

Conservation du stock d'esturgeons européens *A. sturio*, reproductions assistées, lâchers en milieu naturel et animation du Plan national d'Actions

Année 2024

V. Lauronce, B. Henri, Q. Buisson, A. Daronnat



M I G A D O

TABLE DES MATIERES

| | |
|--|------------|
| TABLE DES ILLUSTRATIONS | III |
| INTRODUCTION | 5 |
| 1. LE STOCK D'ESTURGEONS EUROPEENS | 6 |
| 1.1. Le stock de sub-adultes | 6 |
| 1.1.1 La différenciation sexuelle des sub-adultes..... | 8 |
| 1.1.2 La répartition des différentes génétiques dans le stock de sub-adultes | 10 |
| 1.2. Les juvéniles | 12 |
| 1.3. Les géniteurs | 12 |
| 1.3.1 Le stock de géniteurs d'esturgeons européens..... | 13 |
| 1.3.2 Les individus matures..... | 13 |
| 2. LA REPRODUCTION DE L'ESTURGEON EUROPEEN | 16 |
| 2.1 . L'autorisation d'expérimentation animale délivrée par le ministère de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation. | 16 |
| 2.2 . Les bassins dédiés à la reproduction. | 16 |
| 2.3. Echographie des géniteurs et sub-adultes et sélection des individus pour la reproduction | 17 |
| 2.4. Préparation des laboratoires, table d'incubation et éclosion | 19 |
| 2.5. Protocole de stimulation des mâles et prélèvement du sperme | 20 |
| 2.5.1. Prélèvement du sperme..... | 20 |
| 2.5.2. Analyse de la qualité du sperme | 23 |
| 2.6. Protocole de stimulation des femelles et prélèvement des œufs | 25 |
| 2.6.1. Les biopsies des femelles..... | 25 |
| 2.6.2. La mise en incubation des ovocytes pour le suivi de la maturation | 26 |
| 2.7. Fécondation des œufs et incubation | 32 |
| 2.7.1. Le plan de fécondation et la fécondation..... | 32 |
| 2.7.2. Le traitement à l'argile..... | 33 |
| 2.7.3. L'incubation..... | 34 |
| 2.7.4. L'éclosion..... | 35 |
| 2.8. Suivi de l'évolution des hématocrites | 36 |
| 2.9. Débriefing de la reproduction | 37 |
| 3. LA PRODUCTION DE JUVENILES DE REPEUPLEMENT | 38 |
| 3.1. Alimentation des larves dans les premiers stades | 38 |

| | |
|---|-----------|
| 3.2. Elevage des juvéniles | 39 |
| 3.3. Le devenir des juvéniles..... | 39 |
| 4. LES REPEULEMENTS D'ESTURGEONS EUROPEENS A PARTIR DES REPRODUCTIONS ARTIFICIELLES..... | 40 |
| 4.1. Les larves de 7 jours..... | 40 |
| 4.2. Les lâchers des juvéniles de 80-90 jours | 42 |
| 4.3. Récapitulatif des lâchers depuis 1995 | 43 |
| 4.4. Prédation des esturgeons par les silures au moment des lâchers | 44 |
| 5. PROTOCOLE DE SUIVI DE LA REPRODUCTION NATURELLE..... | 46 |
| 6. ANIMATION DU PLAN NATIONAL STURIO..... | 47 |
| 6.1. Le nouveau PNA 2020 -2029. | 47 |
| 6.2. L'élaboration d'une Infomail en mars 2024. | 48 |
| 6.3. Site internet www.sturio.fr | 49 |
| 6.4. Collaboration avec les pêcheurs professionnels et amateurs pour la reconnaissance d'esturgeons exotiques capturés dans le milieu naturel..... | 50 |
| 6.5. Mise à disposition d'esturgeons dans les aquariums | 50 |
| 6.6. Réunion du groupe financeurs des actions Sturio « bilan des actions 2024 et programmation des actions 2025»..... | 52 |
| 6.7. Mise à disposition d'esturgeons européens aux porteurs de projet LifeMigratoEbre en Espagne. | 52 |
| 6.8. Convention de partenariat technique et financier entre MIGADO et Ark Nature..... | 53 |
| 6.9. Partenariat France Allemagne dans le cadre du programme national de sauvegarde de l'esturgeon européen dans l'Elbe. | 55 |
| CONCLUSION ET PERSPECTIVES..... | 56 |
| ANNEXES..... | 57 |

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 1 : Synthèse générale des individus présents dans le stock captif | 6 |
| Figure 2 : Evolution de la différenciation sexuelle des individus des différentes cohortes au cours du temps. | 9 |
| Figure 3 : Déterminisme sexuel des différentes cohortes en 2024 | 9 |
| Figure 4 : Géniteurs d'esturgeon européen. | 12 |
| Figure 5 : Géniteurs d'esturgeons européens issus du milieu naturel ou issus du stock captif. | 14 |
| Figure 6 : Sondes automatiques (oxygène, température, salinité, pH) installées dans les bassins de reproduction (BR) afin de suivre l'évolution des paramètres..... | 17 |
| Figure 7 : Echographies des esturgeons présents dans le stock captif (gonade femelle avec des œufs). | 18 |
| Figure 8 : Installation du matériel dans le laboratoire dédié à la reproduction..... | 19 |
| Figure 9 : Installation du matériel dans le laboratoire dédié à la reproduction..... | 20 |
| Figure 10 : Echographie de contrôle (a) et prise de sang (b) avant injection d'hormone (J2 – 8h du matin). | 21 |
| Figure 11 : Prélèvement du sperme d'un mâle de <i>A. sturio</i> | 21 |
| Figure 12 : Semence prélevée sur les mâles de <i>A. sturio</i> | 22 |
| Figure 13 : Observation de la qualité des spermatozoïdes au microscope | 24 |
| Figure 14 : Biopsie et prélèvement de œufs..... | 25 |
| Figure 15 : Mise en culture in vitro des ovocytes dans milieu de culture + hormone..... | 26 |
| Figure 16 : Mise en place des œufs dans la boîte de pétri pour scan et image scannée retouchée..... | 27 |
| Figure 17 : Œufs coupés en deux pour la mesure de l'OPI..... | 28 |
| Figure 18 : Œufs récupérés par stripping et césarienne..... | 32 |
| Figure 19 : Préparation des cônes pour passage à l'argile (a) et passage à l'argile (b)..... | 33 |
| Figure 20 : Petits lots élevés en zebtech..... | 34 |
| Figure 21 : Jarres d'incubation MacDonald prévues (a)..... | 34 |
| Figure 21 : Jarres d'incubation mises en place dans les auges d'éclosion | 36 |
| Figure 22 : Centrifugeuse, capillaires et abaque utilisés pour la lecture des hématocrites | 36 |
| Figure 23 : Larves de 20 jours d'esturgeons européens | 38 |
| Figure 24 : Productions d'artemias..... | 38 |
| Figure 25 : Frayères potentielles d'esturgeons européens. Source : Lauronce, MIGADO..... | 41 |
| Figure 26 : Larves de 7 jours actives juste avant lâcher. | 41 |
| Figure 27 : Lâchers des juvéniles de 80 à 90 jours. | 42 |
| Figure 28 : Bilan des lâchers de Sturio depuis 1995..... | 43 |
| Figure 29 : Esturgeons régurgités suite à la capture de silures à Couthures sur Garonne (source : AADPPEDG)..... | 44 |
| Figure 30 : Page de couverture du Plan National d'actions en faveur de l'Esturgeon européen 2020-2029. | 48 |
| Figure 31 : Capture écran de la première page du site internet www.sturio.fr | 49 |
| Figure 32 : Esturgeons présents à l'aquarium de La Rochelle. | 51 |
| Figure 33 : Positionnement des hydrophones au niveau du Delta de l'Ebre..... | 53 |

| | |
|---|----|
| Figure 34: Positionnement des hydrophones au niveau du Delta de l'Ebre..... | 54 |
|---|----|

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 1 : Nombre de juvéniles présents sous alimentation naturelle et artificielle, et évolution entre fin 2023 et fin 2024 | 7 |
| Tableau 2 : Evolution de la différenciation sexuelle sur les individus de 2016 à 2024 | 8 |
| Tableau 3 : Synthèse générale des juvéniles présents sur la station avec la génétique associée. | 11 |
| Tableau 4 : Synthèse générale des juvéniles de la cohorte 2022 à 2024..... | 12 |
| Tableau 5 : Géniteurs de Sturio dans le stock captif. | 15 |
| Tableau 6 : Synthèse des injections et prélèvement de la semence | 22 |
| Tableau 7 : Critères de classement des semences en 4 catégories. | 24 |

INTRODUCTION

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 d'esturgeons européens, le plus grand poisson migrateur des eaux françaises et ouest européennes, n'ont cessé de décroître. Cette population a atteint un niveau critique sur le seul et dernier bassin Garonne Dordogne, où elle est encore présente.

Depuis 1975, INRAE a commencé à étudier l'état de cette population et a constitué depuis 1990 un stock d'individus captifs, à partir de quelques captures accidentelles de poissons sauvages. Depuis 2007, les premières reproductions artificielles ont permis de déverser plusieurs milliers d'individus dans le bassin Garonne Dordogne.

Le transfert de la conservation du stock d'esturgeons européens, de l'élevage des juvéniles pour le repeuplement, des lâchers en milieu naturel de INRAE vers MIGADO a eu lieu en 2012, et de la partie reproduction assistée en 2018. MIGADO a la charge de l'animation du Plan National d'actions depuis 2011.

A la suite d'un premier PNA en faveur de l'esturgeon européen de 2011 à 2015 prolongé jusqu'à 2019, un bilan a été réalisé et un nouveau plan rédigé pour les 10 prochaines années de 2020 à 2029. Ce plan a été validé en septembre 2020 par le Ministère de la Transition Ecologique et Solidaire.

Ces plans listent une série d'actions en faveur de l'esturgeon, et impliquent la participation de plusieurs partenaires (INRAE, MIGADO, DREAL Nouvelle-Aquitaine, CNPMMEM, EPTB, collectivités, Etat, partenaires internationaux...). L'animation a été mise en place et un réseau de partenaires s'est développé autour du plan afin d'en assurer sa mise en place telle que prévue initialement.

Le suivi des captures accidentelles par le monde de la pêche et des suivis en milieux naturels permettront d'obtenir des données sur l'efficacité des repeuplements mis en place. Ces actions sont portées par le CNPMMEM et INRAE. Les suivis en milieu naturel au niveau de l'Estuaire de la Gironde sont réalisés par INRAE.

De nouvelles actions ont été mises en place afin de suivre l'évolution du programme et l'avancée des actions : une actualisation de l'état des frayères et la mise en place des protocoles de suivi de la reproduction naturelle.

1. LE STOCK D'ESTURGEONS EUROPEENS

Le stock d'esturgeons européens est constitué d'adultes, de juvéniles et sub-adultes, certains sexés, d'autres trop jeunes, et les individus de chaque cohorte sont issus d'un nombre plus ou moins importants de croisements génétiques. Toutes ces informations permettent de prévoir et réaliser si possibles des reproductions assistées acceptables génétiquement et permettant d'assurer la diversité génétique de l'espèce.

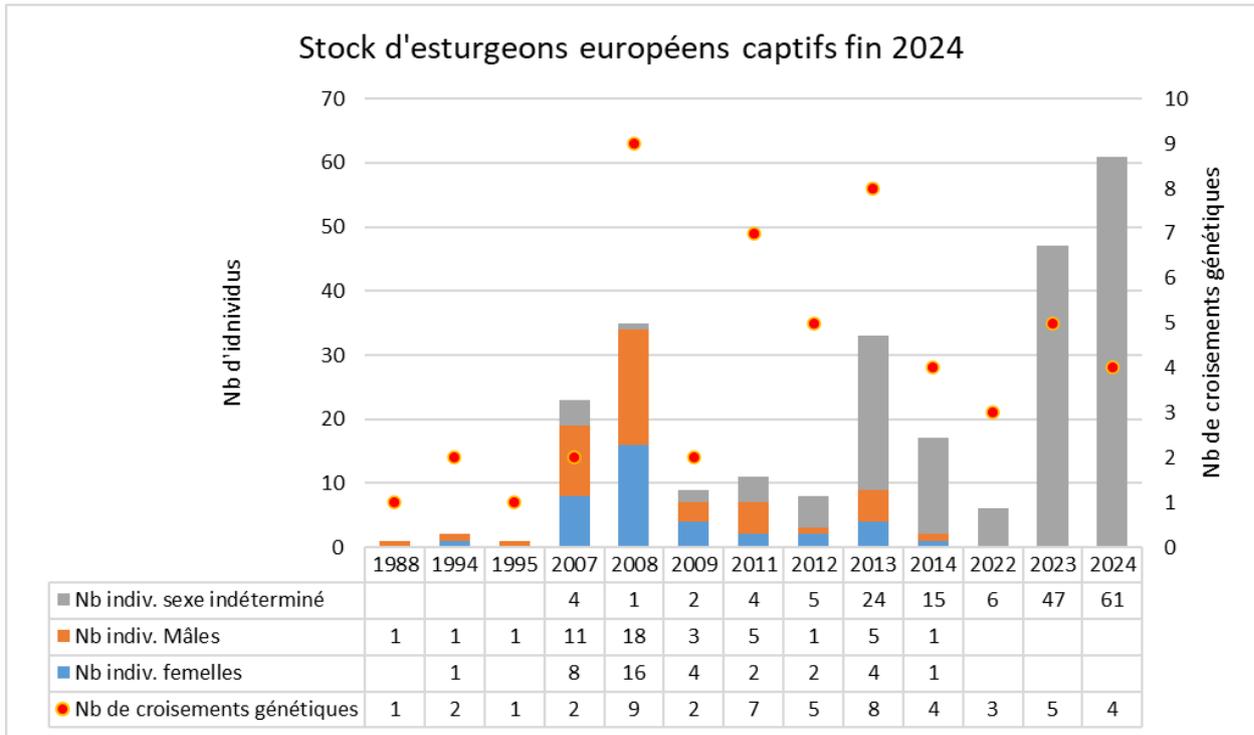


Figure 1 : Synthèse générale des individus présents dans le stock captif

1.1. Le stock de sub-adultes

Un tri des juvéniles a eu lieu, en début d'année 2024 comme tous les ans, afin de faire le bilan des poissons présents sur la station et de les répartir dans les bassins de façon plus uniforme en fonction de la biomasse et de leur taille.

