolas, et al., 2009), les émetteurs ont été implantés dans la cavité péritonéale d'après la méthode de Bridger et

Booth (2003) et une marque externe numérotée (Hallprint Ltd, Australie) et d'une couleur particulière (rouge et jaune) a été placée à la base de la nageoire dorsale afin d'identifier le poisson en cas de capture accidentelle ultérieure par des pêcheurs.

Les poissons ont été transférés en eau de rivière environ 3 semaines avant leur lâcher en milieu naturel afin d'être acclimatés à la physico-chimie de l'eau. Ils ont été marqués 1 semaine avant le lâcher afin de surveiller le début de la cicatrisation. De plus, afin de préparer ces poissons aux conditions du milieu naturel, ils ont été entraînés à nager dans le courant quelques heures dans la journée (actionnement d'une pompe de circulation d'eau dans leur bac de stabulation).

3.2.2.1.2 Protocole de suivi en milieu naturel

De la même manière qu'en 2008, nous avons utilisé 2 types de récepteurs pour suivre les déplacements. Principalement des récepteurs passifs (Vr2w, Vemco Ltd) déployés à poste fixe dans le secteur d'étude (Figure 1) et occasionnellement un récepteur mobile (Vr28, Vemco Ltd) permettant une recherche active du poisson en bateau. Dans le rayon d'écoute de ces récepteurs (± 200 m de rayon pour les Vr2w), les émetteurs sont détectés et le récepteur enregistre la date, l'heure et l'identifiant de l'émetteur ce qui permet de recueillir des données individuelles spatialisées.

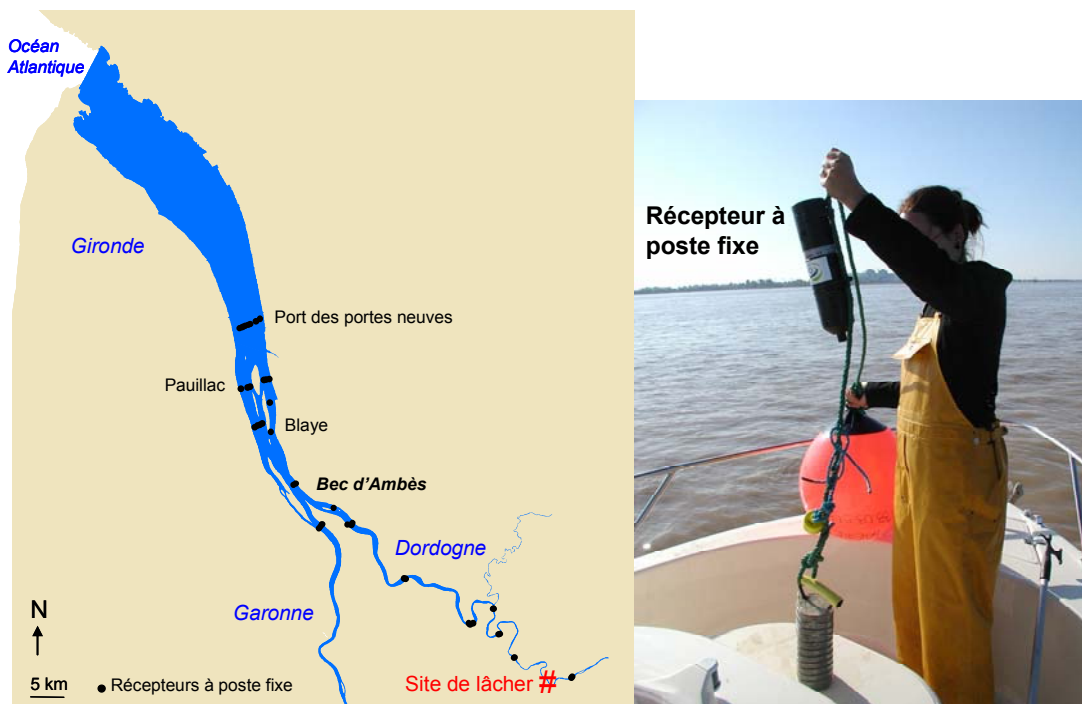


Figure 1 : Localisation du site de lâcher (#) et vue d'ensemble de la répartition des récepteurs à poste fixe. Au cours de l'étude, certains hydrophones ont été déplacés, cette figure correspond à l'ensemble des différents emplacements. Au total 39 hydrophones ont été utilisés, 6 hydrophones perdus avant d'avoir été déchargés ne sont pas représentés sur cette carte.

Au total 11 jours de terrain ont été nécessaires pour la pose en mars puis le retrait fin mai des mouillages des stations fixes. La pose de ces mouillages en estuaire et en Garonne a été sous-traitée au Service des Phares et Balises qui a mis à notre disposition des mouillages de 150 kg constitués de chaînes métalliques. Nous nous sommes chargés de la pose des mouillages en Dordogne (75 kg de corps mort en béton + chaîne). Nous avons préalablement contacté plusieurs pêcheurs locaux afin de nous assurer que la localisation de notre matériel ne constituerait pas une gêne à leur activité.

L'étude s'est déroulée en avril et mai 2009. 25 puis 23 individus ont été relâchés respectivement le 6 puis le 27 avril en Dordogne (Figure 1). Au total, 16 jours de terrain ont été nécessaires pour le déchargement des enregistrements des stations fixes et 6 d'entre eux ont également permis de réaliser un pistage actif.

Pour caractériser les habitats disponibles et les proies potentielles, des prélèvements de sédiments ont été réalisés à l'aide d'une benne Van Veen en amont de la Dordogne (0.6 l/point) et à l'aide d'une benne Smith-McIntyre dans l'estuaire et l'aval des fleuves (2.5l/point) (Figure 19). Entre avril et juin 2009, 2 points de prélèvement ont été réalisés à proximité de chaque récepteur fixe.

Ces échantillons ont été fixés puis conservés dans du formol à 8 % tamponné et ont été conditionnés dans des sacs plastiques eux-mêmes placés dans des caisses en plastique.

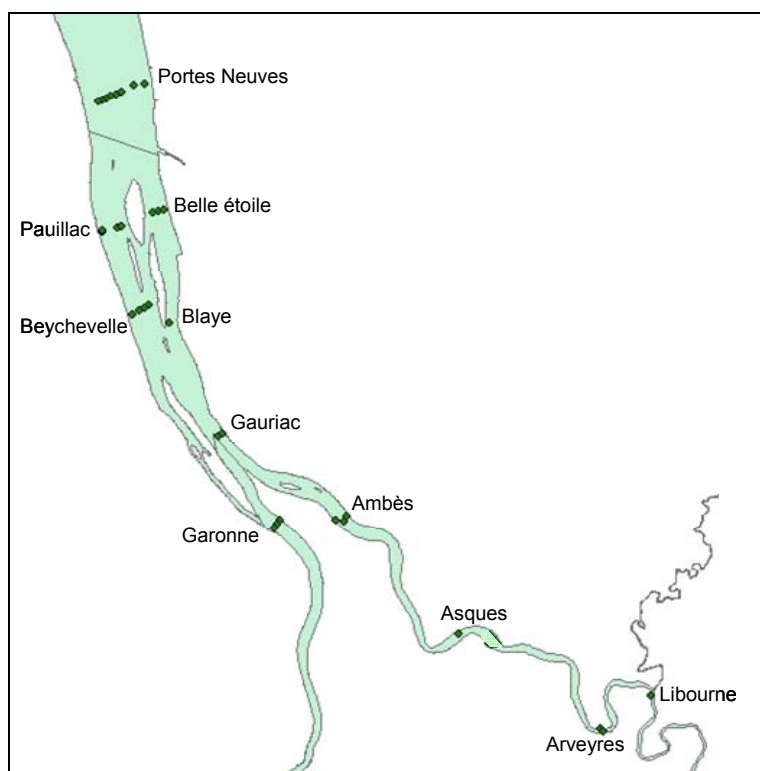


Figure 19 : Localisation des points de prélèvement pour l'analyse du sédiment et du benthos en 2009.

Les 96 échantillons de sédiment ont fait l'objet d'une analyse granulométrique par le CEREGE⁸ (cf. rapport en annexe). Le sédiment a été caractérisé macroscopiquement (graviers, sable, vase, crème de vase, argile ou argile durcie) puis a fait l'objet d'une analyse granulométrique suivant la technique du tamisage gravitaire (humide + mécanique) sur tamis suivant la norme A.S.T.M. Elle a été complétée pour 41 échantillons par une granulométrie laser (granulomètre laser de type Beckman Coulter LS 3 320). Les résultats ont été exprimés selon les normes A.S.T.M. (Tableau 7).

Tableau 7 Classification ASTM utilisée pour cette analyse

Description des classes	Diamètres des classes (mm)
Bloc	> 203.8

⁸ UMR 6635, Aix en Provence

Description des classes	Diamètres des classes (mm)
Galet	76.2 – 203.8
Gravier grossier	30.2 – 76.2
Gravier moyen	16.0 – 30.2
Gravier fin	2.0 – 16.0
Sable	0.075 – 2.0
Limon - argile	< 0.075

Le dénombrement et l'identification de la faune benthique présente dans les échantillons ont été effectués au niveau taxonomique le plus précis (genre ou espèce selon les cas) par Laurent Brosse.

3.2.2.2 Etude en milieu contrôlé des performances de nage des juvéniles

3.2.2.2.1 Effet du marquage intrapéritonéal sur les performances de nage de l'esturgeon européen

L'analyse des performances de nage des juvéniles a été réalisée grâce à un tunnel de nage (Figure 20) permettant de mesurer individuellement la vitesse de nage ainsi que la consommation d'oxygène associée. Ce travail a été réalisé en collaboration avec Christel Lefrançois, maître de conférences à l'université de La Rochelle⁹.

Les poissons testés sont issus de la cohorte 2008 née à Saint Seurin sur Isle. Au total 32 poissons (Longueur fourche = 30.2 cm ±1.0 ; Poids = 150.8 g ±12.0) ont été testés (16 poissons témoins et 16 poissons marqués en intrapéritonéal avec un émetteur factice de même taille et poids que ceux utilisés en milieu naturel). Ces poissons ont été répartis dans 2 bacs (8 marqués en intrapéritonéal et 8 témoins dans chaque bac) et conservés à une température de 16.6°C±0.6. Les poissons ont été marqués le 3 février 2009 et les tests en tunnel de nage ont été réalisés entre le 8 février et le 23 mars 2009.

Le principe du test en tunnel de nage correspond à un test d'effort. Chaque poisson est mis à jeun pendant 24h avant d'être introduit dans le tunnel la veille du test. Progressivement et par pallier, la vitesse du courant dans le tunnel est augmentée jusqu'à épuisement du poisson. Ce test permet de mesurer la vitesse de nage critique pour l'individu (Ucrit) qui correspond à la vitesse maximale que peut atteindre l'individu en métabolisme aérobie :

$$U_{crit} = U_i + (T \cdot T_i^{-1}) \cdot U$$

U_i = dernière vitesse pour laquelle le poisson a réalisé le pallier en entier (en BL/s c'est-à-dire en longueur de corps par seconde) ; *T* = temps pendant lequel le poisson a nagé au cours du dernier pallier non terminé (en min) ; *T_i⁻¹* = temps d'un pallier entier (en min) ; *U* = vitesse au cours de laquelle le poisson s'est arrêté (en BL/s), formule issue de Brett (1964).

Ce test permet également de mesurer la capacité métabolique individuelle. Les activités de l'animal sont limitées par l'amplitude de sa capacité métabolique aérobie (AMS). Cette dernière peut être perçue comme une jauge des performances physiologiques de l'animal (Mallekh et al., 1998 ; Claireaux & Lefrançois, 2007). L'AMS se mesure par la différence entre le taux métabolique aérobie actif (AMR) d'un individu et son taux métabolique de maintenance (SMR) (Fry, 1971). Le SMR correspond au niveau métabolique nécessaire pour assurer les activités de maintenance de l'animal. Le SMR est donc mesuré lorsque l'animal ne subit aucun stress, ne digère pas et ne présente aucune activité locomotrice. À l'inverse, l'AMR correspond au métabolisme maximal que l'animal atteint au cours d'un effort. Le test d'effort nous permet de mesurer directement l'AMR et de calculer le SMR pour obtenir l'AMS.

⁹ UMR LIENS, La Rochelle

Lors de cette expérience, la vitesse critique de nage et la capacité métabolique ont été comparées entre les individus témoins et marqués.

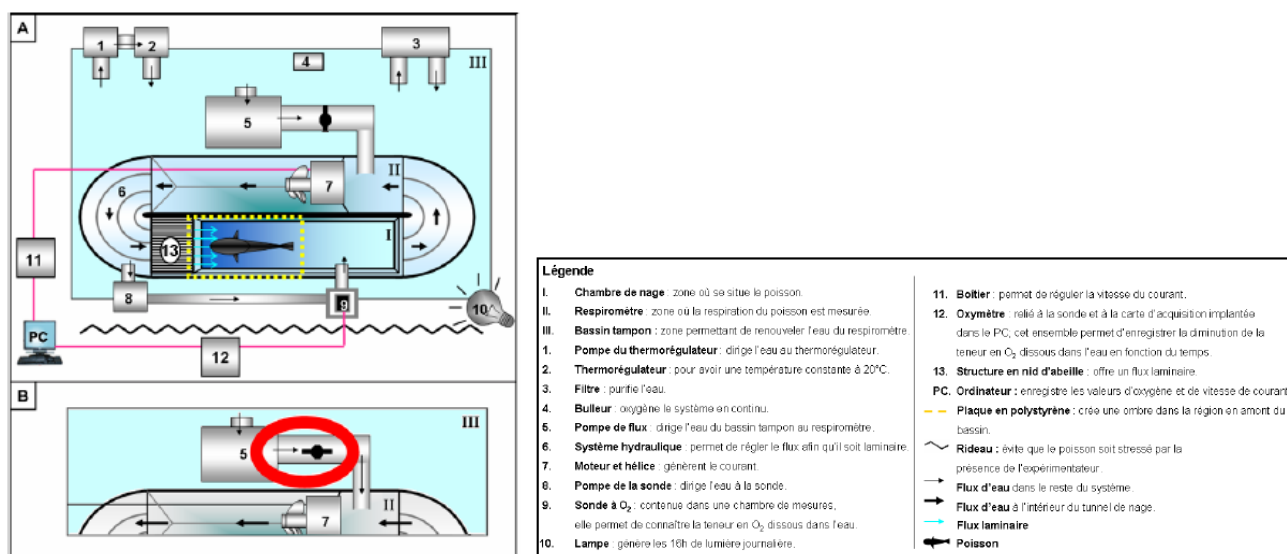


Figure 20 : Schéma du tunnel de nage (d'après (Acosta, 2007)) : A. Circuit fermé empêchant l'entrée d'eau du bassin tampon (III) au respiromètre (II) lors des mesures de respiration du poisson. B. Circuit ouvert permettant de renouveler l'eau à l'aide d'une pompe de flux (5) après avoir réalisé les tests.

3.2.2.2 Etude préliminaire de l'effet de la température sur les performances de nages de l'esturgeon européen

De la même façon que précédemment, les techniques de respirométrie ont été utilisées pour tester si la température influence les performances de nage des juvéniles. Ce travail préliminaire a été réalisé dans le cadre d'un stage de Master I (Nicolas Delage, université de la Rochelle) à la station de Saint Seurin sur Isle.

Les températures testées (19°C, 21°C et 24°C) correspondent aux températures que les esturgeons de cette taille peuvent rencontrer en milieu naturel durant l'été. Au total, 32 poissons ont été testés (Longueur fourche = 36.9 cm ±2.8 ; Poids = 291.5 g ±68.1) dont 13 à 19°C, 8 à 21°C et 11 à 24°C. Les poissons ont été acclimatés pendant environ 3 semaines à la température choisie avant de réaliser le test en tunnel de nage. Les tests se sont déroulés entre le 10 juin et le 10 août 2010 selon le même protocole que dans l'expérience précédente (cf. 3.2.2.2.1).

3.2.3 Résultats

3.2.3.1 Analyse en milieu naturel des tactiques de dévalaison de juvéniles de moins de 1 an

3.2.3.1.1 Devenir des poissons relâchés

Parmi les 48 poissons relâchés, 1 individu n'a pas été détecté par les stations fixes, 5 individus ont été détectés seulement en Dordogne et 42 individus ont fréquenté l'estuaire. Parmi ces derniers, seulement 2 poissons ont réalisé des incursions en Garonne. Au total, 21 040 détections ont été enregistrées par les stations fixes. Le nombre de détections par poisson varie de 8 à 3 161 soit une moyenne de 447 ±601 (écart-type) enregistrements par individu.

3.2.3.1.2 Comportement de dévalaison

Au sein du site d'étude, les hydrophones ont été placés de façon à former une barrière de détections en travers du fleuve ou de l'estuaire permettant ainsi d'enregistrer le passage d'un poisson d'un secteur à l'autre. Les barrières sont au nombre de 14 nommées de A à N ; les proportions de détections par barrière, tous poissons confondus sont indiquées (Figure 21).

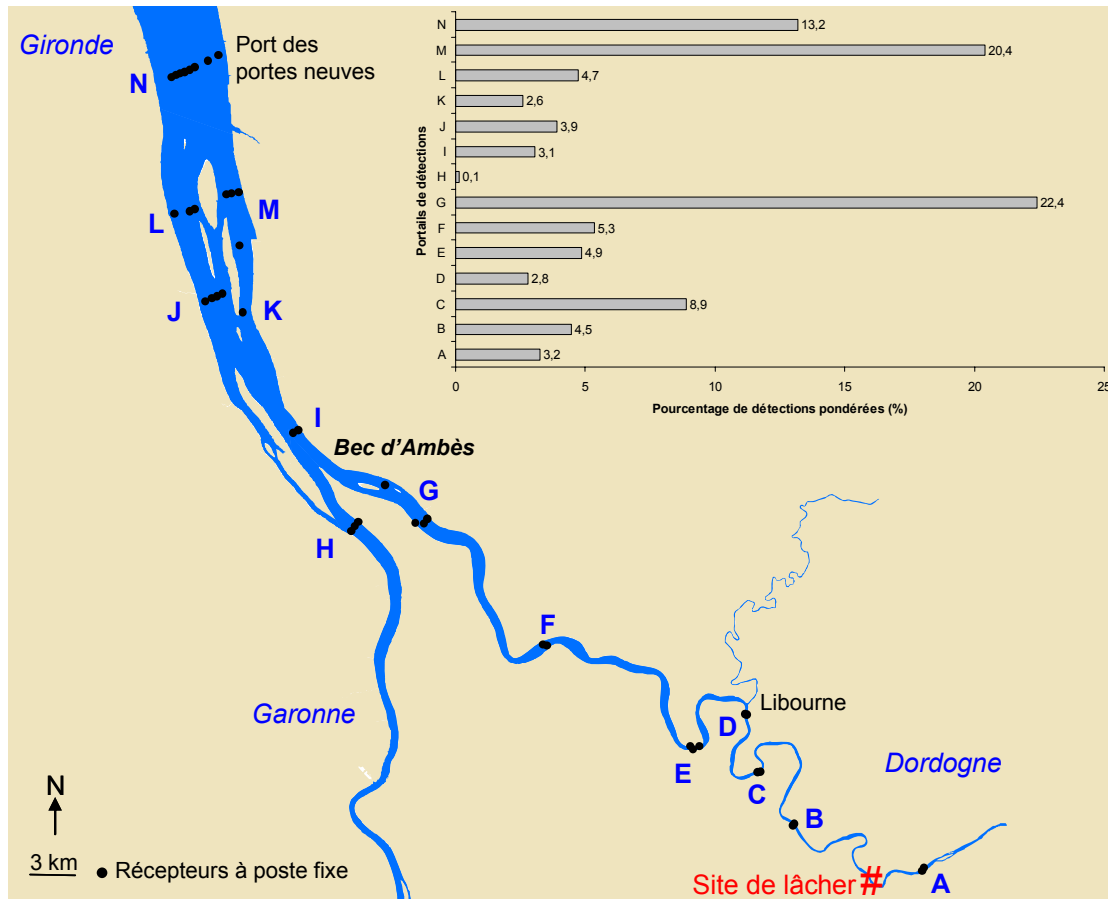


Figure 21 : Répartition des barrières de détections au sein de la zone d'étude. A chaque lettre correspond une barrière composée de plusieurs hydrophones permettant la détection du passage d'un poisson. En haut à droite est représenté le pourcentage de détections pour chaque barrière au cours de la période d'étude tous poissons confondus. Ce pourcentage est pondéré par la durée d'écoute de chaque hydrophone.