Depuis 2024 264 sub-adultes sont présents sur la station. Ces poissons sont destinés à renouveler le stock captif et à devenir de futurs géniteurs. Le Groupe technique conservation du stock avait estimé que pour assurer la restauration de l'espèce dans le bassin Garonne Dordogne, il était souhaitable de repeupler avec 400 000 juvéniles par an en moyenne sur 6 ans. Pour cela, il suffisait de conserver 25 poissons d'un an de chaque cohorte. Ces estimations avaient été réalisées par Irstea, en prenant en compte les mortalités au différents stades, à la fois en milieu naturel et sur le site de St Seurin sur l'Isle. A 3 mois, un nombre plus important d'individus sont conservés, puis sont relâchés un an après. Cela permet de se prémunir d'éventuelles mortalités de certaines génétiques pendant les premiers mois. En 2022, la première reproduction assistée à partir d'individus nés sur site en 2007 a fonctionné, et des larves ont pu être produites, permettant d'ajouter dans le stock captif des individus de cette cohorte. En 2023, une seconde reproduction a été réalisée, et des juvéniles de 2023 sont

entrés dans le stock captif. En 2024, les individus issus des reproductions assistées à partir de semence congelée sont conservés sur les sites.

Tous les poissons encore présents en extérieur sont regroupés sous la serre Alosa, dans des circuits circulaires qui avaient été mis en service en 2020. Tous les esturgeons européens sont donc concentrés dans une zone éloignée de l'eau de rivière, afin de les protéger des problèmes sanitaires rencontrés dans ce milieu. Des échographies ont été réalisées cette année sur l'ensemble des esturgeons présents sur le site quelle que soit la cohorte, hormis les 2022 et 2023.

Pour rappel, en 2013, il a été décidé d'abandonner provisoirement l'alimentation avec des aliments artificiels, du fait des fortes torsions constatées sur les individus nourris avec ce type d'aliment, torsions qui entraînaient leur mort. En effet, le taux de mortalité est d'environ 30 % par an, et de 0.8 % pour les individus nourris avec des aliments naturels. Cependant, il serait intéressant de travailler sur l'alimentation afin de trouver un aliment artificiel adapté à cette espèce.

Cette année encore, on constate que 28 % du stock d'individus sous aliment artificiel sont morts, tous euthanasiés pour cause de torsion. En 2023, cette mortalité était de 22%. Le nombre d'individus morts nourris avec des aliments naturels est moyenne cette année (2 individus – 1,6%). Ce taux est faible par celui des années précédentes. Fin 2023, sur les 116 sub-adultes présents, 7 sont nourris avec des aliments artificiels et 109 avec des aliments naturels. Il a été décidé fin 2023, de ne plus nourrir ces animaux avec des aliments artificiels, ils ont été désevrés et passés sous aliment naturel. Lors de la sélection des reproductions, et de la reprise alimentaires ces individus sont nourris quelques temps avec des aliments naturels. De plus, par manque de place dans les bassins, un bassin de 30 m³ est « bloqué » par ces poissons. Les passer en nourrissage avec des aliments naturels, cela permet de gagner de la place et rajouter des animaux. La différence du nombre d'individus entre 2022 et 2023 est due aux mortalités, mais également aux individus qui sont passés du stade sub-adultes à géniteurs.

Tableau 1 : Nombre de juvéniles présents sous alimentation naturelle et artificielle, et évolution entre fin 2023 et fin 2024

| | stock de juvéniles fin 2023 | | Total | stock de juvéniles fin 2024 | | Total |
|--------------|-----------------------------|--------------------|------------|-----------------------------|--------------------|------------|
| | aliment naturel | aliment artificiel | | aliment naturel | aliment artificiel | |
| 2007 | 15 | 0 | 15 | 14 | 0 | 14 |
| 2008 | 21 | 3 | 24 | 19 | 0 | 19 |
| 2009 | 6 | 3 | 9 | 8 | 0 | 8 |
| 2011 | 7 | 1 | 8 | 7 | 0 | 7 |
| 2012 | 7 | 0 | 7 | 4 | 0 | 4 |
| 2013 | 32 | 0 | 32 | 31 | 0 | 31 |
| 2014 | 21 | 0 | 21 | 18 | 0 | 18 |
| Total | 109 | 7 | 116 | 101 | 0 | 101 |

Actuellement, fin 2024, 101 sub-adultes sont présents sur le site de Saint Seurin sur l'Isle. Ces poissons sont issus des cohortes 2007 à 2014. Tous les individus des cohortes 2007 à

2014 ont été transférés en eau saumâtre en circuits fermés afin de pour voir faire varier les paramètres physico-chimiques de la même manière que dans le milieu naturel.

1.1.1 La différenciation sexuelle des sub-adultes

La différenciation sexuelle s'est faite sur 96% des individus de la cohorte 2007 en 2023 (seul un individu ne montre pas de signe de différenciation sexuelle), 95% des individus de la cohorte 2008 en 2023 (en nette augmentation depuis ces dernières années). Parmi les individus ayant fait la différenciation sexuelle, on constate un certain équilibre entre le nombre de mâles et de femelles. Il semble que la différenciation sexuelle soit déclenchée ou accélérée par le fait que les poissons sont transférés en eau saumâtre, et ne soient pas en surdensités. Lors de cette année 2024, les cohortes les plus jeunes (2013 et 2014) continuent à montrer des signes de différenciation sexuelle.

Le sexe des individus est ici identifié par échographie, méthode non intrusive, ce qui explique des variations d'une année sur l'autre, la détermination du sexe sur les jeunes individus est complexe à définir de manière certaine.

Tableau 2 : Evolution de la différenciation sexuelle sur les individus de 2016 à 2024

| cohorte | 2016 | 2017 | 2018 | 2019 | 2020 | 2021 | 2022 | 2023 | 2024 |
|-------------|-------|--------|--------|--------|-------|-------|--------|--------|--------|
| 2007 | 0 | 51,92% | 60,47% | 61,54% | 87,5% | 95,8% | 91,00% | 96,88% | 85,19% |
| 2008 | 0 | 24,29% | 27,50% | 27,03% | 65,7% | 79,5% | 66,00% | 95,00% | 97,06% |
| 2009 | 0 | 3,45% | 11,11% | 12,50% | 8,3% | 36,4% | 46,00% | 82,00% | 77,78% |
| 2011 | 0 | 4,17% | 14,29% | 21,43% | 50,0% | 63,6% | 58,00% | 91,67% | 63,64% |
| 2012 | 0,00% | 0,00% | 0,00% | 0,00% | 25,0% | 27,3% | 50,00% | 37,50% | 37,50% |
| 2013 | 0,00% | 0,00% | 0,00% | 0,00% | 0,0% | 0,0% | 0,00% | 26,47% | 27,27% |
| 2014 | 0,00% | 0,00% | 0,00% | 0,00% | 0,0% | 0,0% | 0,00% | 8,70% | 11,76% |

La différenciation sexuelle des individus vivant en eau douce se fait de manière plus tardive. On remarque cependant un retard dans la différenciation sexuelle des 2009 sur les premières années, qui commencent à rattrapper les cohortes plus anciennes. Il semblerait que la différenciation sexuelle des individus se fasse, en eau saumâtre dans la 8^e ou 9^e année de vie des individus. Selon les individus, la différenciation sexuelle peut se faire tardivement, puisque 85% des individus de la cohorte 2007 (117 ans) ont fait la différenciation sexuelle, et 97% de la cohorte 2008 (16 ans). La différence peut être due soit aux problèmes d'identification du sexe à l'échographie, à la génétique des poissons, ou aux modifications morphologiques des individus.

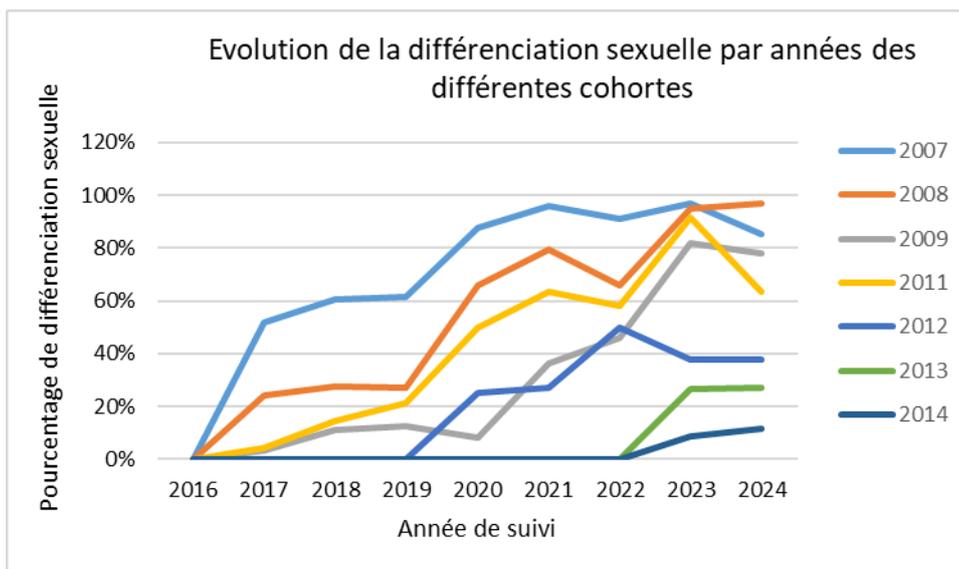


Figure 2 : Evolution de la différenciation sexuelle des individus des différentes cohortes au cours du temps.

On constate que la différenciation sexuelle se fait d'abord sur les mâles, qui mûrissent plus tôt (âge de première maturation vers 10 ans), et les gonades restent indéterminées pour devenir femelles plus tardivement.

Entre 2019 et 2020, on constate une augmentation importante de la différenciation sexuelle des individus des différentes cohortes. Cela peut s'expliquer par le fait que de nombreux individus ont été transférés en 2019 en eau saumâtre, ce qui a accéléré la différenciation sexuelle.

Le déterminisme sexuel des différentes cohortes est représenté sur la figure n°2. On constate un fort déterminisme sur les cohortes les plus âgées (2007 et 2008), avec pratiquement la totalité des individus qui ont pu faire le déterminisme sexuel. Ici ne sont représentés que les juvéniles, individus qui n'ont pas permis de récupérer des œufs ou du sperme.

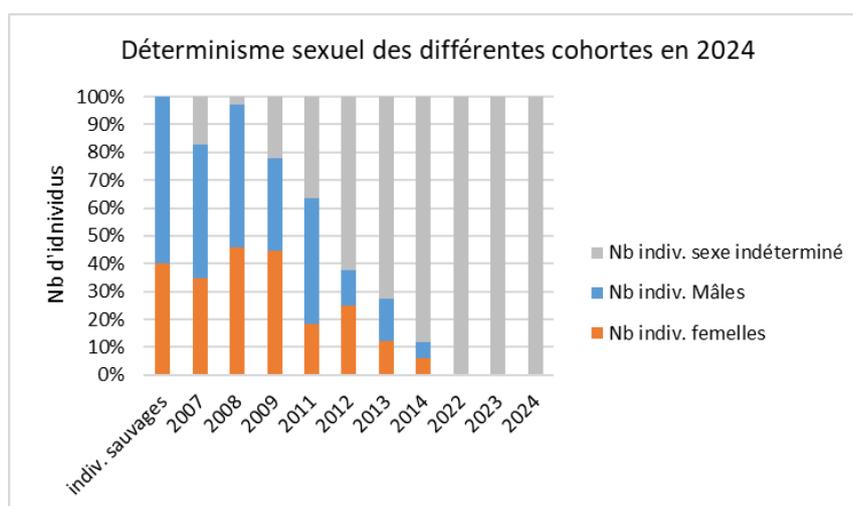


Figure 3 : Déterminisme sexuel des différentes cohortes en 2024

Le Groupe technique Conservation du stock a décidé, lors d'une précédente réunion, de conserver 25 poissons d'un an de chaque cohorte. A 3 mois, un nombre plus important d'individus sont conservés, puis sont relâchés un an après. Cela permet de se prémunir d'éventuelles mortalités de certaines génétiques pendant les premiers mois. Depuis 2015, les reproductions n'ayant pas fonctionné, aucun individu de ces cohortes ne fera partie du stock captif.

Chaque individu est identifié grâce à une marque magnétique pit-tag, ce qui permet de connaître la génétique à laquelle il appartient.

Grâce aux améliorations apportées aux conditions et aux protocoles d'élevage, les mortalités sont de plus en plus faibles, et il paraît évident qu'il n'est pas nécessaire de garder un grand nombre d'individus de chaque cohorte pour avoir, 15 ans après, suffisamment d'individus matures.

1.1.2 La répartition des différentes génétiques dans le stock de sub-adultes

Toutes les génétiques sont conservées dans le stock captif, afin d'avoir un échantillonnage intéressant des individus. Le travail réalisé par INRAE ces dernières années a permis d'identifier des marqueurs génétiques capables d'isoler les différents groupes génétiques d'individus, mais également de retrouver les parents de chaque poisson. La génétique de tous ces poissons a été vérifiée afin d'optimiser les croisements futurs au moment des reproductions. Le tableau suivant (Tableau n°4) reprend le nombre d'individus conservés pour chaque génétique en eau saumâtre ou en eau douce.