Sur l'ensemble de la période d'étude, si on considère l'ensemble des poissons suivis, la moitié des détections se concentre au niveau de 3 barrières : la barrière G qui correspond à la partie aval de la Dordogne à environ 62 km à l'aval du site de lâcher (dernière barrière avant le bec d'Ambès, 22.4 % des détections) ; la barrière M dans la partie oligohaline de l'estuaire en rive droite à environ 88 km à l'aval du site de lâcher (20.4 % des détections) et la barrière N dans la partie mésohaline de l'estuaire, la plus aval du secteur écouté à environ 97 km du site de lâcher (13.2% des détections). Une analyse individuelle des fréquentations permettra de mieux cerner les habitats préférentiels sachant qu'ils peuvent être différents selon les individus.

D'après l'analyse préliminaire des trajectoires individuelles, 4 patrons de dévalaison semblent se dégager :

- (1) Les poissons qui dévalent directement jusqu'à la fin du site d'étude (Figure 21, port des portes neuves, barrière N) : 24 individus.
- (2) Les poissons qui dévalent jusqu'à la fin du site d'étude après avoir effectués des déplacements de type aller retour au sein du site sous écoute : 12 individus.
- (3) Les poissons qui dévalent en estuaire mais se sédentarisent avant d'atteindre la fin du site d'étude (Figure 21, poissons non détectés par la barrière N mais au niveau des barrières L ou M) : 5 individus.
- (4) Les poissons qui se sédentarisent en Dordogne ou très à l'amont de l'estuaire pendant l'étude : 5 individus.

Ce type de patron devra être confirmé et affiné par la suite par une analyse statistique. Par ailleurs, on notera que 2 individus ne sont pas concernés par ces patrons (1 individu non détecté et 1 individu avec très peu de détections).

3.2.3.1.3 Caractéristique des habitats fréquentés

Parmi les 96 échantillons analysés le sédiment est composé majoritairement de silts+argiles dans 59% des cas, de sables dans 25% des cas et de graviers dans 17% des cas (respectivement 56%, 12% et 33% pour les prélèvements faits en Dordogne (N=43) ; 60 %, 36% et 4% pour l'estuaire (N= 47); 67%, 33% et 0% pour la Garonne (N=6)) (Figure 22). On notera que la Dordogne se distingue de l'estuaire à l'aval du bec d'Ambes par une plus grande proportion de sites avec des graviers (diamètre des grains > 16 mm) et au contraire un faible nombre de sites avec une prédominance des sables.

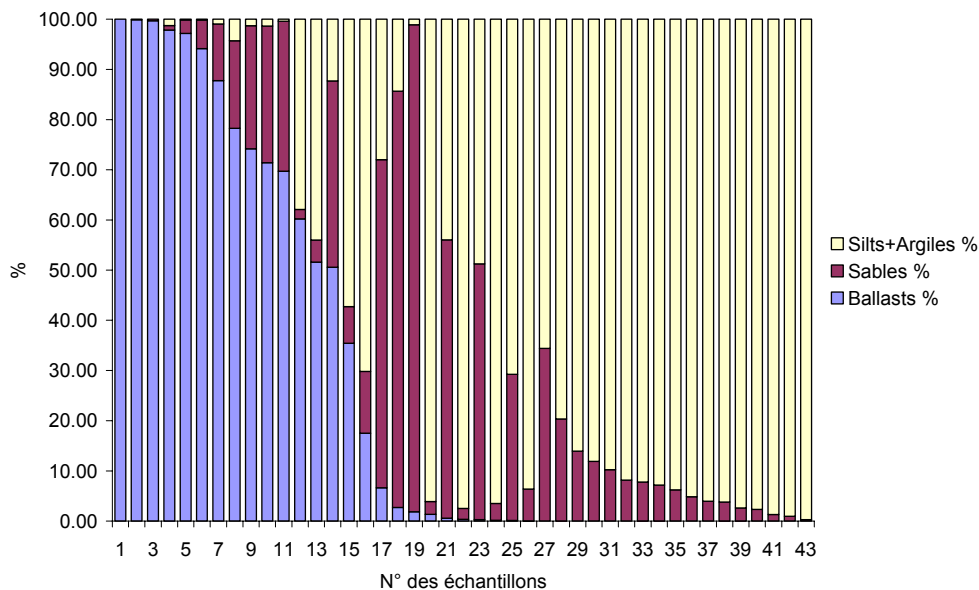


Figure 22 : Proportion de ballast, sables et silts+ argiles dans les échantillons analysés en Dordogne (N=43).

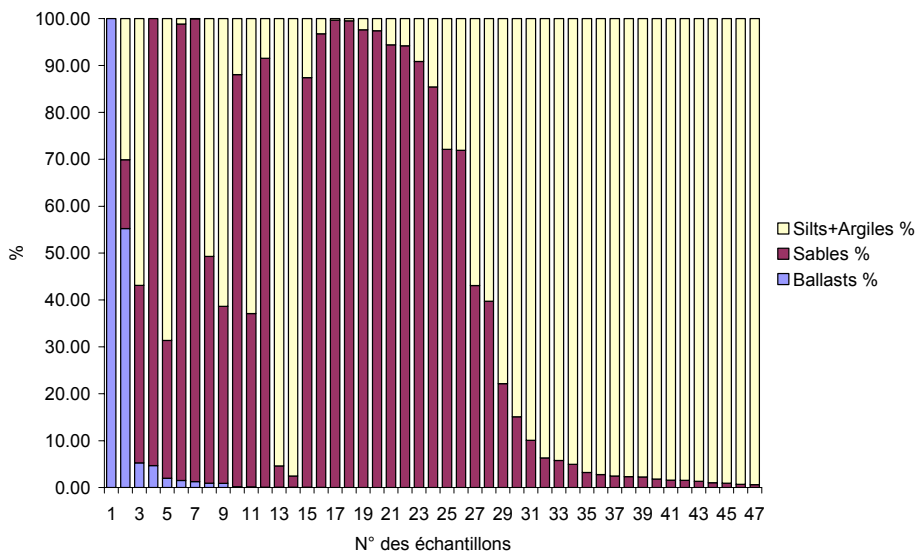


Figure 23 : Proportion de ballast, sables et siits+ argiles dans les échantillons analysés dans l'estuaire à l'aval du bec d'Ambes (N=46).

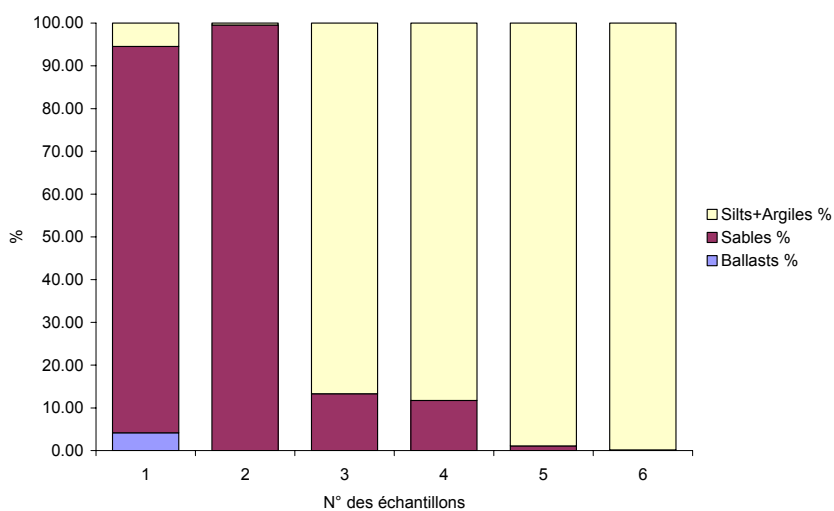


Figure 24 : Proportion de ballast, sables et siits+ argiles dans les échantillons analysés en Garonne (N=6).

Concernant le benthos on peut noter les éléments suivants : un nombre important d'échantillons (24 sur 96) ne contenant aucune faune ; un nombre important d'échantillons (environ 40 sur 72) comprenant moins de 10 individus ; une diversité totale faible (au maximum 15 taxons) avec de nombreux échantillons ne comprenant qu'un à deux taxons ; des peuplements dominés par les oligochètes ou les polychètes.

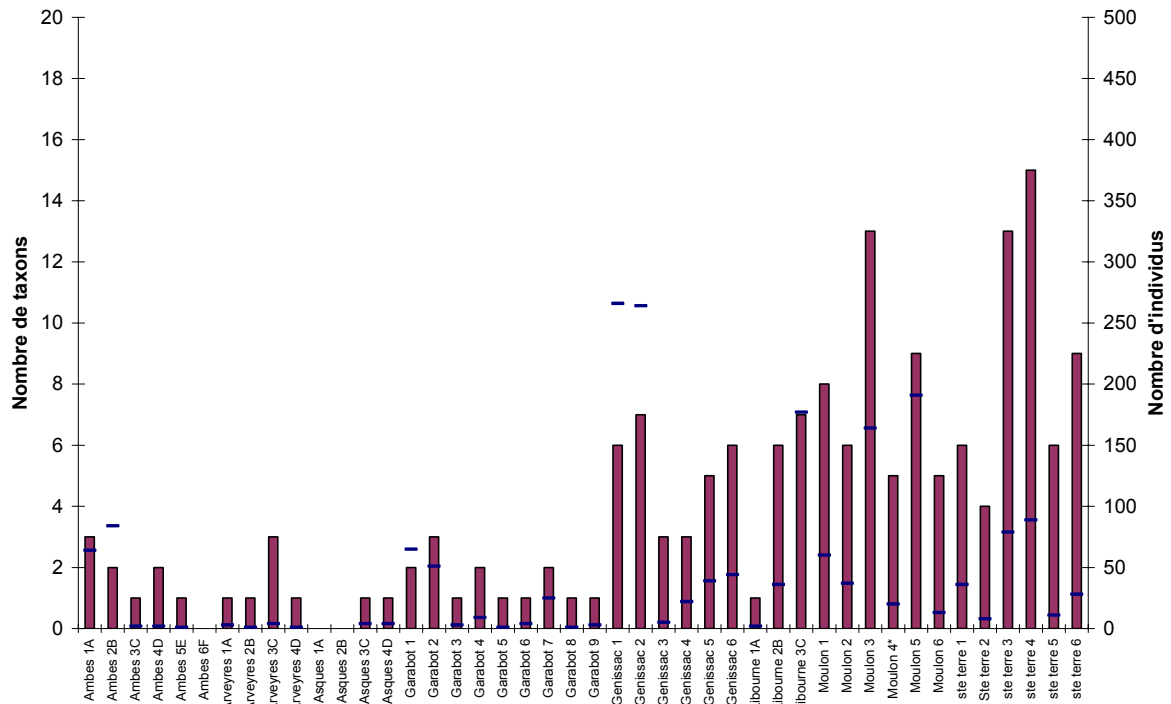


Figure 25 : Nombre de taxons (histogramme, axe de gauche des ordonnées) et nombre d'individus (tiretés avec projection verticale, axe de droite des ordonnées) identifiés dans chaque prélèvement de sédiment en Dordogne.