INRAE a fourni à MIGADO le schéma des taux de croisement optimum en fonction des génétiques.

Tableau 3 : Synthèse générale des juvéniles présents sur la station avec la génétique associée.

| Cohorte | Type d'alimentation et d'eau | | femelles | mâles | Indéterminé | Total Individus |
|----------------------|------------------------------|-------------------------|-----------|-----------|-------------|-----------------|
| | Naturelle / eau saumâtre | Naturelle / eau rivière | | | | |
| 2007 | 30 | | 18 | 11 | 1 | 30 |
| Francine x Emile | 11 | | 7 | 3 | 1 | 11 |
| Francine x Justin | 19 | | 11 | 8 | | 19 |
| 2008 | 35 | | 16 | 18 | 1 | 35 |
| Georgina x Bleu | 3 | | 1 | 2 | | 3 |
| Georgina x Emeline | 2 | | 1 | 1 | | 2 |
| Georgina x Emile | 2 | | 1 | 1 | | 2 |
| Jeanne x Bleu | | | | | | |
| Jeanne x Jude | 5 | | 2 | 3 | | 5 |
| Jeanne x Philippe | 13 | | 6 | 6 | 1 | 13 |
| Julie x Bleu | 2 | | | 2 | | 2 |
| Julie x Emeline | 1 | | 1 | | | 1 |
| Julie x Emile | 1 | | 1 | | | 1 |
| Julie x Isabeau | | | | | | |
| Odile x Bleu | 6 | | 3 | 3 | | 6 |
| 2009 | 8 | | 4 | 3 | 1 | 8 |
| Francine x Hervé | 1 | | 1 | | | 1 |
| Francine x Martinien | 7 | | 3 | 3 | 1 | 7 |
| 2011 | 12 | | 3 | 5 | 4 | 12 |
| Aristide x Bleu | 1 | | | | 1 | 1 |
| Edith x Emeline | 1 | | | 1 | | 1 |
| Edith x Justin | 3 | | 2 | 1 | | 3 |
| Fiacre x Norman | | | | | | |
| Francine x Emeline | | | | | | |
| Francine x Justin | 1 | | | | 1 | 1 |
| Henriette x Norman | 1 | | | 1 | | 1 |
| Henriette x Mariette | 3 | | | 1 | 2 | 3 |
| Lucette x Emeline | 2 | | 1 | 1 | | 2 |
| 2012 | 8 | | 2 | 1 | 5 | 8 |
| 360 x Paco | 1 | | 1 | | | 1 |
| 360 x Nathalie | 1 | | | | 1 | 1 |
| Jeanne x Justin | 1 | | | | 1 | 1 |
| Julie x Nathalie | 2 | | | 1 | 1 | 2 |
| Léonce x Justin | 1 | | | | 1 | 1 |
| Martine x 137 | 1 | | | | 1 | 1 |
| Odile x Mariette | | | | | | 0 |
| Severine x 137 | 1 | | 1 | | | 1 |
| 2013 | 33 | | 4 | 5 | 24 | 33 |
| Aristide x Martinien | 3 | | 1 | | 2 | 3 |
| DN x 328 | 8 | | | 2 | 6 | 8 |
| DN x Emeline | 7 | | 3 | 2 | 2 | 7 |
| Edith x Paco | 2 | | | | 2 | 2 |
| Fulbert x Gautier | 1 | | | | 1 | 1 |
| Jules x 338 | 4 | | | 1 | 3 | 4 |
| Jules x 364 | 5 | | | | 5 | 5 |
| Lucette x Mariette | 3 | | | | 3 | 3 |
| 2014 | 17 | | 1 | 1 | 15 | 17 |
| Julie x Delphine | 4 | | 1 | | 3 | 4 |
| Léonce x Delphine | 5 | | | | 5 | 5 |
| Léonce x Carol | 5 | | | 1 | 4 | 5 |
| Jeanne x Mariette | 3 | | | | 3 | 3 |
| Total Général | 143 | 0 | 48 | 44 | 51 | 143 |

1.2. Les juvéniles

Les juvéniles sont issus des reproductions 2022 à 2024. Dans le stock captif, seuls quelques individus de la cohorte 2022 ont été conservés sur le site de St Seurin afin d'alimenter le stock captif. Il avait été décidé en Groupe Thématique conservation du stock captif de ne pas conserver d'individus F2, c'est-à-dire des individus issus d'une reproduction assistée réalisée entre individus nés sur site.

Tableau 4 : Synthèse générale des juvéniles de la cohorte 2022 à 2024.

| Cohorte | Type d'alimentation et d'eau | | femelles | mâles | Indéterminé | Total Individus |
|--|------------------------------|------------------------|----------|----------|-------------|-----------------|
| | Naturelle / eau saumâtre | Naturelle / eau forage | | | | |
| 2022 | 0 | 13 | | | 13 | 13 |
| 3207545 x 3260410 | | 12 | | | 12 | 12 |
| 3207545 x Mariette (semence congelée) | | 1 | | | 1 | 1 |
| 2023 | 0 | 46 | | | 46 | 46 |
| 3255272 x Delphine (semence fraîche et congelée) | | 25 | | | 25 | 25 |
| 3255272 x 3220207 (semence congelée) | | 10 | | | 10 | 10 |
| 3255272 x Hervé (semence congelée) | | 11 | | | 11 | 11 |
| 2024 | 0 | 623 | | | 623 | 623 |
| 3207545, 951103 (MARIETTE) | | 15 | | | 15 | 15 |
| 3207545, 95328 (328) | | 31 | | | 31 | 31 |
| 3219751 x Hervé (congelée) | | 15 | | | 15 | 15 |
| 3219751 x 318 (congelée) | | 3 | | | 3 | 3 |
| 3219751 x 3261241 | | 375 | | | 375 | 375 |
| 3207545 x 3261241 | | 184 | | | 184 | 184 |
| Total Général | 0 | 682 | 0 | 0 | 682 | 682 |

1.3. Les géniteurs

Tous les géniteurs sont actuellement dans le bâtiment Sturio 2.



Figure 4 : Géniteurs d'esturgeon européen.

1.3.1 Le stock de géniteurs d'esturgeons européens

Le stock captif de géniteurs a été constitué par les pêcheurs professionnels, amateurs aux engins et le Cemagref à la demande de l'état à partir du début des années 1990. Au total environ 80 esturgeons européens ont été ramenés sur le site de St Seurin sur l'Isle, individus nés entre 1970 et 1995. Une trentaine de ces individus ont pu être acclimatés à la vie en bassin, ont réussi à se nourrir, et ont permis de mettre au point le protocole d'élevage puis de reproduction à partir de 2007. Ces individus ont participé aux reproductions assistées de 2007 à 2014. En 2013, le transfert des géniteurs dans un nouveau bâtiment a été source de stress, qui a entraîné la mort d'un grand nombre de ces individus, devenus pour la plupart trop âgés pour supporter un tel stress. Les 4 géniteurs sauvages encore présents sur le site sont actuellement trop vieux pour se reproduire. Une femelle a présenté des signes de maturation en 2024, mais n'a pas supporté le stress des protocoles de reproduction et est morte cette année. Les 3 mâles restant produisent du sperme, encore de bonne qualité certaines années. Il a été décidé de ne plus les utiliser pour les reproductions assistées.

Le stock de « nouveaux géniteurs » s'est donc constitué au fur et à mesure avec les individus issus des reproductions assistées de 2007 à 2014.

Tous les géniteurs sont élevés dans le nouveau bâtiment Sturio 2. Ce bâtiment contient 9 bassins de 4 m de diamètre (30 m³ par bassin) reliés à 3 circuits fermés. Un 4^e circuit a été mis en service en septembre 2015, et est constitué d'un bassin de 6 m de diamètre (55 m³). Les circuits sont alimentés en eau saumâtre à 20‰. Cette salinité permet de conserver les individus dans une eau proche des caractéristiques du milieu naturel et de prévenir des maladies et infections. Le complément d'eau est fait avec une eau de forage. Les bassins sont alimentés en oxygène, fourni via un cadre d'oxygène qui est livré régulièrement à la demande. L'eau de mer est livrée par des camions citerne qui s'alimentent à l'aquarium de La Rochelle, avec qui une convention de mise à disposition du pompage d'eau de mer a été passée en 2016. Cela permet d'avoir une eau de qualité, avec des analyses qui sont réalisées régulièrement par l'aquarium.

1.3.2. Les individus matures

Les poissons considérés comme géniteurs sont les poissons qui ont réellement permis de récupérer de la semence ou des œufs, et pas les individus montrant des signes de maturation à l'échographie, ces derniers étant considérés comme juvéniles ou sub-adultes.

Depuis 2017, de nouveaux poissons ont cependant fait leur entrée dans le groupe des géniteurs. Ce sont des poissons issus des cohortes 2007 et 2008 qui ont montré une certaine maturation lors des échographies, et ont permis de prélever du sperme à partir de 2017, sperme qui a été congelé. 4 de ces mâles ayant donné du sperme ont été transférés en Espagne (Ebre) en 2019, dans le cadre d'un projet de communication. Le sperme de ces poissons a été congelé, et les poissons ont été transférés dans le cadre d'une mise à disposition. Ils appartiennent au stock français et peuvent être récupérés à tout moment. Ces 4 mâles ne sont pas comptabilisés ici dans le nombre de mâles présent dans le stock captif dans la suite des analyses. Les premières femelles ont montré des signes de maturation et ont pondu en 2022, 2023 et 2024.

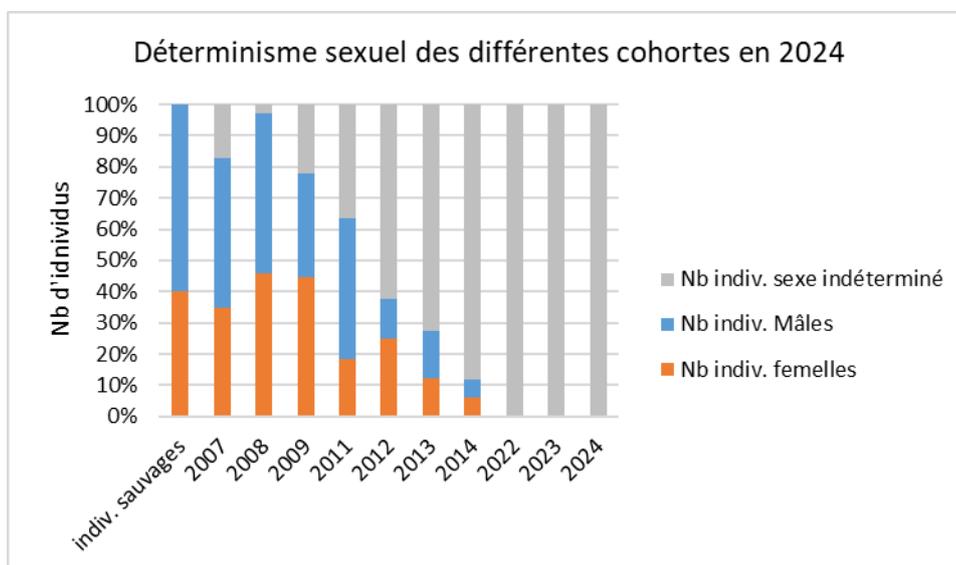
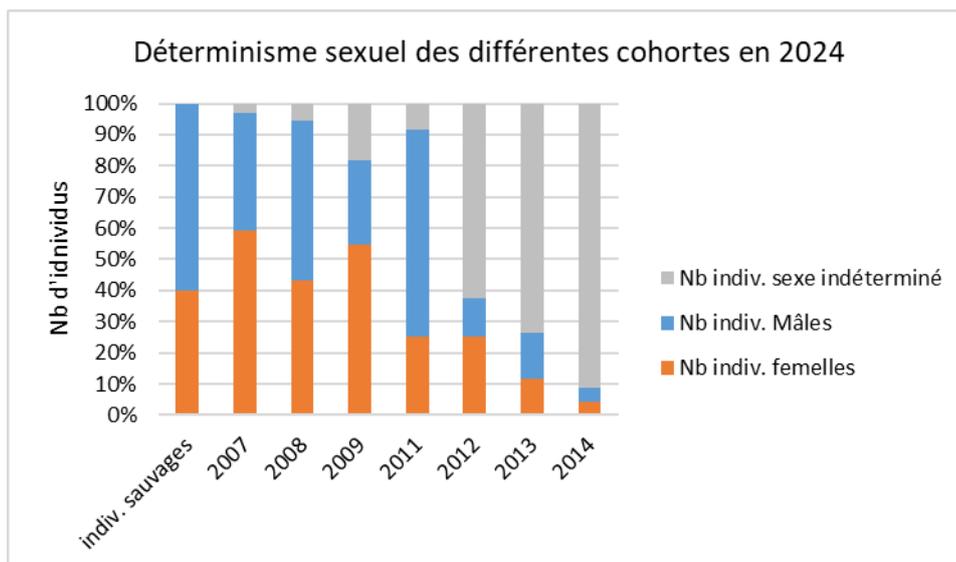


Figure 5 : Géniteurs d'esturgeons européens issus du milieu naturel ou issus du stock captif.

Sur les deux femelles issues du milieu naturel, une femelle issue de la cohorte 1995 et qui avait été capturée dans le milieu naturel au début des années 2000, présente des œufs et a été sélectionné pour la reproduction 2024.

Le sperme des mâles matures a été collecté pour alimenter la banque de sperme congelé. Cette partie est présentée dans la partie reproduction de ce rapport.