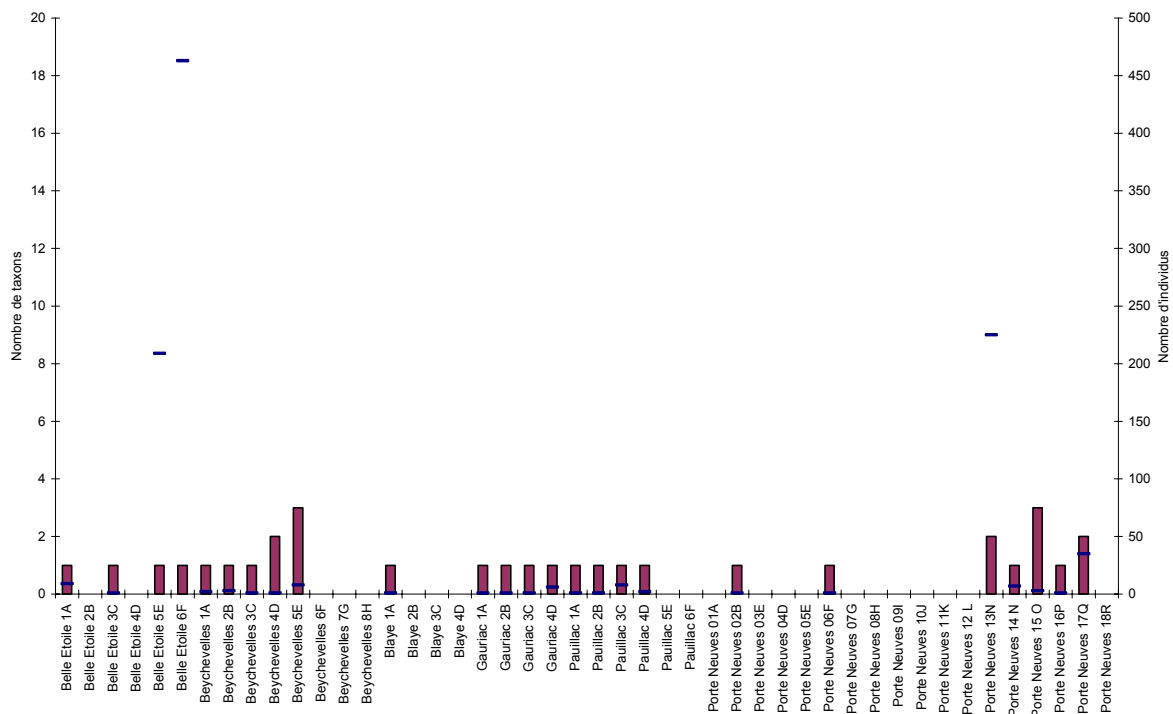


Figure 26 : Nombre de taxons (histogramme, axe de gauche des ordonnées) et nombre d'individus (tiretés avec projection verticale, axe de droite des ordonnées) identifiés dans chaque prélèvement de sédiment dans l'estuaire à l'aval du bec d'Ambes. Seulement 25% de l'échantillon "Belle étoile 6F" a été dénombré.

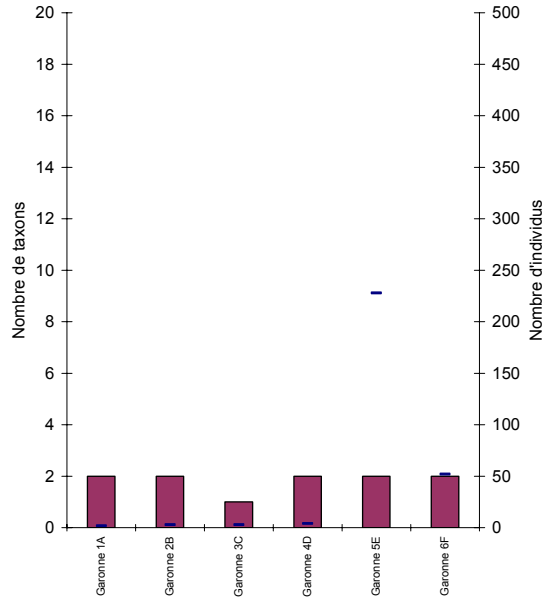


Figure 27 : Nombre de taxons (histogramme, axe de gauche des ordonnées) et nombre d'individus (tiretés avec projection verticale, axe de droite des ordonnées) identifiés dans chaque prélèvement de sédiment de Garonne.

3.2.3.2 Etude en milieu contrôlé des performances de nage des juvéniles

3.2.3.2.1 Effet de l'implantation d'un émetteur en intrapéritonéal sur les performances de nage de l'esturgeon européen

Nous n'avons détecté aucune différence significative entre les poissons marqués avec un émetteur factice en intrapéritonéal et les individus témoins concernant la vitesse critique de nage (Figure 28) et la capacité métabolique (Figure 29).

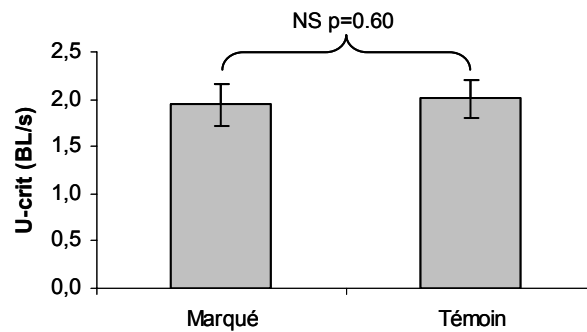


Figure 28 : Moyennes des vitesses critiques de nage (Ucrit) des poissons marqués en intrapéritonéal et des poissons témoins. NS indique que les valeurs ne sont pas significativement différentes (test de Wilcoxon) ; les barres verticales représentent l'écart-type.

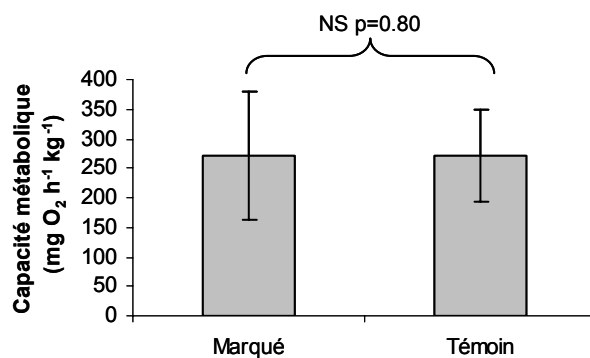


Figure 29 : Capacité métabolique moyenne des poissons marqués en intra péritonéal et des poissons témoins. NS indique que les valeurs ne sont pas significativement différentes (test de Wilcoxon) ; les barres verticales représentent l'écart-type.

3.2.3.2 Etude préliminaire de l'effet de la température sur les performances de nages de l'esturgeon européen

Les premiers résultats de ce travail mettent en évidence que la vitesse critique de nage (Figure 30) et la capacité métabolique (Figure 31) ne sont pas significativement différentes en fonction des températures testées (respectivement, $p_{KW}=0.11$ et $p_{KW}=0.78$).

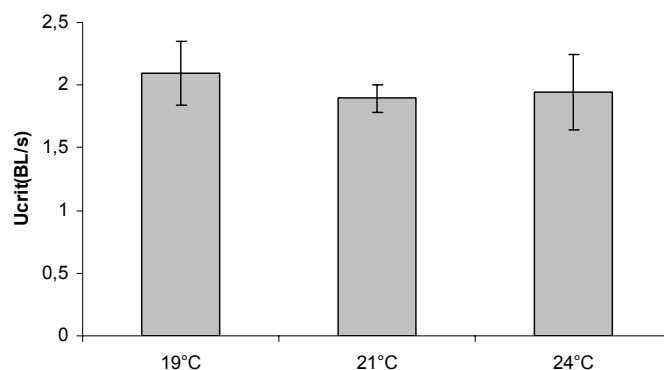


Figure 30 : Moyennes des vitesses critiques de nage en fonction des températures testées.

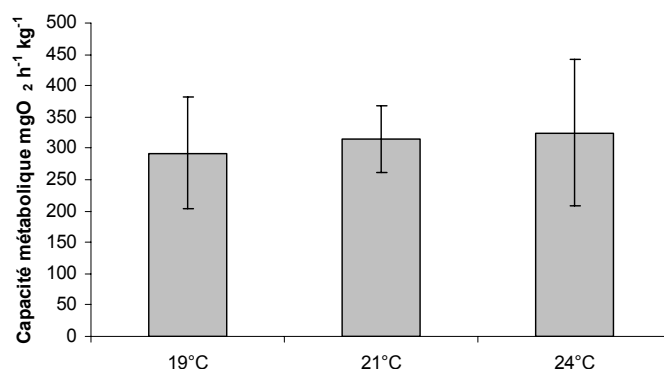


Figure 31 : Capacités métaboliques moyennes en fonction des températures testées.

3.2.4 Discussion et perspectives

3.2.4.1 Analyse en milieu naturel des tactiques de dévalaison de juvéniles de moins de 1 an

Les difficultés techniques de mise en place d'une étude de télémétrie en estuaire mises en évidence en 2008 ont été en grande partie résolues. L'utilisation de nouveaux types de mouillages en estuaire (sous-traitance Service des phares et balises) nous a permis de limiter les pertes de récepteurs. Au total, 9 hydrophones ont toutefois été perdus dont 6 avant même d'avoir pu décharger les données, probablement principalement à cause de bouées de signalisations défectueuses¹⁰. Parmi les émetteurs tests aucun n'a présenté de dysfonctionnement et contrairement à 2008 l'absence de détection en milieu naturel n'a concerné qu'un seul poisson. Cependant, les distances de détection en estuaire restent faibles ; ceci étant lié au site d'étude très turbide et à la taille des émetteurs qui limite leur puissance.

Les expériences de télémétrie de 2008 ainsi que les expériences en milieu naturel de manière générale ont commencé à être analysées et elles ont été valorisées via 2 colloques internationaux (International workshop on the restoration of fish populations, 1-4 septembre 2009, Düsseldorf, Allemagne & 8th Conference on Fish Telemetry held in Europe, 14-18 septembre 2009, Umeå, Suède) et une conférence invitée en France (Poissons migrateurs en Rhône-Méditerranée, 19-20 novembre 2009, Marseille).

Dans le cadre de cette action n°10, l'année 2010 sera consacrée à l'analyse conjointe des données de télémétrie 2008-2009 et à leur valorisation. Il s'agit notamment de comparer les trajectoires de dévalaison individuelle pour les 2 années afin de mettre en évidence s'il existe des patrons de déplacements caractéristiques pour cette espèce. Nous tenterons de dégager l'influence des paramètres environnementaux sur ces mouvements et de localiser et caractériser les habitats préférentiels. Ces expérimentations seront également valorisées dans un chapitre d'un livre sur la biologie et la conservation de l'esturgeon européen (Acolas et al., In press).

3.2.4.2 Etude en milieu contrôlé des performances de nage des juvéniles

Cette étude en milieu expérimental nous a permis de vérifier que le marquage pratiqué sur les poissons lâchés en milieu naturel n'avait pas d'impact sur leurs performances de nage. Nos mesures en milieu naturel ne sont donc pas biaisées par la technique employée. De plus, dans une gamme de température entre 19 et 24°C, ce paramètre environnemental ne semble pas influencer les caractéristiques des performances de nage de l'esturgeon européen. Ce résultat nous suggère, pour la période estivale étudiée en milieu naturel, que cette gamme de température ne serait pas limitante pour les capacités éco physiologiques de nage de cette espèce.

Cette étude préliminaire ne concerne qu'une faible gamme de température et cette gamme pourrait être élargie afin de connaître l'optimum thermique de cette espèce à différent stade de l'ontogénèse. Il serait très intéressant de tester les températures extrêmes rencontrées dans le milieu naturel (températures les plus froides et les plus chaudes de Gironde mesurées les 5 dernières années par exemple) afin de savoir si ce facteur est limitant ou non sur les capacités de déplacements de cette espèce.

De plus ces deux études nous ont permis d'obtenir les premières valeurs de vitesses de nage critique et de capacité métabolique pour cette espèce.

¹⁰ Une bouée a été retrouvée à 5 km à l'amont de sa position de départ (courants de marée ou navire amarré dessus ?)

Dans le cadre de cette action n°10, il nous a paru important de coupler les expériences en milieu naturel avec une approche expérimentale. Les approches sont complémentaires et le milieu expérimental permet d'appréhender les facteurs testés indépendamment de toutes les variables qui interagissent en milieu naturel. En termes de perspectives, pour compléter cette action, nous envisageons de travailler sur les méthodes d'évaluation des capacités adaptatives des juvéniles au milieu naturel.

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

Eric Rochard & Charles Roqueplo

Objectif :

Cette action vise à soutenir la dernière population de l'espèce par le déversement en milieu naturel d'alevins issus de reproductions assistées réalisées en 2009 à partir du stock ex situ français. Elle s'inscrit dans les priorités du plan de restauration européen de l'espèce établi sous l'égide de la convention de Berne (Rosenthal et al., 2007) (objectif 6 « release of *A. sturio* for re-establishment or enhancement ») et du plan national de restauration de l'esturgeon d'Europe *Acipenser sturio* en cours de validation (thème 3 : conservation du stock ex situ et lâchers d'alevins dans le milieu naturel ; objectif 6 : Programme de renforcement ou de ré-introduction d'*A. sturio*.)..

3.3.1 Introduction

En 2009 le travail concernant cette action a consisté à préciser les procédures administratives nécessaires et à adapter la logistique de déversement en milieu naturel à des effectifs plus importants et à différents stades de lâchers.

En effet la survie de la cohorte 2007 en captivité ayant été meilleure que prévue, l'absence de torsion des individus sur alimentation artificielle conjuguée aux reproductions réussies en 2008 et à une plus grande diversité génétique des poissons produits en 2008 limitent l'intérêt de conserver dans le stock ex situ autant de poissons de la cohorte 2007 qu'imaginé à l'époque¹¹. Même si des doutes existent sur la capacité d'adaptation de ces poissons au milieu naturel et sur leur propension à contribuer effectivement au fonctionnement de la population il nous semble raisonnable d'envisager leur transfert dans le milieu naturel. Tous ces poissons seront marqués individuellement (marque interne et marque externe) ce qui permettra un suivi de leur devenir.

La plupart des poissons issus de la reproduction de 2009 (52 000 larves) ont été confié en grossissement à la SAEG jusqu'à leur lâcher en milieu naturel.

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

Plusieurs reproductions assistées ont déjà permis le lâcher d'alevins d' *A. sturio* en milieu naturel (1995, 2007, 2008).

3.3.2.1 Aspects réglementaires

Le lâcher dans le milieu naturel de juvéniles d'*A. sturio* nécessite une dérogation ministérielle. Une demande d'autorisation de transport et de déversement en milieu naturel a été faite auprès du ministère en charge de l'environnement pour les poissons à naître de la cohorte 2009 et pour 400 individus de la cohorte 2007 (Autorisation n° 09/333/DEROG).

3.3.2.2 Modalités pratiques

3.3.2.2.1 Stade, date et lieux de lâcher

Les choix de la date et du lieu de lâcher sont étroitement imbriqués et dépendent en fait du stade retenu de lâcher.

Pour les alevins de la cohorte 2009.

¹¹ Il avait été arbitré à l'époque de conserver 770 *A. sturio* de la cohorte 2007 dans le stock ex situ.

Le moment doit correspondre à une période où les jeunes individus ont une taille suffisante pour limiter leur mortalité naturelle et la 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)(Cushing, 1990).

Faute d'expériences bien documentées sur d'autres espèces d'esturgeon nous disposons de peu d'éléments pour juger de l'âge ou de la taille auxquels il est préférable de relâcher des *A. sturio* 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 (1,0 – 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 premières observations faites sur des poissons des cohortes 2007 et 2008 semblent confirmer cela.

Ainsi, afin de répondre aux contraintes techniques tout en satisfaisant aux exigences biologiques de l'espèce les alevinages ont été programmés en septembre.

Afin de pouvoir disposer d'un élément de jugement sur l'efficacité de notre alevinage tous les poissons ont été marqués préalablement par balnéation dans une substance chimique.

Comme en 1995, 2007 et 2008 les secteurs retenus sont situés à la limite amont de la marée dynamique à proximité de zones de frayères potentielles (Jego et al., 2002). Compte tenu du nombre de poissons plus important que lors des lâchers de 1995 et 2007, ils ont été répartis sur des secteurs plus étendus et les déversements ont été étalés sur plusieurs jours afin de ne pas induire de comportement de prédation de la part des poissons autochtones.

Les déversements ont été effectués sur le fleuve Garonne entre La Réole et Couthures sur Garonne (département de la Gironde et du Lot et Garonne) et sur le fleuve Dordogne entre St Jean de Blagnac et Castillon la Bataille et sur la commune de St André de Cubzac (département de la Gironde).

Localement nous avons évité de déverser les poissons sur les secteurs peu profonds (moins de 2 m) car l'esturgeon n'apprécie ni la lumière ni la végétation (Jatteau, 1998 ; Sulak & Clugston, 1998 ; 1999 ; Barth et al., 2009) et la clarté actuelle de l'eau aurait pu entraîner une prédation importante de la part des hérons et cormorans, nombreux sur le secteur.

L'ensemble des alevinages (Tableau 8) réalisés avec l'aide des services départementaux de l'ONEMA se sont déroulés sans encombre. De nombreux aspects techniques ayant été perfectionnés lors des années précédentes.

Tableau 8 Dates, fleuves, lieux et estimation du nombre de juvéniles de la cohorte 2009 déversés en septembre-octobre 2009.

Dates	Fleuve	Lieux	Nombre
11/09/09	Dordogne	Castillon la bataille	10 541
17/09/09		St-Jean-de-Blaignac	9 774
22/09/09		St André de Cubzac	6 000
24/09/09	Garonne	Couthures	9 324
01/10/09			9 000
Total			44 639



Figure 32 Juvéniles de 3 mois avant le lâcher (g), lors de leur mise à l'eau (d).

Les différents lâchers ont servis de support à des actions de communication, d'information et de sensibilisation (cf. Communiqué de presse du SMEAG en annexe). Environ une vingtaine d'articles ont été publiés sur cet évènement.

Pour les poissons de la cohorte 2007.

Nous savons que les poissons de cet âge issus des cohortes sauvages utilisaient principalement l'estuaire saumâtre (Rochard et al., 2001). Ces poissons avaient été conservés jusqu'à lors en eau douce de forage. Expérimentalement nous avons vérifié par dosage du Na⁺ qu'ils étaient capables de supporter un passage rapide à une salinité de 10 (données non publiées). Pour tenir compte de ces éléments et leur offrir le maximum d'opportunités nous avons choisi de les lâcher dans le secteur oligohalin de l'estuaire (entre le bec d'Ambes et les villes de Pauillac en rive gauche et Blaye rive en droite).

Ces poissons âgés de deux ans et conservés depuis leur naissance en captivité ont été nourris avec des proies naturelles. Ils pesaient en moyenne 300 g (min 150 g max 500g).

Ces poissons ont été lâchés le 10 septembre 2009 dans l'estuaire de la Gironde à l'aval immédiat du Bec d'Ambes (cf. Communiqués de presse de la préfecture de Gironde et du SMIDDEST en annexe). Il est notable que la réaction du public et des élus a été encore plus enthousiaste que celle observée lors des lâchers de juvéniles de 3 mois. Il est très probable que cela soit lié à la taille plus grande des individus.



Figure 33 : Illustrations de la médiatisation de l'évènement : interview à bord (g), navire affrété pour suivre la mise à l'eau dans l'estuaire (d)



Figure 34 : Mise à l'eau d'un jeune *A. sturio* de la cohorte 2007 dans l'estuaire.

Tableau 9 : Récapitulatif du nombre d'*A. sturio* lâchés en milieu naturel jusqu'en fin 2009.

Cohortes (années de naissance)	Effectifs	Poids individuels Moyenne (min, max)	Age
1995	2 000	0.2 g	5 jours
	5 000	1.0 g	2 mois
	2 000	6.5 g	4 mois
2007	6 380	3.4 g	3 mois
	400		27 mois
2008	81 935	4.6 g (3.7, 27.77)	3 mois
2009	44 000	5.0 g ()	3 mois

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

Philippe. Jatteau & Aude Lochet

Objectif :

En accord avec les recommandations du « Re introduction specialists group de l'IUCN (1996), les objectifs de cette action sont, dans un premier temps, de pouvoir différencier les individus issus d'alevinage de leurs congénères sauvages, à partir d'un prélèvement limité de tissu. Dans un second temps, l'objectif est de marquer séparément des groupes d'individus alevinés, par exemple, des groupes d'individus déversés à différents moments au cours de la saison de lâcher ou déversés en différents sites. La méthode retenue pour permettre de réaliser de telles distinctions est la balnéation des individus dans un marqueur chimique.