Tableau 5 : Géniteurs de Sturio dans le stock captif.

| matricule | prenom | sex | status | cohort | birth_date | basin | weigh | total_lengt |
|----------------|-----------|-----|---------------|--------|------------|-------|-------|-------------|
| 3207482 | | m | Adulte vivant | 2007 | 26/06/2007 | BC4 | 17350 | 150 |
| 3219846 | | m | Adulte vivant | 2007 | 26/06/2007 | BC4 | 14400 | 142 |
| 3220207 | | m | Adulte vivant | 2007 | 26/06/2007 | BC4 | 15350 | 144 |
| 3254158 | | m | Adulte vivant | 2008 | 03/06/2008 | BC4 | 13250 | 158 |
| 3257643 | | m | Adulte vivant | 2008 | 03/06/2008 | BC4 | 19810 | 154 |
| 3261241 | | m | Adulte vivant | 2008 | 03/06/2008 | BC4 | 13100 | 153 |
| 3260410 | | m | Adulte vivant | 2008 | 22/06/2008 | BC4 | 20100 | 153 |
| 3423053 | | m | Adulte vivant | 2011 | 22/06/2011 | BC4 | 18260 | 141 |
| 3391800 | | m | Adulte vivant | 2012 | 11/06/2012 | BC4 | 17500 | 148 |
| 010201 | DELPHINE | m | Adulte vivant | 1994 | | BC4 | 15750 | 144 |
| 020202 | MARTINIEN | m | Adulte vivant | 1995 | | BC4 | 17200 | 163 |
| 930201 | BLEU | m | Adulte vivant | 1988 | | BC4 | 17400 | 157 |
| 950212 | 950212 | f | Adulte vivant | 1994 | | BC4 | 7450 | 123 |
| 95500003255809 | | m | Adulte vivant | 2008 | 22/06/2008 | BC3-3 | 12050 | 138 |
| 3420868 | | m | Adulte vivant | 2011 | 07/07/2011 | BC3-2 | 11350 | 127 |
| 3624395 | | m | Adulte vivant | 2013 | 09/07/2013 | BC3-2 | 12900 | 136 |
| 3624417 | | m | Adulte vivant | 2013 | 09/07/2013 | BC3-2 | 10900 | 134 |
| 95500003219751 | | f | Adulte vivant | 2007 | 26/06/2007 | BC3-1 | 14100 | 149 |
| 3390172 | | f | Adulte vivant | 2012 | 31/05/2012 | BC3-1 | 15650 | 143 |
| 3220002 | | f | Adulte vivant | 2007 | 26/06/2007 | BC2-3 | 10050 | 127 |
| 3219689 | | m | Adulte vivant | 2007 | 26/06/2007 | BC2-3 | 16950 | 145 |
| 3219921 | | m | Adulte vivant | 2007 | 26/06/2007 | BC2-3 | 15680 | 137 |
| 3261542 | | m | Adulte vivant | 2008 | 22/06/2008 | BC2-3 | 14250 | 152 |
| 3336363 | | m | Adulte vivant | 2009 | 27/06/2009 | BC2-3 | 12850 | 129 |
| 3219842 | | f | Adulte vivant | 2007 | 26/06/2007 | BC2-2 | 12550 | 140 |
| 3220270 | | f | Adulte vivant | 2007 | 26/06/2007 | BC2-2 | 16500 | 158 |
| 3219872 | | m | Adulte vivant | 2007 | 26/06/2007 | BC2-2 | 16500 | 146 |
| 3220132 | | m | Adulte vivant | 2007 | 26/06/2007 | BC2-2 | 13350 | 143 |
| 3256562 | | m | Adulte vivant | 2008 | 03/06/2008 | BC2-2 | 14350 | 146 |
| 95500003260462 | | m | Adulte vivant | 2008 | 03/06/2008 | BC2-2 | 14600 | 149 |
| 3219766 | | f | Adulte vivant | 2007 | 26/06/2007 | BC2-1 | 19300 | 157 |
| 3255272 | | f | Adulte vivant | 2008 | 03/06/2008 | BC2-1 | 12100 | 136 |
| 3255905 | | f | Adulte vivant | 2008 | 03/06/2008 | BC2-1 | 16150 | 147 |
| 3254337 | | m | Adulte vivant | 2008 | 03/06/2008 | BC2-1 | 19300 | 158 |
| 3255577 | | f | Adulte vivant | 2008 | 22/06/2008 | BC2-1 | 14800 | 146 |
| 3420159 | | m | Adulte vivant | 2011 | 22/06/2011 | BC2-1 | 19200 | 168 |
| 3423185 | | m | Adulte vivant | 2011 | 22/06/2011 | BC2-1 | 17350 | 148 |
| 3219660 | | m | Adulte vivant | 2007 | 26/06/2007 | BC1-3 | 14400 | 146 |
| 95500003254465 | | f | Adulte vivant | 2008 | 03/06/2008 | BC1-3 | 18300 | 150 |
| 3254539 | | m | Adulte vivant | 2008 | 03/06/2008 | BC1-3 | 15500 | 149 |
| 95500003254506 | | m | Adulte vivant | 2008 | 22/06/2008 | BC1-3 | 13550 | 146 |
| 3219720 | | f | Adulte vivant | 2007 | 26/06/2007 | BC1-2 | 15150 | 142 |
| 3220149 | | m | Adulte vivant | 2007 | 26/06/2007 | BC1-2 | 12800 | 128 |
| 3207545 | | f | Adulte vivant | 2007 | 26/06/2007 | BC1-1 | 21750 | 170 |
| 3219619 | | f | Adulte vivant | 2007 | 26/06/2007 | BC1-1 | 17100 | 152 |
| 3219973 | | f | Adulte vivant | 2007 | 26/06/2007 | BC1-1 | 19000 | 151 |
| 3260968 | | m | Adulte vivant | 2008 | 22/06/2008 | BC1-1 | 20750 | 170 |

2. LA REPRODUCTION DE L'ESTURGEON EUROPEEN

A partir de l'année 2018, MIGADO a eu en charge la réalisation de la reproduction assistée des esturgeons européens présents sur le site de St Seurin. INRAE a transféré cette partie des actions, tout en restant présent en tant que partenaire technique pour le transfert des différentes phases et différents protocoles pour lesquels Migado n'a pas encore été formé, ou n'a pas participé aux expérimentations.

Dans ce cadre, un document reprenant chaque phase de la reproduction avec la description précise des protocoles devant être développés a été remis à MIGADO. MIGADO a consacré une partie de l'année 2021 à travailler sur ces protocoles et à organiser les reproductions avec différents achats de matériels ou d'hormones nécessaires à celles-ci.

2.1. L'autorisation d'expérimentation animale délivrée par le ministère de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation.

Suite aux obligations réglementaires encadrant les expérimentations animales, le projet intitulé « Manipulation des mâles d'esturgeons européens pendant la période de reproduction » a été évalué sur le plan éthique par le comité d'éthique en expérimentation animale n°073 et a reçu un avis favorable. Il a été autorisé pour une durée de 5 ans à partir du 30 avril 2019.

Une demande d'expérimentation animale a été déposée en février 2021 pour un projet intitulé « Mise en œuvre de la reproduction assistée sur les femelles d'esturgeons européens *Acipenser sturio* ». Le comité d'éthique a émis un avis favorable le 29 avril 2021, et le Ministère de l'enseignement supérieur, de la recherche et de l'innovation a autorisé le projet le 10 mai 2021 pour une durée de 5 ans.

2.2. Les bassins dédiés à la reproduction.

Des travaux ont été réalisés dans le bâtiment Sturio 1 par Irstea en 2016-2017 et une zone est dédiée à la reproduction. Elle est constituée d'une zone technique et de 5 bassins de 12 m³, chacun d'eux étant relié à un circuit fermé permettant une gestion indépendante des paramètres physicochimiques et environnementaux des bassins. A partir de février ou mars 2020, les bassins, vidés pour la période hivernale, ont été remis en eau, et les filtres biologiques des bassins dédiés aux reproductions ont étéensemencés, afin que les circuits soient opérationnels pour l'accueil des futurs géniteurs.

Les ensemencements se font par apport de chlorure d'ammonium. Les doses de chlorure d'ammonium varient entre 15 et 45 g tous les 2 jours, afin de laisser passer les deux pics d'ammoniaque puis nitrite, témoins du développement bactérien sur les filtres biologiques, bactéries permettant d'assurer le cycle de dégradation de l'azote sous ses différentes formes.

Comme sur les autres circuits, des sondes d'enregistrement automatique sont installées sur les bassins de reproduction. Ces sondes permettent de suivre l'évolution de la température, salinité, pH et oxygène. Certains filtres sont ensemencés pour un élevage en eau saumâtre (BR 3, 4 5), et d'autres en eau douce (BR 1, 2). En effet lors du transfert des géniteurs potentiels du bâtiment Sturio 2 à Sturio 1, les poissons vivent dans une eau à 20‰. Ils sont donc transférés dans les bassins de reproduction en eau saumâtre, et la salinité est diminuée de manière progressive jusqu'à 9‰ pour les femelles, et 0‰ pour les mâles. Les mâles sont après désalinisation jusqu'à 9‰ transférés dans les bassins eau douce. La diminution de la salinité se

fait de 1‰ par jour pour éviter les chocs osmotiques.

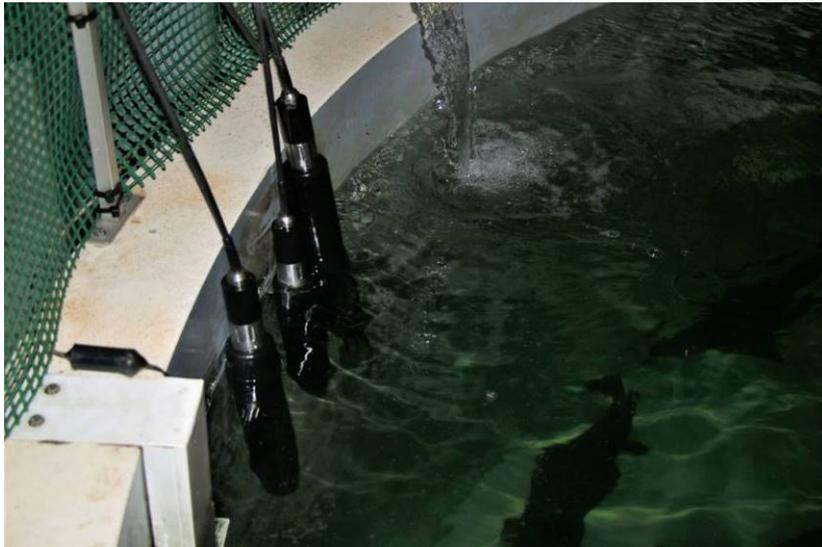


Figure 6 : Sondes automatiques (oxygène, température, salinité, pH) installées dans les bassins de reproduction (BR) afin de suivre l'évolution des paramètres.

2.3. Echographie des géniteurs et sub-adultes et sélection des individus pour la reproduction

Les 23 et 24 avril 2024, un technicien MIGADO (formé fin 2018 au diplôme de plongeur professionnel) est intervenu pour capturer les géniteurs et sub-adultes présents dans les bassins du bâtiment Sturio 2. Les échographies ont été réalisées sur l'ensemble des poissons présents dans le bâtiment Sturio 2.

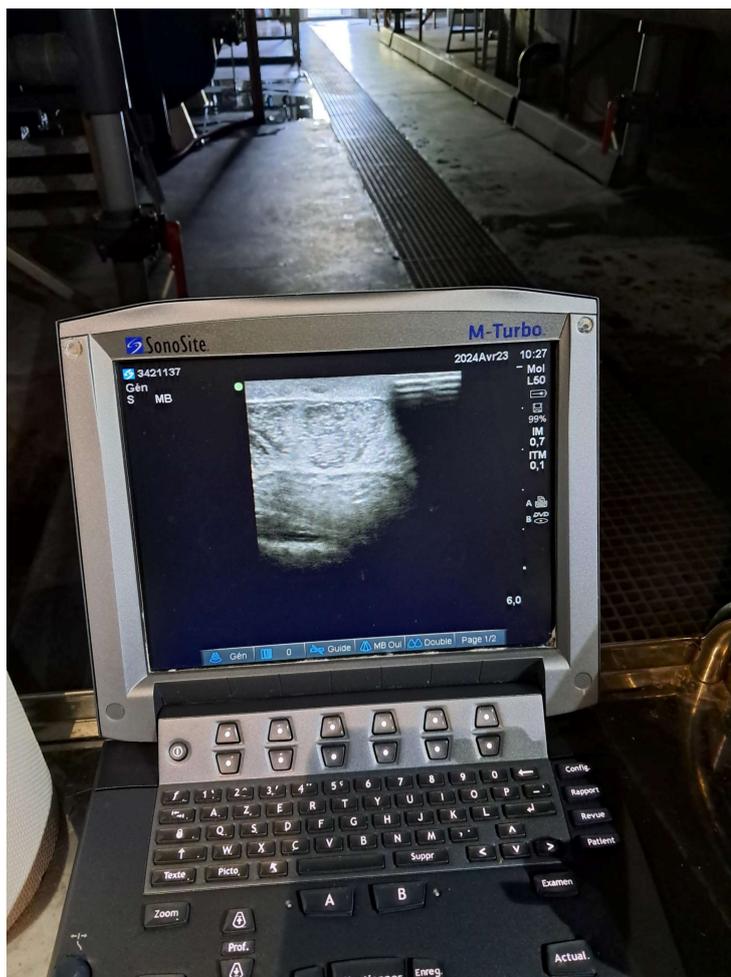


Figure 7 : Echographies des esturgeons présents dans le stock captif (gonade femelle avec des œufs).