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). L'efficacité des alevinages pour effectivement restaurer des populations menacées est une question récurrente qui est apparue cruciale lors du dernier colloque mondial sur les esturgeons (Wuhan, Chine, septembre 2010) et du séminaire sur la restauration des poissons (Düsseldorf, Allemagne, septembre 2009).

3.4.1 Introduction

La méthode de marquage mise au point en 2007, repose sur l'incorporation d'un marqueur chimique dans les structures calcifiées du poisson.

Le marqueur utilisé en 2007 et 2008, est la Tétracycline Hydrochloride (TC), assimilée par les poissons par balnéation. Cette molécule est ensuite révélée sur les pièces calcifiées (rayons osseux dans le cas des esturgeons) sous lumière UV (450 -490 nm – filtre B2A).

Les facteurs de balnéation déterminés en 2007 sur des poissons âgés de 3 mois (Jatteau & Lochet, 2009) étaient les suivants :

- Concentration du bain de Tétracycline Hydrochloride : 300 ppm
- Durée de la balnéation : 8 h

Cette méthode a été appliquée en 2007 (poissons âgés de 86 jours) et en 2008 (poissons âgés de 56 à 109 jours).

Les premiers contrôles effectués sur la cohorte 2007, montrent que 45% des poissons ne présentaient pas de marque (Jatteau & Lochet, 2009). Deux hypothèses ont été évoquées : i) un marquage insuffisant ou ii) une remobilisation des matériaux constituant la partie calcifiée de la nageoire. Dans le premier cas un autre marqueur ou une concentration plus élevée de TC pourraient donner de meilleurs résultats. Dans le second cas il conviendrait de choisir une autre méthode pour suivre les poissons (ex: réattribution génétique de parenté)

Nous avons donc cherché à améliorer le protocole en testant différents protocoles :

- TC à 300 ppm (protocole appliqué en 2007 et 2008, considérée ici comme un contrôle) et à 600 ppm pendant 8 heures
- Alizarine Red S (ARS) à 100, 200 et 400 ppm pendant 12 et 24 heures.

3.4.2 Tests effectués en 2009

3.4.2.1 Méthode

Neuf lots de 30 larves d'*A. baerii* nées le 16-01-09, et d'un poids moyen d'environ 600mg (reproduction du 9-01-09) ont été constitués le 12-02-09 et placés dans des bacs cylindriques (diam. 1.0m, vol. 94 l.). Un lot de 348 poissons a également été constitué pour tester l'effet du marquage sur des poissons maintenus à une densité proche de celle de l'élevage des larves d'*A. sturio* (condition de marquage 400 ppm – 24 h – densité d'élevage = 2.3 kg/m³ – 0,3 kg/m² – 446 ind/m²).

Les lots ont été constitué le 12-02-09 ; le marquage a eu lieu le 16 et le 17-02-09 sur des animaux à jeun depuis au moins 12 heures. L'expérience a été arrêtée le 19 mars 2009 : décompte des mortalités, pesée des poissons, prélèvement pour estimation de la qualité de la marque.

Nous avons testé l'effet sur la survie des larves de balnéation dans différentes concentrations et pour différentes durées de deux marqueurs l'ARS et la Tétracycline Hydrochloride (TC) (C₂₂H₂₄N₂O₈ HCL) déjà testé en 2007 (Rouault, et al., 2008b) et 2008 (Jatteau & Lochet, 2009) (Tableau 10).

Les solutions mères de TC et d'ARS ont été tamponnées avec un mélange de tampon NaP – KP (2/3 – 1/3) pour limiter la chute du pH. Durant la balnéation dans le marqueur, le renouvellement d'eau a été stoppé (balnéation en statique). Une pompe installée dans la crépine de sortie, a assuré un brassage du bain (léger courant d'eau circulaire). Le niveau d'oxygène a été maintenu par un apport d'oxygène pur.

Lors de l'ajout des solutions d'ARS, les poissons fuyaient le nuage coloré, et nageaient frénétiquement. Les bains d'ARS 400 ppm et de TCH 600 ppm sont très colorées (cf. Figure 35), ce qui empêche toute observation du comportement des poissons durant la balnéation.

A la fin des expérimentations les effluents ont été transférés dans un bassin extérieur pour stockage et dégradation avant élimination.



Figure 35 : Vue des bains de TC 600 ppm (g) et d'ARS 400 ppm (d)

3.4.2.2 Résultats

Tableau 10 : Caractéristiques de l'expérimentation (marqueurs, concentration, durée de balnéation, poids moyen individuel par échantillon des poissons mis en expérimentation (en mg) et écart type de l'échantillon pesé, nombre de poissons morts 10 h après la fin de la balnéation l'expérimentation.

	Témoin	ARS	TC	
--	--------	-----	----	--

	Témoïn			ARS						TC	
Concentration en marqueur	0			100 ppm		200 ppm		400 ppm		300 ppm	600 ppm
Durée de balnéation	12h 24h			12h	24h	12h 24h		12h 24h		8h	
N° bac	2	8	3	7	4	1	5	6	10	9	
Nombre de poissons	30	30	30	30	30	30	348	30	30	30	
Poids moyen individuel (et)	658,7 (43,1)	667,3 (59,7)	638,7 (85,5)	685,7 (37,9)	643,7 (42,4)	691,3 (23,5)	692,7 (32,3)	665,0 (54,1)	683,7 (14,7)	651,7 (49,7)	
Nombre de poissons morts	0	0	0	0	0	1	13	11	0	0	

3.4.2.2.1 Survie

Les poissons ont très bien supporté la balnéation de TC à 600 ppm pendant 8 heures. Dans les mêmes conditions lors des essais réalisés en 2007 avec des *A. sturio* de 1 à 3 g, nous avons enregistré une mortalité de 18% environ. Ce mauvais résultat avait été attribué au marquage mais il était peut être lié à la manipulation des poissons. Le test réalisé en 2009 avec les mêmes caractéristiques, sur des larves d'*A. baerij* de 1 mois et de moins de 1 g, permet d'envisager de bons résultats en termes de survie sur des *A. sturio* en bonne condition et plus âgés (2 mois et 1,5g par exemple).

Seuls les bains d'ARS les plus concentrés (400 ppm) ont provoqué des mortalités. Pour le bain 12 heures, la mortalité reste faible (1 poisson soit moins de 4%). Pour les bains 24 heures les résultats sont très variables. Pour le 400/24H forte densité elle est identique au lot 12 heures. Par contre pour le lot 400/24 H faible densité, elle est de 20% (6 poissons) à la fin du marquage et de 36 % (11 poissons) 10 heures après la fin du marquage.

L'utilisation de l'Alizarine appelle les remarques suivantes :

en solution elle provoque une baisse de pH (aux environs de 4), ce qui nécessite de tamponner la solution mère.

L'opacité du bain (cf. Figure 35) empêche de contrôler le comportement des poissons

Même réputée non toxique, les effluents ne peuvent être rejetés dans le milieu naturel tels quels, ne serait-ce que du fait de leur couleur

3.4.2.2.2 Efficacité du marquage

D'après l'analyse des rayons osseux (cf. Jatteau & Lochet, 2009 pour plus de détails sur la méthode), le taux de marquage était sensiblement équivalent (85 – 90 %) entre les lots 400 ppm 12 heures ARS et 600 ppm TC, mais avec une marque essentiellement discontinue pour ce dernier lot. A 300 ppm de TC, seulement 40% des individus présentaient une marque nette.

3.4.3 Protocole de marquage retenu pour les *A. sturio* 2009

Pour 2009, nous avons donc décidé de marquer 50 % des poissons avec la TC (600 ppm – 8 heures) et 50% avec l'ARS (400 ppm – 12 heures).

Des problèmes d'approvisionnement en ARS nous ont obligés à opter pour un marquage à TC pour la quasi totalité du stock et limiter le marquage à l'ARS à des essais.

3.4.3.1 Méthode

Les poissons ont été laissés tranquilles (ni pesée, ni changement de bac ...) pendant au moins 24 heures, et à jeun depuis au moins 12 heures (pas de nourrissage depuis la veille au soir).

Une pompe de brassage a été disposée au centre du bac dans un panier grillagé afin d'éviter l'aspiration de poissons dans la crépine. La sortie est placée tangentiellement à la paroi afin d'obtenir un courant circulaire suffisamment faible, pour ne pas obliger les poissons à produire un effort. Une vanne de réglage a été placée sur le tuyau de sortie pour régler le débit et donc le courant dans le bac. Un apport d'oxygène pur a été assuré par bullage. La quantité de marqueur à dissoudre a été calculée en fonction du volume d'eau effectif.



Figure 36 : Vue du bac de balnéation avec le dispositif de brassage dans un bain de TC

3.4.3.1.1 Marqueurs

Le premier marqueur utilisé est de la Tétracycline hydrochloride (TC) $C_{22}H_{24}N_2O_8$, HCl (100%) obtenue auprès de "Vet'Eau". La solution a été tamponnée à l'aide de 2/3 de Phosphate de Sodium dibasique heptahydrate (NaP) $Na_2HPO_4 \cdot 7 H_2O$ (99%) et de 1/3 de Phosphate de potassium dibasique trihydrate (KP) $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ (99%) obtenus auprès de "Sigma". Il faut compter environ 15g de mélange de tampon pour neutraliser 1 litre de solution mère à 300 ppm de tétracycline. La quantité de tampon à utiliser varie en fonction de la dureté de l'eau. La TC est dissoute à raison de 10 l d'eau pour 50 g de TC, le pH est alors d'environ 3-4. Le tampon est incorporé progressivement pour arriver à un pH de 6,7 – 6,8. (le pH augmente pendant la balnéation). La solution mère est laissée reposer environ 1 heure, à l'abri de la lumière. Elle est brassée et le pH est contrôlé avant le début de la balnéation.

Le second marqueur utilisé est de l'Alizarine Red S¹² (ARS) $C_{14}H_7NaO_7S$ obtenue auprès de "Carlo Erba". Le tampon est de l'Hydroxyde de sodium NaOH - 1M obtenu auprès du même fournisseur. L'ARS est dissous dans les mêmes proportions que la TC. La chute du pH est compensée par ajout progressif de NaOH jusqu'à la neutralité.