Les poissons sont capturés dans un filet chaussette, et ramenés en surface où ils sont déposés dans une civière pour réaliser les échographies. L'échographe utilisé a été acheté par MIGADO, et est identique à celui utilisé précédemment par INRAE. Le personnel MIGADO a reçu une formation de mise en service et d'utilisation par le fournisseur. La formation sur l'interprétation des données avait eu lieu les années précédentes par INRAE. Les échographies sont faites dans l'eau, le poisson restant dans la civière le temps de l'échographie et de la prise de sang afin de minimiser le stress sur les animaux. La prise de sang réalisée sur les poissons qui paraissent matures permet de prélever 0,5 ml de sang et sert à faire des analyses du taux d'hématocrites.

Les individus matures ont été sélectionnés pour la reproduction assistée :

- 14 mâles : 3 de la cohorte 2007, 7 de la cohorte 2008, 2 de la cohorte 2011, 1 de la cohorte 2013, et un mâle sauvage de 1995.
- 8 femelles : 4 de la cohorte 2007, 1 de la cohorte 2008, 1 de la cohorte 2011, 1 de la cohorte 2012, et 1 individu sauvage de 1995.

212 poissons ont été échographiés à ce moment-là, poissons présents dans le bâtiment Sturio 1 et Sturio 2.

Les échographies permettent d'identifier les individus dont les gonades présentent un stade de maturation suffisamment avancé pour qu'une reproduction soit envisagée, ou un prélèvement de sperme afin d'alimenter la banque de sperme congelé.

Tous les individus échographiés sont rapidement sortis de l'eau afin de pouvoir effectuer une pesée, et ainsi avoir un suivi de l'état des individus dans le stock captif.

2.4. Préparation des laboratoires, table d'incubation et éclosion

Avant la période de reproduction, et pour la période de reproduction, un laboratoire est mis à disposition de MIGADO par INRAE. MIGADO qui a investi ces dernières années sur du matériel de laboratoire, installe tout son matériel afin d'éviter les problèmes sanitaires, ce matériel n'étant utilisé que pour l'esturgeon européen. Les autres outils propriétés de INRAE sont utilisés sur d'autres espèces d'esturgeons et sont enlevés du laboratoire avant transfert du matériel.



Figure 8 : Installation du matériel dans le laboratoire dédié à la reproduction

Avant la reproduction, toute l'éclosion est désinfectée. Le circuit de l'éclosion des canalisations de forage est entièrement désinfecté par INRAE (qui en a la responsabilité). MIGADO s'occupe de vider entièrement l'éclosion et de tout nettoyer et désinfecter. Les tables d'incubation sont également désinfectées avant leur utilisation. Tout le matériel est installé, au niveau de la zone dédiée à la fécondation, les tables d'incubation et la zone d'éclosion.



Figure 9 : Installation du matériel dans le laboratoire dédié à la reproduction

2.5. Protocole de stimulation des mâles et prélèvement du sperme

2.5.1. Prélèvement du sperme

Le protocole de stimulation des mâles est basé sur les fiches qualité et les protocoles transmis par INRAE lors du transfert de compétence de la phase de reproduction.

Les mâles sont transférés dans le bâtiment Sturio 1, dans la zone dédiée à la reproduction dans un bassin (BR3 et BR4 puis BR1 et BR2). La salinité est baissée à 0‰ au fur et à mesure, en une quinzaine de jours, afin de simuler l'entrée des géniteurs dans l'Estuaire de la Gironde et en rivière vers les zones de reproduction.

Le protocole de réglage de la température mis en place pour les mâles est le suivant :

- J0 : les individus sont conservés aux environs de 15°C.
- J1 : la température est augmentée progressivement de 8h à 24h jusqu'à 16°C.
- J2 : la température est augmentée de 6h à 22h de 16° à 18,4°C.

Les injections pour la stimulation hormonale LHRH ont lieu à J2, à 8 h, avant le début de l'augmentation de la température. Sur le protocole utilisé sur les géniteurs sauvages, l'injection avait lieu à 6 h du matin, et le prélèvement de sperme environ 30 h à 32 h plus tard, donc vers midi le lendemain. En 2017 et 2018, nous avons observé que les nouveaux géniteurs, semblaient produire du sperme plus rapidement que 30 h après l'injection. Les injections ont donc eu lieu à 8 h du matin J2, suivies de l'augmentation de température. 24 à 26 h après le sperme a pu être prélevé. Cette différence est certainement due à l'âge des mâles, ceux-ci étant plus jeunes.

En 2024, tous les poissons ont été injectés avec la même hormone LHRH analogue achetée chez Bachem.

A J2, avant l'augmentation de la température de 2,4°C, les mâles sont capturés dans les bassins. Les poissons sont pesés, afin d'adapter la dose d'injection d'hormone à administrer. Une échographie et une prise de sang sont réalisées, et l'injection d'hormone a lieu en

intramusculaire, avec une dose de 30 µg/kg de poisson. Ils retournent ensuite dans leur bassin d'origine.

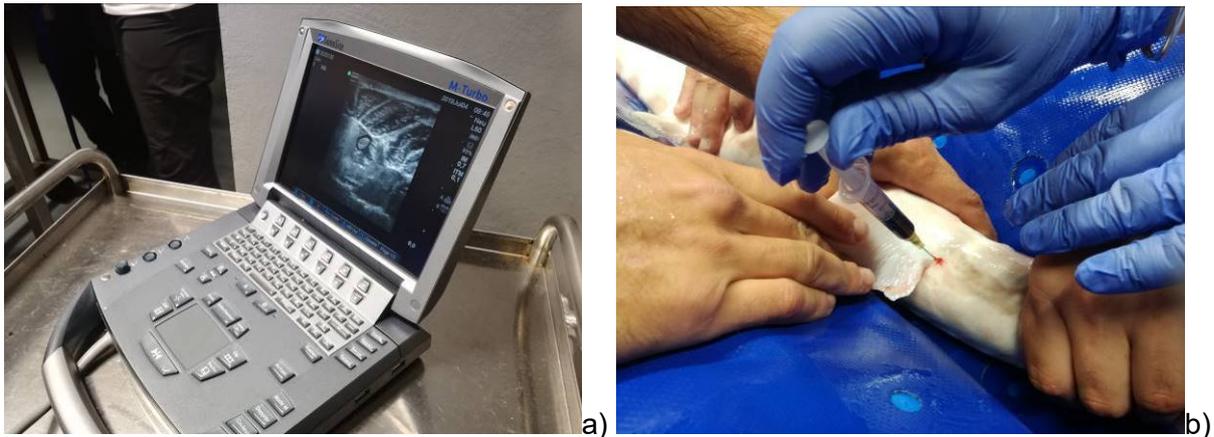


Figure 10 : Echographie de contrôle (a) et prise de sang (b) avant injection d'hormone (J2 – 8h du matin).

Les mâles sont capturés dans les bassins 24 h à 30 h après l'injection. Ils sont déposés sur la table de travail sur le dos, et une échographie de contrôle est réalisée afin d'évaluer l'état d'avancement de la maturation des gonades depuis la veille 8 h au moment de l'injection. Une prise de sang est de nouveau réalisée afin de suivre l'évolution des hématocrites.

Un cathéter de 25 cm de long environ, et diamètre 5 mm extérieur et 3 mm intérieur stérile et rincé à l'eau déminéralisé est introduit dans l'orifice génital de l'individu, en assurant le maintien de l'animal afin qu'il ne se blesse pas. Le sperme est alors prélevé dans un béccher propre et sec. Il faut faire attention à ne pas mettre de l'eau en contact avec le sperme puisque les spermatozoïdes s'activent au contact de l'eau.



Figure 11 : Prélèvement du sperme d'un mâle de *A. sturio*

Le sperme récolté est conservé dans des bécchers fermés, au réfrigérateur, et une analyse de la qualité est réalisée.

Cette année, un test a été réalisé afin de prélever le sperme grâce à une seringue de 50 ml, ce qui permet de le stocker de manière plus sécurisée à l'abri de gouttelettes d'eau qui pourraient activer les spermatozoïdes.



Figure 12 : Semence prélevée sur les mâles de *A. sturio*

2.5.1.1. Les sessions de reproduction de 2024

Trois sessions de stimulation ont eu lieu en 2024. Les sessions de stimulation des mâles sont conditionnées par les résultats des biopsies des femelles et de l'état des œufs et leur degré de maturation. Les sessions ont eu lieu le 22 mai, le 5 juin, le 11 juin 2024.

Les mâles ont été sélectionnés pour chaque session en fonction des femelles disponibles et prêtes à être injectées. Une analyse des croisements génétiques potentiels est réalisée afin de déterminer quels mâles seront utilisés.

En fonction des sessions et de la période, la qualité de la semence est plus ou moins bonne.

Tableau 6 : Synthèse des injections et prélèvement de la semence

| pit-tag | Bassin | Sexe | cohorte | génétique | poids 24/04/24 | Date prélèvement | |
|---------------------|--------|------|---------|----------------------|----------------|---|--|
| 3260462 | BR3 | Mâle | 2008 | Jeannette / Philippe | 16,30 | 22/05/2024 06/06/2024 13/06/2024 - 8h30 13/06/2024 - 10h30 | très mauvaise à mauvaire très mauvaise à mauvaire Moyenne Bonne |
| 3261241 | BR3 | Mâle | 2008 | Jeannette / Philippe | 18,40 | 22/05/2024 06/06/2024 | Bonne Bonne |
| 3423185 | BR3 | Mâle | 2011 | Edith / Emeline | 19,15 | 22/05/2024 06/06/2024 | Moyenne Bonne |
| 3256560 | BR4 | Mâle | 2008 | Jeannette / Jude | 18,95 | 06/06/2024 | Moyenne |
| 3261542 | BR4 | Mâle | 2008 | Georgina / Emeline | 16,40 | 06/06/2024 | très mauvaise à mauvaire |
| 3624417 | BR4 | Mâle | 2013 | DN / 328 | 11,50 | 22/05/2024 | Bonne |
| 3420159 | BR4 | Mâle | 2011 | Edith / Justin | 20,95 | 22/05/2024 13/06/2024 | très mauvaise à mauvaire très mauvaise à mauvaire |
| 3254506 | BR4 | Mâle | 2008 | Georgina / Bleu | 16,70 | 22/05/2024 13/06/2024 | très mauvaise à mauvaire Bonne |
| 3219660 | BR4 | Mâle | 2007 | Francine / Justin | 16,15 | | |
| 3220149 | BR4 | Mâle | 2007 | Francine / Emile | 14,90 | 13/06/2024 | très mauvaise à mauvaire |
| 3255809 | BR4 | Mâle | 2008 | Georgina / Bleu | 14,05 | 13/06/2024 | très mauvaise à mauvaire |
| 11283FC6 (Martinie) | BR3 | Mâle | 1995 | | 21,45 | | |
| 3219650 | BR3 | Mâle | 2007 | Francine / justin | 15,45 | | |
| 3256562 | BR3 | Mâle | 2008 | Jeannette / Jude | 18,15 | | |

2.5.2. Analyse de la qualité du sperme

La semence récoltée est alors analysée. Plusieurs facteurs entrent en compte dans l'analyse : la motilité, la survie et l'aspect de la semence récoltée.

Les spermatozoïdes sont observés au microscope avec grossissement x400 à sec, puis ils sont activés avec de l'eau de forage, qui sera remplacée par de l'eau minérale à partir de 2019 afin de ne pas perturber le suivi avec l'eau de forage qui est de composition assez particulière (très riche en fer). La semence (1 µl) est déposée sur une lamelle, et l'activateur (eau) est déposé sur la lamelle en fonction de l'opacité de la semence (20 µl pour une semence claire, et 50 µl pour une semence opaque à moyennement opaque).

Toutes les 30 sec et pendant 4 min, la semence est observée et on note par une valeur de 0 à 5 les caractéristiques de la semence (déplacements vigoureux à immobiles) ainsi que la survie en pourcentage de spermatozoïdes vivants. On observe environ 100 spermatozoïdes en même temps.

En fonction de ces critères, la semence est classée en termes de qualité : de très

mauvaise à très bonne.

Tableau 7 : Critères de classement des semences en 4 catégories.

| Motilité initiale | Taux de survie initial (%) | Motilité 60s | Taux de survie 60s (%) | Temps de survie 5% (s) | Qualité de la semence |
|-------------------|----------------------------|--------------|------------------------|------------------------|--------------------------|
| 5 | 95-100 | 5 | 80 | > 210 | Très bonne |
| 5 | 90-100 | 3-4 | < 80 | ≥ 180 | Bonne |
| 4-5 | 90-100 | 3-4 | 50-60 | 150-180 | Moyenne |
| ≤ 5 | ≤ 95-100 | ≤ 3 | ≤ 60 | ≤ 150 | Mauvaise à très mauvaise |

Les semences prélevées sur les quatre mâles ont été analysées sur ces bases. Toutes ont été qualifiées de mauvaises, sachant qu'elles étaient très claires avec très peu de spermatozoïdes, voire aucun.



Figure 13 : Observation de la qualité des spermatozoïdes au microscope

La phase suivante est la congélation de semence, pour alimenter la banque de sperme congelé. Cette phase est restée sous la responsabilité de INRAE.

Cette année est la quatrième année de responsabilité de la phase de reproduction pour MIGADO. Toutes les manipulations sur les mâles et l'analyse du sperme sont maintenant maîtrisées. Un travail reste tout de même à réaliser pour essayer de comprendre pourquoi la semence du même mâle peut être de bonne ou de mauvaise qualité suivant la période à laquelle il est prélevé.

2.6. Protocole de stimulation des femelles et prélèvement des œufs

8 femelles ont été sélectionnées pour réaliser une reproduction assistée suite aux échographies réalisées en avril 2024. A l'échographie, des œufs de taille importante avaient été visualisés, avec une taille estimée à l'échographie de 3 mm.