3.4.3.1.2 Balnéation

Le renouvellement d'eau est arrêté puis la solution mère est ajoutée en 3-4 fois, sur une durée d'environ 30 min.

¹² Egalement appelé Alizarine sulfosodique

Durant toute la balnéation la température, l'[O₂] et le pH sont contrôlés régulièrement. De l'oxygène pur peut être ajouté si nécessaire (O₂ < 7mg/l). Pour les bains TC il est recommandé d'ajouter environ 6 ml de lait (pour prévenir l'apparition de mousse).

Le comportement des poissons est suivi durant toute la balnéation TC. La balnéation ARS rend quasiment impossible l'observation des poissons.

Le marquage est arrêté 8 heures après la fin de l'incorporation de la TC et 12 heures après la fin de l'incorporation de l'ARS par une reprise du renouvellement en eau (renouvellement du volume du bac en 1h30 environ).

ANNEXES

- **Communiqués de presse pour les lâchers de jeunes esturgeons**
 - **Rapport d'analyse sédimentaire du Cerege**



PREFECTURE DE LA REGION AQUITAINE
PREFECTURE DE LA GIRONDE

CABINET DU PREFET

Bordeaux, le 11 septembre 2009

**Bureau de la
Communication
Interministérielle**

Esplanade Charles de Gaulle
33077 Bordeaux Cedex

☎ 05 56 90 60 18

📠 05 56 90 60 30

✉ communication@gironde.pref.gouv.fr

🌐 <http://www.gironde.pref.gouv.fr>

COMMUNIQUE DE PRESSE

Restauration de l'Esturgeon européen (*Acipenser sturio*)

Lâcher de jeunes esturgeons dans l'estuaire de la Gironde

Le **jeudi 10 septembre 2009**, à Bourg sur Gironde, **Frédéric MAC KAIN**, Secrétaire Général pour les Affaires Régionales, représentant **Dominique SCHMITT**, préfet de la Région Aquitaine, **Philippe MADRELLE**, sénateur de la Gironde, président du Conseil Général de la Gironde, président du Syndicat Mixte pour le Développement Durable de l'Estuaire (SMIDDEST) et **Philippe PLISSON**, Député-Maire de Saint-Caprais-de-Blaye et président de la Commission Locale de l'Eau du SAGE Estuaire, **ont assisté au lâcher en milieu naturel de juvéniles d'Esturgeon européen.**

Ce lâcher a concerné 400 juvéniles âgés de deux ans (20-40 cm de long), nés en 2007 et élevés à la pisciculture du CEMAGREF, à Saint-Seurin-sur-l'Isle. Ils séjourneront quelques temps dans l'estuaire de la Gironde avant de regagner l'Océan Atlantique, la Manche et la mer du Nord pour y grandir jusqu'au stade adulte. Ensuite, au bout d'une dizaine d'années, ils reviendront pour se reproduire sur le lieu de leur naissance dans le bassin Garonne/Dordogne.

L'Esturgeon européen, qui a longtemps été l'emblème de l'estuaire de la Gironde, est un poisson migrateur en voie de disparition. Le bassin Adour-Garonne, étant le seul en Europe présentant encore des individus en milieu naturel, a une responsabilité particulière dans la préservation de cette espèce. Cette espèce fait donc l'objet d'un plan national d'action en sa faveur, piloté par le ministère en charge de l'écologie, qui mobilise de nombreux partenaires nationaux et locaux : Etat, conseils régionaux, conseils généraux, agence de l'eau Adour-Garonne, CEMAGREF, ONEMA, associations de protection de la nature, pêcheurs et établissements publics territoriaux de bassin et qui bénéficie du soutien des fonds européens (FEDER).

La sauvegarde de l'Esturgeon européen impose d'agir sur plusieurs axes :

- la conservation et la restauration de l'espèce, notamment par la poursuite des reproductions artificielles et l'élevage d'alevins destinés à être relâchés dans le milieu naturel ;
- la protection des habitats estuariens et fluviaux et la libre circulation de l'espèce (protection de l'estuaire et des frayères sur la Dordogne et la Garonne) ;
- le contrôle de l'introduction dans le milieu naturel d'autres espèces d'esturgeons (espèces, telle l'Esturgeon sibérien, dont provient notamment le caviar vendu dans le commerce) ; Ceci afin d'éviter qu'elles entrent en compétition avec l'Esturgeon européen, seule espèce autochtone de l'estuaire de la Gironde ;
- la poursuite de la sensibilisation et de l'information sur les caractéristiques et le statut de cette espèce, notamment pour diminuer le risque lors de captures accidentelles en mer ;
- le suivi de l'efficacité des mesures de restauration entreprises, et la poursuite des efforts de recherche sur le mode de vie et les habitats naturels de l'espèce.

Depuis 2007, les chercheurs du CEMAGREF de Bordeaux ont réussi chaque année des reproductions artificielles de cette espèce à partir de spécimens adultes élevés en captivité. Les lâchers d'alevins successifs qui en découlent permettent d'envisager de façon positive la reconquête de l'espace Gironde/Garonne/Dordogne par cette espèce. Au delà, il s'agit du symbole que la perte de biodiversité n'est pas une fatalité.



Syndicat Mixte pour le Développement Durable
de l'Estuaire (SMIDDEST)

Blaye, le 31 août 2009

COMMUNIQUÉ DE PRESSE

1^{er} lâcher d'esturgeons européens dans l'Estuaire de la Gironde

Dominique SCHMITT, Préfet de la Région Aquitaine et Préfet de la Gironde,
Philippe MADRELLE, Sénateur de la Gironde, Président du Conseil Général et du SMIDDEST,
Philippe PLISSON, Député-Maire de St-Caprais de Blaye et Président de la CLE du SAGE Estuaire
seront présents, le Jeudi 10 Septembre 2009, à Bourg-sur-Gironde, pour un événement sur le thème de la sauvegarde de la biodiversité dans le cadre du Plan National de restauration de l'Esturgeon Européen.

L'esturgeon européen *Acipenser sturio* peuplait les rivières et rivages d'Europe de l'ouest jusqu'au 19^{ème} siècle. La surpêche, pour fabrication du caviar, et la destruction de ses habitats de reproduction, pour extraire des graviers ont, au cours du 20^{ème} siècle, conduit à la quasi-disparition de l'espèce. Aujourd'hui, il ne subsiste que quelques milliers d'individus, tous originaires de Gironde. Malgré son statut d'espèce protégée en France depuis 1982 et en Europe depuis 1988, cette dernière population d'esturgeons européens n'a cessé de décliner.

En 2007 toutefois, un espoir est revenu lorsque les chercheurs du CEMAGREF* ont réussi la première reproduction artificielle de cette espèce, à partir de spécimens élevés en captivité depuis leur plus jeune âge. Plusieurs lâchers représentant environ 90 000 alevins ont alors été effectués dans la Dordogne et la Garonne en 2007 et 2008, près de 40 000 alevins seront relâchés en 2009. Une fraction de ces alevins a cependant été conservée pour renouveler le stock en captivité, avec une marge de sécurité tenant compte des incertitudes de reproduction annuelle.

Le Jeudi 10 Septembre 2009, à Bourg-sur-Gironde, près de 400 esturgeons de deux ans, issus de la fraction née en 2007 conservée et marqués individuellement, mesurant entre 20 et 40 cm, vont rejoindre l'Estuaire de la Gironde.

La restauration du plus grand poisson migrateur de l'Ouest de l'Europe à partir de la Gironde est un symbole fort pour la sauvegarde de la biodiversité des rivières européennes, une responsabilité nouvelle pour tous les partenaires de ce projet et les usagers de ces milieux, en particulier pour le SMIDDEST dont l'action vise à préserver, développer et mettre en valeur durablement le patrimoine estuarien.

Des partenaires unis dans un seul but : restaurer l'espèce et la protéger durablement

L'organisation de cette opération de lâcher d'esturgeons portée par le SMIDDEST marque les avancées scientifiques actuelles des travaux de recherche menés par le CEMAGREF depuis une vingtaine d'années avec ses partenaires scientifiques (Université de Bordeaux I et Institut des eaux douces de Berlin). Ces travaux bénéficient du soutien financier de l'Union européenne (FEDER), de l'Etat (Ministère de l'Ecologie, de l'Energie, du Développement Durable et de la Mer dans le cadre du Plan national de restauration de l'esturgeon européen), des régions Aquitaine (Contrat de Projet Etat-Région) et Poitou-Charentes, des départements de Gironde et de Charente-Maritime et de l'Agence de l'eau Adour-Garonne.

De nombreux partenaires, présents le 10 septembre, sont impliqués et contribuent au succès de ce programme notamment : WWF France, le Comité National des Pêches, l'ADES, la SAEG, l'ONEMA, les fédérations et associations de pêcheurs, les structures chargées de la réglementation et du contrôle des pêches et les Etablissements Publics Territoriaux de bassins.

* Institut de la recherche pour l'ingénierie de l'agriculture et de l'environnement

Programme

- 11h : A partir du port de Bourg-sur-Gironde = Lâcher de 400 esturgeons dans l'Estuaire de la Gironde
- 12h00 : Allocutions
- 12h30 : Buffet – point presse au cours du repas

Contacts presse

Pour le SMIDDEST Jérôme BARON Tél. 06 88 07 34 02
Pour le CEMAGREF Paul GONTHIER Tél. 05 57 89 08 07
Chantal GARDES Tél. 05 57 89 08 18

smiddest@wanadoo.fr
paul.gonthier@cemagref.fr
chantal.gardes@cemagref.fr

SMIDDEST
12 rue Saint Simon
33 390 BLAYE

Nouvelle réintroduction en Garonne de l'esturgeon européen

**Ce jeudi 1^{er} octobre à 10h30, à Couthures-sur-Garonne (47)
9 000 petits esturgeons seront relâchés dans la Garonne**

en présence de M. Jacques BILIRIT, Vice-président du Conseil général de Lot-et-Garonne et
vice-président du Sméag

avec le concours scientifique de l'Onéma et du Cemagref

Cette opération technique s'inscrit dans le cadre du Plan national de restauration de
l'esturgeon européen.

Naissance de 46 000 esturgeons dans la nursery du Cemagref

Le CEMAGREF a réussi pour la troisième année consécutive, la reproduction de 46 000 esturgeons. Ces alevins de trois mois, faisant 4 à 5 grammes et 7 à 8 cm de longueur sont remis à l'eau sur les sites de leurs frayères historiques. Ainsi, le 1^{er} octobre, 9 000 bébés esturgeons nés en captivité iront à la rencontre des eaux et des milieux nourriciers de Garonne à Couthures. Ils se fraieront ensuite un chemin jusqu'à l'estuaire, où ils passeront plusieurs années avant de partir en mer.