2.6.1. Les biopsies des femelles

Les différentes étapes sont détaillées dans le protocole rédigé et mis à disposition par INRAE. Les biopsies sont réalisées le soir vers 21h, afin de pouvoir mettre les œufs en culture et assurer le suivi de la culture in vitro 12h après sur toute la journée. Le prélèvement est réalisé entre le troisième et le quatrième écusson latéral au niveau de la paroi ventrale d'un côté ou de l'autre de la ligne médio-ventrale. Le trou est réalisé avec un trocart et les œufs sont prélevés avec une canule préalablement stérilisée. Les œufs sont ensuite placés dans du liquide Ringer Modified for Sturgeon (RMS) le temps des analyses.

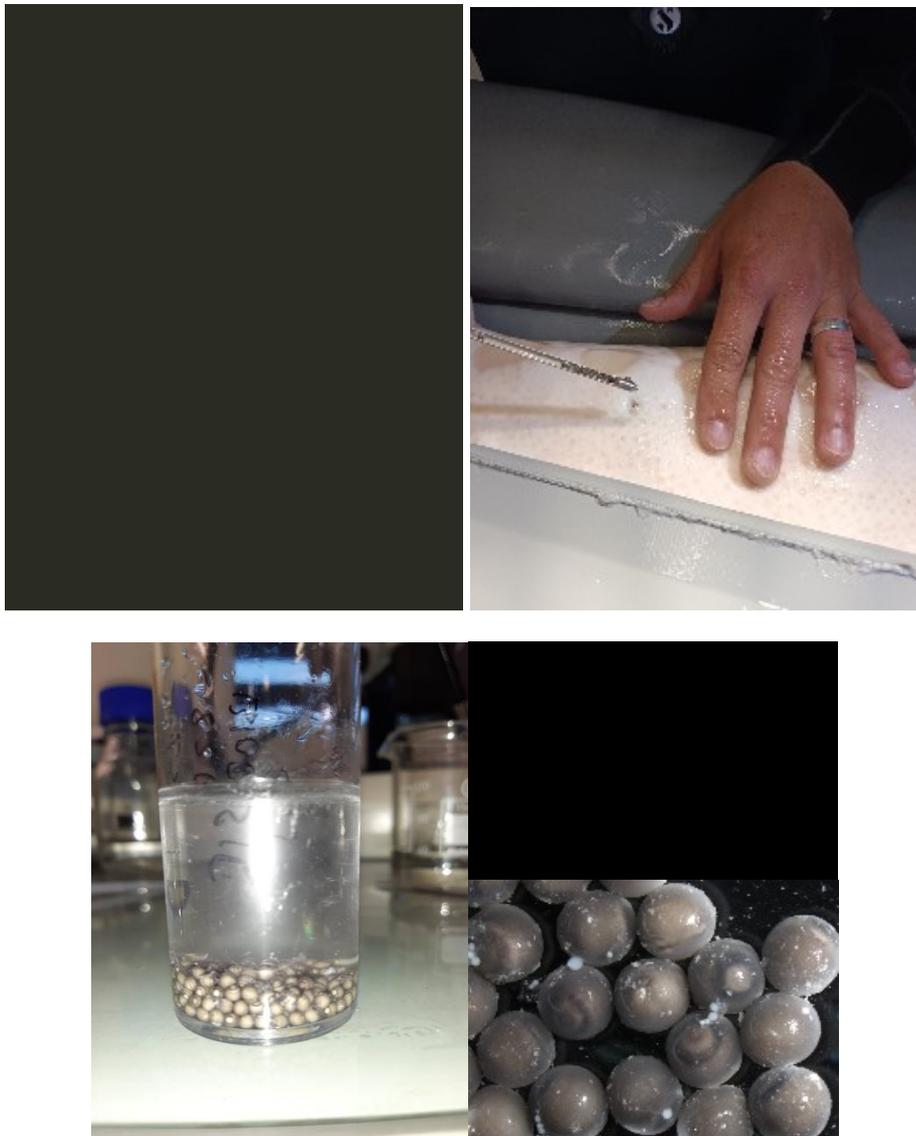


Figure 14 : Biopsie et prélèvement de œufs

En même temps que les biopsies, des prises de sang ont été réalisées pour mesurer le taux d'hématocrites, mais également faire des dosages de calcium. Les œufs seront mis en culture *in vitro*, et une mesure de l'OPI et de la T50 sera réalisée. Les dosages d'œstradiol ont été abandonnés, à cause de la difficulté d'interprétation des données. Il n'existe pas de référence sur différentes espèces de poissons pour pouvoir utiliser ces données pour évaluer le taux de maturation.

Commence la phase de suivi de la maturation des femelles grâce à différents indicateurs : le diamètre des ovocytes, l'indice de polarité (OPI) et le taux de maturation des ovocytes *in vitro* en présence d'hormone.

Des biopsies ont été réalisées le 15 mai, 29 mai, le 9 juin, le 13 juin et le 24 juin sur différentes femelles réparties en lots. A chaque capture des poissons, une échographie, et une prise de sang pour l'analyse des hématocrites a été réalisée.

2.6.2. La mise en incubation des ovocytes pour le suivi de la maturation

2.6.2.1. Le suivi de la maturation

Le milieu de culture (Ringer RMS) est préparé tel que décrit dans le protocole fourni. Il est composé de NaCl, KCl, CaCl₂ 2H₂O, NaHCO₃. Il sera également utilisé à conserver les œufs le temps de la mise en culture.

Les œufs vont être mis en incubation pendant plusieurs heures afin de suivre l'avancée de la maturation des femelles et leur capacité à ovuler après stimulation thermique et hormonale. Cette stimulation se fait *in vitro* dans des boîtes de pétri.

Les œufs sont disposés dans 4 boîtes de pétri remplies de RMS + progestérone pour chaque femelle. 33 œufs sont placés dans chaque boîte de pétri. Le suivi de la GVBD (taux de maturation des ovocytes *in vitro* en présence d'hormones) va démarrer 12h après la mise en incubation. L'incubateur est réglé à 18°C.

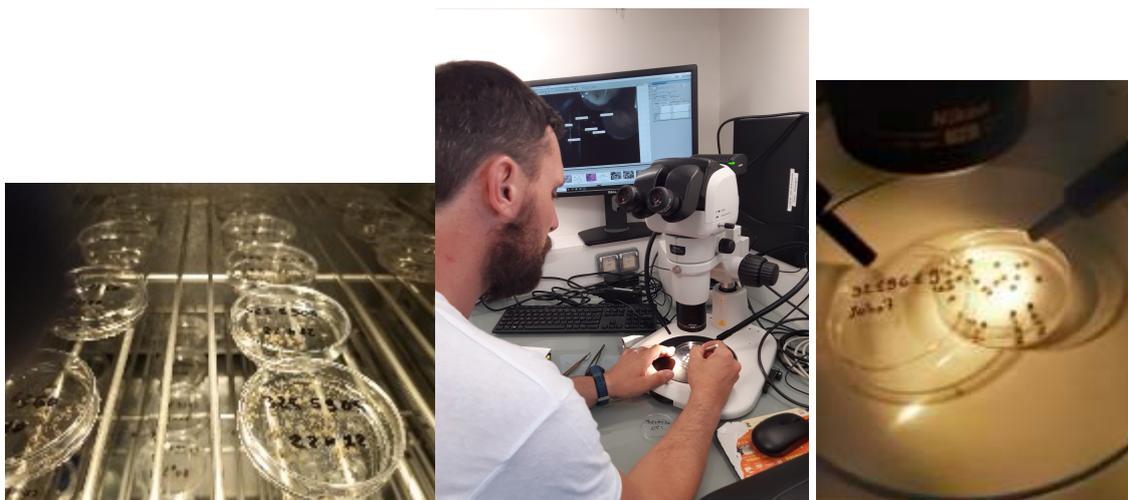


Figure 15 : Mise en culture *in vitro* des ovocytes dans milieu de culture + hormone

Le suivi de la GVBD consiste à compter les ovocytes éclatés (Vésicules germinatives Breakdown), reflet de la maturation complète des ovocytes. Toutes les heures, 10 ovocytes sont prélevés dans une boîte de pétri et le comptage des ovocytes éclatés commence. Le suivi s'arrête à 100% de GVBD et au plus tard à 24h.

Après cuisson des ovocytes au micro-onde, ils sont coupés en deux dans le sens longitudinal selon un axe passant par les pôles au scalpel sous binoculaire. On compte alors le nombre d'ovocytes sans vésicule germinative sur les 10 observés, ce sont les ovocytes considérés comme éclatés. On note le % obtenu pour chaque observation horaire. Lorsque le taux de 50% de GVBD est atteint, le délai depuis la mise en culture est noté. Il correspond au T50 de GVBD. Le temps pour atteindre le 100% est atteint est également noté, il correspond au Tmax.

Si au bout de 24h de culture, le 100% n'est pas atteint on note le % de GVBD au bout de 24h.

2.6.2.2. Mesure du diamètre et de l'OPI

Le diamètre des œufs est calculé automatiquement par le programme ImageJ. Les œufs sont disposés dans une boîte de pétri (environ 25 à 30 œufs), dans laquelle est placée au centre, un étalon de 5mm de diamètre. La boîte est scannée et l'image retouchée sur paint pour enlever toutes les impuretés sur la photo.

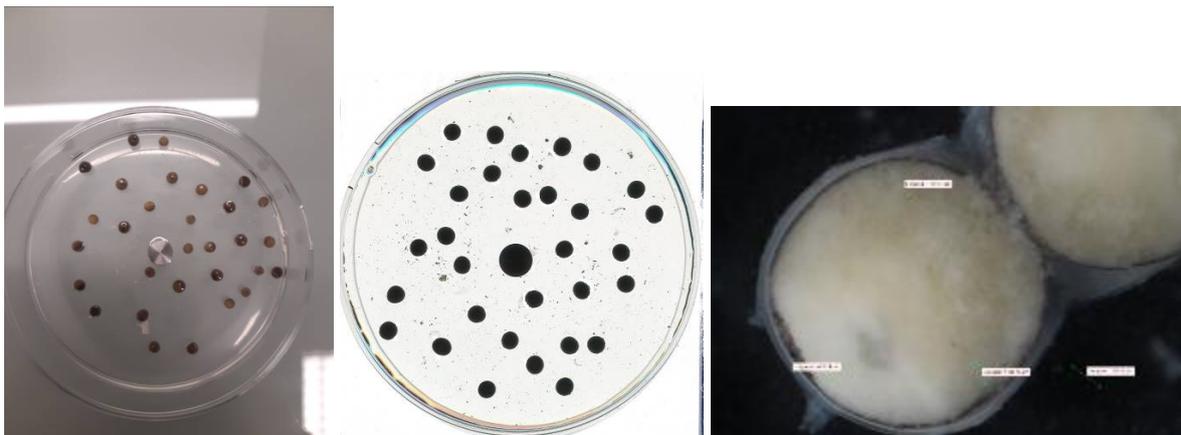


Figure 16 : Mise en place des œufs dans la boîte de pétri pour scan et image scannée retouchée

Le logiciel ImageJ évalue le diamètre des œufs sur les 30 ovocytes déposés. Cela permet d'obtenir un diamètre moyen et un écart type, afin de savoir si la taille des œufs est plus ou moins homogène.

La mesure de l'OPI se fait à partir des 30 œufs préalablement utilisés pour évaluer le diamètre. Ces œufs sont coupés dans le sens longitudinal. On mesure alors avec une binoculaire (x25) la distance entre le bord de l'ovocyte et la vésicule germinative (B) avec l'échelle graduée de la binoculaire.



Figure 17 : Oeufs coupés en deux pour la mesure de l'OPI

Les données sont enregistrées sous excel, et l'OPI est calculée selon la formule :

$B \times 100 / Dm$, avec B qui est la distance entre le bord de l'ovocyte et la vésicule germinative (ou noyau) et Dm le diamètre moyen. La moyenne des OPI des 30 œufs est calculée, ainsi que l'écart-type.

2.6.2.3. Dosage du Calcium

Une prise de sang est réalisée lors de la biopsie, pour suivre l'évolution du taux d'hématocrites, et effectuer un dosage de calcium.

Le taux de calcium servira d'indicateurs et son évolution permet de savoir à quel stade de maturation en est la femelle. Ces taux varient au cours de la maturation finale des femelles. Leur suivi permet d'aider à la détermination de la période propice au déclenchement de la reproduction.

1,5ml de sang est prélevé, et est centrifugé dans des eppendorff. Le plasma est prélevé et servira aux analyses.

L'analyse du taux de calcium se fait grâce au spectrophotomètre Diasys stardust MC15 selon le protocole fourni. Le taux de calcium total dans le sang est directement lié à la présence de vitellogénine dans le sang. La VTG en circulation dans le sang se lie avec le calcium libre. Il existe une relation linéaire entre le CA total et la VTG. Les concentrations augmentent durant la vitellogénèse et chutent rapidement en fin de maturation finale. La baisse du taux de calcium sera le reflet de la fin de la maturation.

Quelques analyses du taux de calcium ont été réalisées mais pas sur toute la durée des suivis, car nous ne savions pas utiliser la machine au début de la séquence de reproduction.

2.6.2.4. Interprétation des résultats

Pour motiver la stimulation des femelles, on recherche les femelles dont les ovocytes présentent un OPI bas ($0,05 < \text{OPI} < 0,10$). Les indicateurs manquent de fiabilité, mais permettent de suivre l'avancement de la maturation entre femelles.

Le tableau 8 est un tableau d'aide à la décision a été créé mettant en parallèle les différents indicateurs.

Tableau 8 : Tableau d'aide à la décision suite à la maturation des ovocytes recueillis lors de la biopsie.

| | Etat des ovocytes | | | Délai à prévoir | |
|----------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------|-------------------|
| | Dynamique de maturation | | | Entre 2 biopsies | Avant stimulation |
| Classification | OPI | T50 | T100 | | |
| Avancée | 8-10 | 12-15 h | Max 17 h | Aucun | 3 à 6 j |
| | 10-15 | Max 15 h | Max 17 h | Aucun | 10 j |
| Intermédiaire | 10-18 | 16 – 20 h | 18 – 22h30 | 2 semaines | 14 – 19 j |
| | 15-16 | 21 – 22 h | ≥ 22h30 | 2 à 3 semaines | 22 – 28 j |
| Tardive | 17-20 | Pas de réponse ou > 24 h | Pas de réponse ou > 24 h | ≥ 1 mois | |

En ce qui concerne les 8 femelles sur lesquelles des biopsies ont été réalisées, les résultats des différentes analyses sont repris ci-dessous.

Tableau 9 : Synthèse des indicateurs obtenus suite aux biopsies.

| DATE BIOPSIE | Pit Tag | cohorte | Poids avril22 | croisement genet | mesure Image1 | | | | Taux Calcium (mg/l) | | | Maturation in vitro | | | Délai à prévoir | |
|--------------|--------------|---------|---------------|-------------------|----------------|---------------------|------------------------|-------------------------|---------------------|------------|------------|---------------------|----------|----------|---------------------------------|-------------|
| | | | | | Diamètre moyen | Ecart type diamètre | OPI (ancien protocole) | OPI (nouveau protocole) | 34/04/24 | 15/05/2024 | 29/05/2024 | T50 | Taux max | | entre 2 biopsies | stimulation |
| | | | | | | | | | | | | | % | Durée | | |
| 15/05/2024 | 3207545 | 2007 | 26,9 | Francine / Emile | 2,95 | 0,07 | 10,33 | 12,94 | | 81,7 | 15h30 | 100 | 18h | aucun | PONTE 22/05/24 | |
| 15/05/2024 | 3219751 | 2007 | 15,45 | Francine/ Justin | 2,72 | 0,10 | 13,20 | 15,60 | | 91,2 | 11h | 100 | 15h | aucun | | |
| 15/05/2024 | 3219842 | 2007 | 14,7 | Francine / Justin | 2,69 | 0,06 | 10,91 | 12,89 | 68,4 | 76,4 | | | 30 | 19h | | |
| 29/05/2024 | 3219842 | 2007 | 14,7 | Francine / Justin | 2,73 | 0,04 | 9,11 | 11,42 | | | | 16,5h | 100 | 17h | PONTE 05/06/24 | |
| 15/05/2024 | 3421137 | 2011 | 28,9 | Lucette / Emeline | 2,68 | 0,09 | 13,23 | 16,05 | | 84,6 | | 19h | 50 | 19h | > 1 mois | |
| 29/05/2024 | 3421137 | 2011 | 28,9 | Lucette / Emeline | 2,77 | 0,08 | 10,90 | 13,70 | | | | 17h | 100 | 20h | 2 semaines | 14 - 19 j |
| 09/06/2024 | 3421137 | 2011 | 28,9 | Lucette / Emeline | 2,81 | 0,10 | 10,50 | 13,70 | | | | 14h30 | 100 | 17h | repro le 13/0624 - pas de ponte | |
| 15/05/2024 | 3390172 | 2012 | 18,8 | Severine / 137 | 2,59 | 0,08 | 15,08 | 17,16 | 76,9 | 79,6 | | | 10 | 19h | > 1 mois | |
| 09/06/2024 | 3390172 | 2012 | 18,8 | Severine / 137 | 2,56 | 0,08 | 11,90 | 13,80 | | | | 15h | 100 | 19h | repro le 13/0624 - pas de ponte | |
| 15/05/2024 | 3219766 | 2007 | 23,1 | Francine/ Justin | 2,96 | 0,08 | 12,30 | 14,85 | | 88,3 | | | 30 | 19h | > 1 mois | |
| 29/05/2024 | 3219766 | 2007 | 23,1 | Francine/ Justin | 2,93 | 0,07 | 12,00 | 15,00 | | | | 18h | 100 | 21h | 2 semaines | 14 - 19 j |
| 09/06/2024 | 3219766 | 2007 | 23,1 | Francine/ Justin | 3,00 | 0,12 | 15,40 | 16,60 | | | | | 10% | 20h | ? | |
| 15/05/2024 | 3254465 | 2008 | 21 | Odile . Bleu | 2,69 | 0,10 | 11,93 | 14,51 | | 77,3 | | 0 | 19h | > 1 mois | | |
| 09/06/2024 | 3254465 | 2008 | 21 | Odile . Bleu | 2,71 | 0,08 | 10,74 | 13,49 | | | | | 10% | 20h | | |
| 15/05/2024 | 2F5D (Edith) | 1995 | 24,8 | ind. Sauvage | 2,78 | 0,08 | 17,23 | 20,39 | 77,1 | 77,1 | | | 10 | 19h | > 1 mois | |
| 09/06/2024 | 2F5D (Edith) | 1995 | 24,8 | ind. Sauvage | 2,74 | 0,06 | 13,70 | 16,25 | | | | | 10% | 20h | | |

Il est décidé d'injecter les femelles :

- 3207545 et 3219751 le 22 mai 2024
- 3219842 le 5 juin 2024
- 3421137 et 3390172 le 11 juin 2024

2.6.2.5. Stimulation thermique et hormonale des femelles

L'augmentation de la température a commencé le 16 juin, et les injections ont eu lieu le 27 juin à 2h pour la dose priming (30 microg/kg) et à 14h pour la seconde dose (90 microg/kg). L'hormone utilisée est la LHRH analogue achetée chez Bachem. L'hormone reçue en poudre, est diluée avec de l'eau distillée stérile et ensuite filtrée avec des filtres stériles.

La stimulation thermique se fait tel que ci-dessous :

- Si à J0 la température est à 15°C.
- à J1 la température est augmentée jusqu'à 16°C entre 8h et 24h
- à J2, la température est augmentée de 16°C à 18,4°C entre 6h et 22h
- à J3, la température est augmentée de 18,4°C à 19°C entre 6h et 12h.

Les injections hormonales ont lieu à J2 et les pontes sont attendues à J3.

2.6.2.6. Récolte des œufs

La récolte des œufs a lieu de manière générale entre 29h et 40h après la première injection de manière générale. La récolte des ovocytes se fait dès que l'on observe un début d'ovulation. Le début d'ovulation correspond à l'expulsion des premiers ovocytes dans le bassin. Dès qu'on atteint 29h après l'injection, on surveille les femelles dans le bassin (toutes les heures a minima) afin de déterminer le moment exact de la ponte. Une fois l'ovulation observée, la femelle est capturée dans le bassin, anesthésiée, strippée (massage de l'abdomen) puis une césarienne est réalisée.

Si aucun signe d'ovulation n'est observé, les femelles sont capturées et strippées au bout de 33h après la première injection.

Les œufs ont été récoltés par stripping puis césarienne environ 30 heures après le priming.



Figure 18 : Œufs récupérés par stripping et césarienne

2.7. Fécondation des œufs et incubation

2.7.1. Le plan de fécondation et la fécondation

Irstea avait réalisé une étude permettant de caractériser génétiquement chaque individu présent dans le stock, à la fois les individus sauvages permettant de savoir quels individus étaient proches génétiquement, et les individus nés sur site. Grâce à différents coefficients dont le coefficient de parentalité il est possible de connaître et d'optimiser les croisements génétiques pouvant être réalisés.

Lorsque suite aux échographies, les femelles ont été identifiées, une analyse du Studbook a été réalisée afin de savoir quels sont les mâles qui génétiquement sont les plus favorables à une reproduction assistée. Il avait été décidé en 2020, qu'à chaque reproduction assistée, et afin d'améliorer la diversité génétique du stock, que des semences congelées seraient utilisées sur des petits lots, à partir de semence de vieux poissons sauvages.

Les possibilités de croisement génétiques sont envisagées avec la semence fraîche potentiellement récoltée en 2024 ou celle congelées à partir de mâles F1. Le coefficient de parenté doit être compris entre 0,05 et 0,2 pour être acceptable génétiquement.

Le même exercice est réalisé avec les semences congelées des vieux poissons sauvages, puisqu'il avait été décidé de réaliser lors de toute reproduction des croisements sur des petits lots avec des individus sauvages, dans un objectif d'amélioration de la diversité génétique.

Des croisements ont pu être réalisés avec de la semence fraîche et avec de la semence congelée d'individus sauvages.

2.7.2. Le traitement à l'argile

Le traitement à l'argile est un traitement anticoagulant réalisé par brassage dans une suspension d'argile. Le brassage est obtenu automatiquement en mettant de l'air comprimé à la partie inférieure du cône contenant la suspension argileuse et les œufs. Ce traitement dure environ 50 minutes.

L'argile est préparée avant la phase de reproduction, en mélangeant 280g d'argile en poudre à 1 litre d'eau de forage. Le mélange est réalisé à l'aide d'une perceuse et de l'embout mélangeur. Une fois la préparation prête, on mesure le pH à l'aide du pH-mètre. On utilise alors de la soude pour le rendre plus neutre, c'est-à-dire autour de 7 +/- 1. Le pH, pouvant évoluer continuellement, est contrôlé et mesuré toutes les heures.



Figure 19 : Préparation des cônes pour passage à l'argile (a) et passage à l'argile (b)

Peu de temps après la fécondation, les œufs produisent à leur surface une gangue adhésive qui les rend collants sur tous les supports et entre eux, ce qui permet leur fixation dans le milieu naturel. Cette étape est très délicate et à réaliser avec grande précaution. Il faut régler l'air de manière à observer un bullage léger en surface du cône et une descente légère et régulière des œufs le long des parois du cône. Les œufs sont surveillés pendant toute la durée du passage à l'argile.

Les œufs sont ensuite récupérés en vidant le cône dans une passoire. Lorsque la passoire est remplie, les œufs sont transférés dans les systèmes d'incubation.

Dans l'objectif de travailler avec des petits lots, en 2024, les petits lots sont élevés dans les zebtech, et ne sont pas passés à l'argile, comme les années précédentes.



Figure 20 : Petits lots élevés en zebtech.

2.7.3. L'incubation

L'incubation est une étape importante lors des reproductions assistées d'esturgeons européens. Les jarres d'incubation mises à disposition par INRAE et le protocole correspondant sont adaptés à de grands volumes d'œufs. Dans les jarres on met à minima 200g d'œufs. Vu les volumes recueillis nous n'avons pas pu utiliser les jarres macDonald installées.

Des petites jarres qui avaient été créées pour d'autres expérimentations avec des petits volumes d'œufs avaient été testées en 2020, mais n'avaient pas donné de bons résultats, le brassage et l'oxygénation des œufs n'étant pas suffisant. Les petits lots sont élevés dans des zebtech.



Figure 21 : Jarres d'incubation MacDonald prévues (a)

Les œufs doivent être constamment surveillés afin de s'assurer d'une bonne homogénéité du brassage et afin qu'il ne soit pas trop fort pour ne pas engommer les œufs. Les œufs morts sont pipetés au fur et à mesure. Le débit dans les jarres est constamment ajusté. Un

traitement à la vétédine est réalisé si on observe beaucoup d'œufs morts et si on craint un développement de saprolégniose.

Au total sur les 3 femelles lors des différentes injections, environ 1.5 kg d'œufs ont été récupérés lors de la ponte sur 3 femelle. Des lots de 450g à 200 g d'œufs ont été mis en incubation dans les bouteilles MacDo.

Les œufs étaient petits et mesuraient en moyenne entre 2.7 à 2.95mm selon la femelle et il y avait environ 93 œufs au gramme.

Plusieurs lots ont été constitués et le taux de fécondation /évalué

Tableau 20 : Croisements génétiques réalisés et taux de fécondation /éclosion.

| Date reproduction | femelle | cohorte | Quantité d'œufs (g) | Quantité d'ovocytes | semence fraîche / congelée | cohorte | semence fraîche ou congelée | Nb larves éclos | Taux de fécondation / éclosion |
|-------------------|---------|---------|---------------------|---------------------|----------------------------|---------|-----------------------------|-----------------|--------------------------------|
| 21-mai-24 | 3207545 | 2007 | 447 | 43359 | 3261241 | 2008 | fraiche | 181 | 0,42% |
| 21-mai-24 | 3207545 | 2007 | 450 | 43650 | 3624417 | 2013 | fraiche | 5066 | 11,61% |
| 21-mai-24 | 3207545 | 2007 | 6 | 582 | 328 | 1995 | congelee | 39 | 6,70% |
| 21-mai-24 | 3207545 | 2007 | 6 | 582 | Mariette | 1988 | congelee | 15 | 2,58% |
| | | | | | | | | | |
| 21-mai-24 | 3219751 | 2007 | 300 | 24892 | 3261241 | 2008 | fraiche | 466 | 1,87% |
| 21-mai-24 | 3219751 | 2007 | 250 | 29400 | 3423185 | 2011 | fraiche | 0 | 0,00% |
| 21-mai-24 | 3219751 | 2007 | 6 | 588 | 328 | 1995 | congelee | 7 | 1,19% |
| 21-mai-24 | 3219751 | 2007 | 6 | 588 | Herve | 1995 | congelee | 9 | 1,53% |
| | | | | | | | | | |
| 6-juin-24 | 3219842 | 2007 | 206 | 18540 | 3423185 | 2011 | fraiche | 10136 | 54,67% |

Les autres femelles n'ont pas pondu cette année, les œufs ne se sont pas décrochés des gonades, certainement trop jeunes, et pas prêts.