Des nouvelles de l'alevinage effectué en 2007 et 2008

Le Sméag a déjà participé à deux reprises à des lâchers d'esturgeons en 2007 et 2008. Le Cemagref indique que ceux-ci ont dévalé normalement dans l'estuaire de la Gironde, et atteignent aujourd'hui 40 à 60 cm pour les 2007 et 20 à 50 cm pour les 2008. Une trentaine de poissons ont été suivis individuellement, en étant équipés d'une marque acoustique pouvant ainsi être localisés. Le plus grand nombre ne sera suivi qu'indirectement, par des campagnes d'échantillonnages scientifiques au filet dans l'estuaire de la Gironde qui ont débuté cet automne. Les poissons capturés sont relâchés vivants après avoir été marqués.

Quel avenir pour ces bébés esturgeons

Cette année, 20 000 alevins au total vont être relâchés en Garonne. Les lâchers contribuent ainsi à améliorer encore certaines connaissances sur la biologie de l'esturgeon, leurs habitats et leurs déplacements. Dans 5 ans, le Cemagref pourra convenablement inventorier les poissons issus des alevinages des années 2007 à 2009, et dans 15 ans quand on verra revenir ou non des géniteurs. Les rares survivants trouveront peut-être à leur retour un milieu plus favorable que celui qui a conduit à leur quasi-extinction.

Des acteurs toujours impliqués

Au travers de la mise en œuvre du futur plan de restauration national, l'ensemble des acteurs locaux et nationaux se mobilisent encore cette année : Etat, élus collectivités locales, chercheurs, pêcheurs professionnels et amateurs, protecteurs de la nature. Leur présence à Bourg-sur-Gironde le 10 septembre dernier le démontre : 400 juvéniles de deux ans, issus de la fraction née en 2007 conservée et marqués individuellement, mesurant entre 20 et 40 cm, ont rejoint l'estuaire de la Gironde à l'aval du bec d'Ambes.

La conservation de l'esturgeon dans son milieu naturel, sa protection et la restauration des habitats essentiels, la conservation de l'espèce en captivité et sa réintroduction dans la nature sont des questions complexes. Toutefois, on ne pourra sauver cette espèce de la disparition sans reconstituer des populations viables, sans coordonner les efforts des marins pêcheurs et sans renforcer et développer les collaborations entre les scientifiques et décideurs.

Jeudi 1^{er} octobre, le Sméag, partenaire du Plan national de sauvegarde de l'esturgeon, effectuera avec le Cemagref, un lâcher massif de jeunes poissons dans leurs milieux naturels qui leur sont favorables.

Retour prévu en Garonne ... dans une quinzaine d'année !

☛ **Pour en savoir plus :**

Site du Sméag (syndicat mixte d'études et d'aménagement de la Garonne – EPTB Garonne) :
<http://www.eptb-garonne.fr/pages/qui.htm> et <http://www.eptb-garonne.fr/pages/dossier-poissons-migrateurs.htm>

Autres sites partenaires :

<http://sturio.eu/index.php>

<http://www.cemagref.fr/le-cemagref/lorganisation/les-centres/bordeaux/ur-epbx/equipements/crea-saint-seurin-sur-lisle>

<http://www.wwf.fr/s-informer/nos-missions/especes-menacees/conservation-de-l-esturgeon-europeen>

DVD du WWF « *S.O.Sturio : dernière chance pour l'esturgeon européen* » réalisé avec les partenaires techniques et institutionnels du programme, est disponible au Sméag sur simple demande.

Toulouse, le 29/09/09
Contact presse : Marianne Ginesta – Tel. 05 62 72 76 00 – marianne.ginesta@eptb-garonne.fr

Référence bibliographiques mentionnées dans le texte.

- Acolas M.L., Roqueplo C., Rouleau E., and Rochard E. (In press) Restoration-Conservation of *A. sturio* in France: Post release monitoring In *Biology and conservation of the Atlantic European sturgeon Acipenser sturio L., 1758* (Williot, P., et al., eds), Springer
- Acolas M.L., Rouleau E., Roqueplo C., Le Barh R., and Rochard E. (2009) Action n°10 Localisation et caractérisation des habitats fluviaux fréquentés par les jeunes. In *Programme de recherche et de conservation de l'esturgeon européen Acipenser sturio ; bilan scientifique et technique 2008*. (Rochard, E., ed), 64-78, Cemagref
- Acosta A.L. (2007) Variabilité physiologique chez le bar *Dicentrarchus labrax*. Analyse des capacités natatoires et métaboliques de différentes souches. *Mémoire de fin d'étude Master II Recherche en océanographie. Laboratoire CRELA de l'Hommeau.*, 36 p
- Barth C.C., Peake S.J., Allen P.J., and Anderson W.G. (2009) Habitat utilization of juvenile lake sturgeon, *Acipenser fulvescens*, in a large Canadian river. *J. Appl. Ichthyol.* 25 (Suppl. 2), 18-26
- 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
- Brett J.R. (1964) The respiratory metabolism and swimming performance of young sockeye salmon. . *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 21, 1183-1226
- Bridger C.J., and Booth R.K. (2003) The effects of biotelemetry transmitter presence and attachment procedures on fish physiology and behaviour. *Reviews in fisheries science* 11, 13-34.
- Brosse L., Dumont P., Lepage M., and Rochard E. (2002) Validation of a gastric lavage method for the study of the European sturgeon diet, *Acipenser sturio*, Linnaeus 1758. *N. Am. J. Fish. Manag.*
- Chevassus-au-Louis B. (1989) Aspects génétiques de la constitution de population d'élevage destinés au repeuplement. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 314, 146-168
- Claireaux G., and Lefrancois C. (2007) Linking environmental variability and fish performance: integration through the concept of scope for activity. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences* 362, 2031-2041
- Cushing D.H. (1990) Plankton production and year-class strength in fish populations : an update of the match/mismatch hypothesis. *Adv. Mar. Biol.* 26, 250-293
- Doroshov S., Binkowski F., Thuemler T., and MacKinlay D. (1996) Culture, Management of Sturgeon, Paddlefish. Proceedings of the International Congress on the Biology of Fishes. San Francisco State University, Physiology Section, American Fisheries Society. 181 p.
- Elie P. (1997) Restauration de l'esturgeon européen *Acipenser sturio*. Contrat Life rapport final du programme d'exécution. 381, Cemagref de Bordeaux
- Elie P.c. (1998) Rapport final Life Sturio. 381, Cemagref Bordeaux
- Fry F.E.J. (1971) The effect of environmental factors on the physiology of fish. In *Fish physiology, VI. Academic press.*, (RANDALL., H., ed), 1-98
- Jatteau P. (1998) Etude bibliographique des principales caractéristiques de l'écologie des larves d'Acipenséridés. *Bull. Fr. Peche Piscic.* 350-351, 445-464
- Jatteau P., and Lochet A. (2009) Action n°18 : Mise au point d'une méthode de marquage vital des alevins. In *Programme de recherche et de conservation de l'esturgeon européen Acipenser sturio ; bilan scientifique et technique 2008* (Rochard, E., ed), 81-88, Cemagref
- 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. *Bulletin français de la pêche et de la pisciculture* 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 Acipenséridés. ***Rev. Trav. Inst. Pêches marit.* 23, 277-285
- Magnin E. (1962) Recherches sur la systématique et la biologie des Acipenséridés. *Annales de la Station Centrale d'Hydrobiologie Appliquée* 9, 7-242
- Mallekh R., Lagardère J.P., Bégout Anras M.L., and Lafaye J.Y. (1998) Variability in appetite of turbot, *Scophthalmus maximus* under intensive rearing conditions: the role of environmental factors. *Aquaculture* 165, 123-138
- 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 écobiologique de l'esturgeon, *Acipenser sturio*. In *Rennes*, 296, 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. (2006) Actions de recherche proposées pour contribuer au plan international de restauration de l'esturgeon européen *Acipenser sturio*. *Etude Cemagref groupement de Bordeaux n°103*, 51 p.
- 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., Williot P., Castelnaud G., and Lepage M. (1991) Eléments de systématique et de biologie des populations sauvages d'esturgeons. In *Acipenser Actes du premier colloque international sur l'esturgeon* (P., W., ed), 475-507, 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
- Rouault T., Chèvre P., Rochard E., Jatteau P., Jacobs L., and Gonthier P. (2008a) Programme de recherche et de conservation de l'esturgeon européen *Acipenser sturio* ; bilan scientifique et technique 2007. Cemagref de Bordeaux, étude n°127. 79p.
- Rouault T., Chèvre P., Rochard E., Jatteau P., Jacobs L., and Gonthier P. (2008b) Programme de recherche et de conservation de l'esturgeon européen *Acipenser sturio* ; bilan scientifique et technique 2007. 79, Cemagref de Bordeaux
- St-Pierre R.A. (1999) Restoration of Atlantic sturgeon in the northeastern USA with special emphasis culture and restocking. *J. appl. Ichthyol.* 15, 180-182
- Staaks G., Kirschbaum F., and Williot P. (1999) Experimental studies on thermal behaviour and diurnal activity rhythms of juvenile European sturgeon (*Acipenser sturio*). *J. Appl. Ichthyol.-Z. Angew. Ichthyol.* 15, 243-247
- Sulak K.J., and Clugston J.P. (1998) Early life history stages of gulf sturgeons in the Suwannee river, Florida. *Trans. Am. Fish. Soc.* 127, 758-771
- Sulak K.J., and Clugston J.P. (1999) Recent advances in life history of Gulf of Mexico sturgeon, *Acipenser oxyrinchus desotoi*, in the Suwannee river, Florida, USA : a synopsis. *J. Appl. Ichthyol.* 15, 116-128

Williot P., Brun R., Rouault T., and Rooryck O. (1991a) Management of female spawners of the Siberian sturgeon, *Acipenser baeri* Brandt: first results. In *Acipenser, Actes du premier colloque international sur l'esturgeon* (Williot, P., ed), 365-379, Cemagref

Williot P., Brun R., Rouault T., and Rooryck O. (1991b) Management of female spawners of the Siberian sturgeon, *Acipenser baeri* Brandt: First results. In: Williot P. (Ed.), *Acipenser, Actes du premier colloque international sur l'esturgeon*. CEMAGREF Publ., Bordeaux. pp. 365-379.

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