2.7.4. L'éclosion

Pour l'éclosion, les jarres sont déposées directement au-dessus des auges. Généralement les larves naissent dans la nuit du lundi au mardi selon le calendrier des injections réalisées. Les coquilles peuvent boucher les grilles, il faut donc surveiller l'éclosion pour enlever au fur et à mesure les coquilles.

Les systèmes et l'ensemble des auges ont été contrôlés et réparés cette année afin d'être prêts à utiliser si besoin.



Figure 21 : Jarres d'incubation mises en place dans les auges d'éclosion

2.8. Suivi de l'évolution des hématocrites

Le suivi et l'évaluation de la maturité des gonades mâles paraissent également complexes si on utilise seulement les échographies. C'est pour cela que des prises de sang sont réalisées et une analyse des hématocrites mise en place. D'après la bibliographie, sur les autres espèces de poissons, le taux d'hématocrites varie au fur et à mesure de la maturation. La quantité de plasma augmente dans les cellules sanguines avec la maturation. Les analyses d'hématocrites réalisées donnent un pourcentage dans le sang de plasma, de globules blancs et de globules rouges. Il semble que le pourcentage de globules blancs ne varie pas et soit toujours proche de 1,5 à 2 %.



Figure 22 : Centrifugeuse, capillaires et abaque utilisés pour la lecture des hématocrites

Cependant, le pourcentage de globules rouges vs plasma varie sur un même individu au cours des différentes prises de sang.

Ces suivis réalisés seulement sur quelques poissons doivent être poursuivis les prochaines années afin d'essayer d'identifier un indicateur de la maturation des mâles plus précis que les seules échographies. Pour le moment, la relation entre la maturation des individus et les taux d'hématocrites n'est pas évident.

2.9. Débriefing de la reproduction

Un travail et une analyse des événements a été réalisé après la saison de reproduction. Un bilan a été réalisé sur les protocoles mis en place. Il semblerait que grâce au protocole développé :

- les individus présentent des signes de maturation intéressants, en fonction de leur âge, avec des tailles d'œufs et de gonades convenables.
- Utilisation semence congelée : mise en œuvre faisable, multiplier les lots, avec une utilisation plus importante du zebtech. Travailler sur la quantité de paillettes à utiliser en fonction de la qualité de la semence. Décongeler la semence avant utilisation pour connaître le taux de fécondation
- Finaliser l'optimisation des étapes de la reproduction assistée des lots importants (antifongique, réglage incubation, observation des œufs 4h après l'incubation...)
- Zebtech
 - o Outil facile d'utilisation et pratique
 - o voir désinfection et préparation matériel
 - o Une fois les larves écloses, les transférer dans les mini-auges pour réduire les mortalités à l'éclosion
- Semence fraîche / semence congelée
 - Comparer les taux de croissance et les mortalités entre les lots fécondés avec le même mâle avec semence fraîche et congelée.
- Eau de forage
 - Forte concentration en fer : mettre en place un système de filtration de l'eau de forage avant l'arrivée dans les auges d'incubation, d'éclosion et d'élevage.

3. LA PRODUCTION DE JUVENILES DE REPEUPLEMENT

En 2024, les larves recueillies ont permis d'élever des juvéniles dans un objectif de repeuplement.

Les petits lots ont été élevés dans des aquariums et les lots plus importants dans des auges.



Figure 23 : Larves de 20 jours d'esturgeons européens

3.1. Alimentation des larves dans les premiers stades

Les premiers stades ont été alimentés avec des artemias produits sur site. Cette année, les artemias n'ont pas été enrichis avant distribution pour des raisons d'organisation. Ils ont été distribués grâce à des doseuses péristaltiques.



Figure 24 : Productions d'artemias

3.2. Elevage des juvéniles

L'élevage s'est fait en parti sur le site de St Seurin et en partie via la prestation d'un pisciculteur privé chargé d'élever les individus du stade larve 7 jours jusqu'à 3 mois. Ce volet fait l'objet d'un dossier complémentaire à celui-ci.

Au total , plus de 12500 juvéniles ont été produits, dans un objectif de lâchers en milieu naturel, mais également de transfert chez les partenaires européens espagnols, hollandais et allemands. Une partie des individus a également été utilisé par INRAE dans le cadre de suivis expérimentaux.

Tableau 21 : Nombre de larves issus des différents croisement génétiques.

| femelle | cohorte | semence fraîche / congelée | cohorte | semence fraîche ou congelée | Nb de larves | Elevage |
|---------|---------|----------------------------|---------|-----------------------------|--------------|---------|
| 3207545 | 2007 | 3261241 | 2008 | fraiche | 181 | MIGADO |
| 3207545 | 2007 | 328 | 1995 | congelee | 39 | MIGADO |
| 3207545 | 2007 | Mariette | 1988 | congelee | 15 | MIGADO |
| 3219751 | 2007 | 3261241 | 2008 | fraiche | 466 | MIGADO |
| 3219751 | 2007 | 3423185 | 2011 | fraiche | 0 | MIGADO |
| 3219751 | 2007 | 328 | 1995 | congelee | 7 | MIGADO |
| 3219751 | 2007 | Herve | 1995 | congelee | 9 | MIGADO |
| 3207545 | 2007 | 3624417 | 2013 | fraiche | 5066 | SAEG |
| 3219842 | 2007 | 3423185 | 2011 | fraiche | 10136 | SAEG |

3.3. Le devenir des juvéniles

En fonction des objectifs du PNA Sturio et des accords avec les partenaires européens, le devenir des différents individus a été défini :

- Conservation sur site des individus issus des croisements avec la semence congelée pour le renouvellement du stock captif
- Lâchers en milieu naturel de 12 017 juvéniles de 3 mois
- Transfert à INRAE de 120 individus de 3 mois pour l'expérimentation animale d'étude du comportement des juvéniles en dévalaison, grâce à des suivis acoustiques qui sera réalisé au printemps 2025 sur des individus de 9 mois
- Transfert de 200 juvéniles à l'IGB dans le cadre du programme de sauvegarde dans l'Elbe et la conservation du stock captif allemand
- Transfert de 40 individus dans le programme Life MigratoEbre aux partenaires espagnols à l'automne 2025
- Transfert de 140 individus en septembre 2025 aux partenaires hollandais dans le cadre des expérimentations sur le Rhin.

4. LES REPEULEMENTS D'ESTURGEONS EUROPEENS A PARTIR DES REPRODUCTIONS ARTIFICIELLES

Les repeuplements ont lieu en plusieurs phases :

- Au mois de juin, après les reproductions, les plus grandes quantités de larves sont relâchées 7 et 8 jours après éclosion.

- Aux mois d'août et de septembre, les juvéniles de 90 jours élevés par un pisciculteur privé sont relâchés sur différents sites, et quelques individus conservés pour alimenter le stock captif (entre 25 et 30 individus de 90 jours).

- En juillet, les individus d'un an et plus présents sur le site, et destinés à être lâchés sont relâchés dans le milieu naturel.

Le plan d'alevinage est élaboré conjointement par INRAE et MIGADO, en fonction des croisements génétiques réalisés, du nombre de larves à lâcher ou à élever, et des débits des cours d'eau.

En 2024, les lâchers ont eu lieu à 3 mois à Meilhan sur Garonne le 17 septembre 2024 et à Pont de Beauze sur la Dordogne, le 18 septembre 2024. Le 17 juillet 2024, 45 individus de un an issus de la cohorte 2023 ont été lâchés à Saint André de Cubzac..

Ces différents stades de lâchers, réalisés avec les mêmes protocoles depuis 2012, permettront d'évaluer l'efficacité des différents stades en termes de survie et de repeuplement. On estime que les mortalités sont plus importantes au stade 7 jours qu'à celui de 90 jours, ce qui est compensé par un nombre de lâchers beaucoup plus important. L'esturgeon étant un migrateur, il se pose également, en plus de la survie des individus, la question de l'imprégnation du milieu pour les différents stades afin que les futurs géniteurs puissent revenir se reproduire sur les frayères du bassin dans une quinzaine d'années.

Les avancées des travaux de Irstea sur le volet génétique commencent à donner des premiers résultats qui permettront prochainement d'affiner les stades optimaux de lâchers et les lieux de lâchers. Ces résultats sont présentés dans le rapport d'activité de Irstea.

4.1. Les larves de 7 jours

Selon la bibliographie et les observations réalisées par Irstea, les larves commencent à se nourrir environ 9 jours après l'éclosion. Pour cela, le protocole précise que le transfert des larves chez le pisciculteur pour élevage ou relâcher en milieu naturel doit se faire à 7 ou 8 jours (J7 ou J8), avant le début de la prise alimentaire.

Les lâchers sont habituellement réalisés sur les sites de frayères potentielles d'esturgeons européens, identifiés dans le cadre d'études antérieures menées par Irstea et EPIDOR. Un état des lieux a débuté en 2018, s'est poursuivi en 2019 et finalisé en 2020, afin d'actualiser l'état des frayères potentielles grâce à la réalisation de transects sur les sites identifiés et l'échantillonnage du substrat. Des cartographies et descriptions des sites ont été ensuite réalisées sur la base de ces éléments. Les cartes actualisées ont été présentées dans le rapport Lauronce et al., 2021, Conservation du stock d'esturgeons européens, lâchers en milieu naturel et animation du PNA, actions 2020.

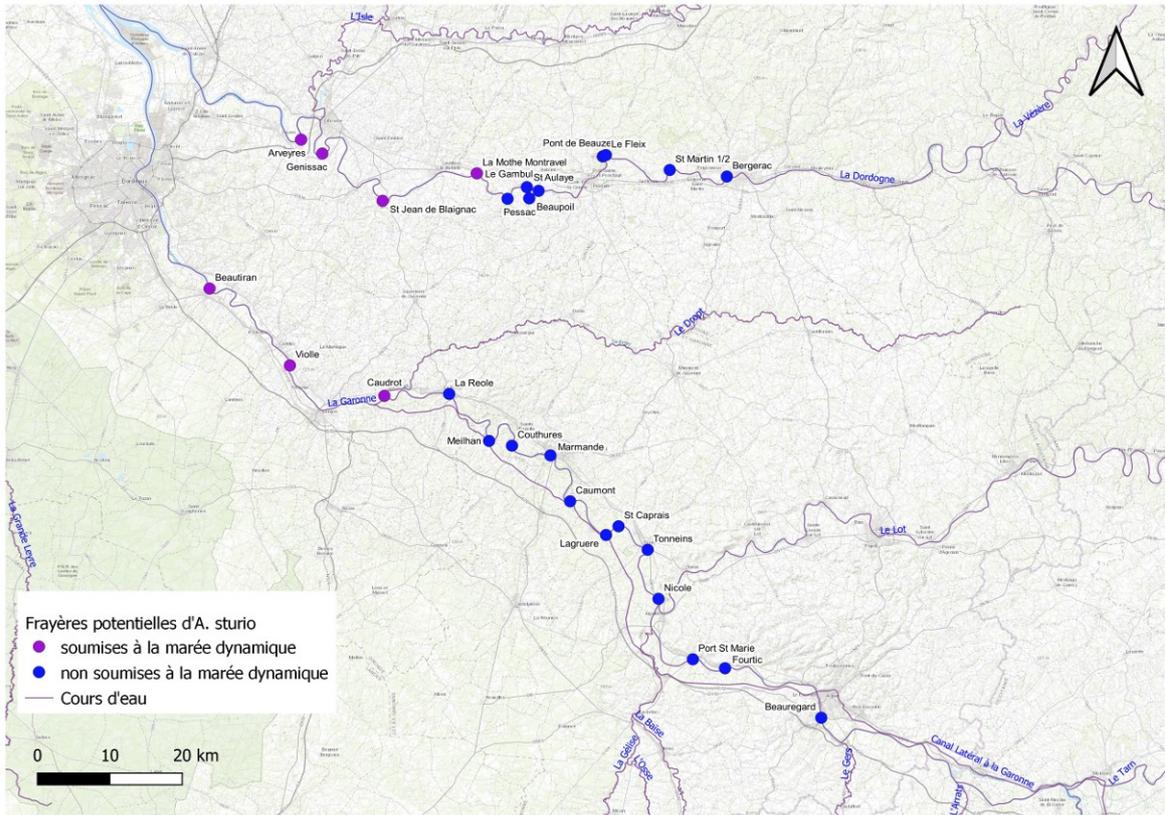


Figure 25 : Frayères potentielles d'esturgeons européens. Source : Lauronce, MIGADO.

Aucun lâcher de larves n'a donc eu lieu cette année, par manque de succès des reproductions. Le nombre d'individus étant trop faible pour faire des lâchers au stade larves.



Figure 26 : Larves de 7 jours actives juste avant lâcher.

A partir du 5^e ou 6^e jour après l'éclosion, les larves deviennent nageantes et se regroupent dans une attitude de protection vis-à-vis des prédateurs potentiels. C'est le moment

où elles sont prêtes à être lâchées et commenceront à s'alimenter dans les jours suivants (à partir du 9^e jour).

4.2. Les lâchers des juvéniles de 80-90 jours

En 2024, l'intégralité des lâchers a été réalisé au stade juvéniles 3 mois les 17 et 18 septembre 2024, en répartissant les génétiques sur chaque axe Garonne et Dordogne.



Figure 27 : Lâchers des juvéniles de 80 à 90 jours.

4.3. Récapitulatif des lâchers depuis 1995

Le nombre d'individus lâchés depuis 1995 varie en fonction du succès des reproductions. Le nombre d'individus lâchés depuis 2012 correspond aux objectifs définis dans le cadre du PNA, qui préconise de lâcher entre 400 000 et 500 000 individus en moyenne par an pendant 6 ans pour pouvoir repeupler le bassin Garonne Dordogne.

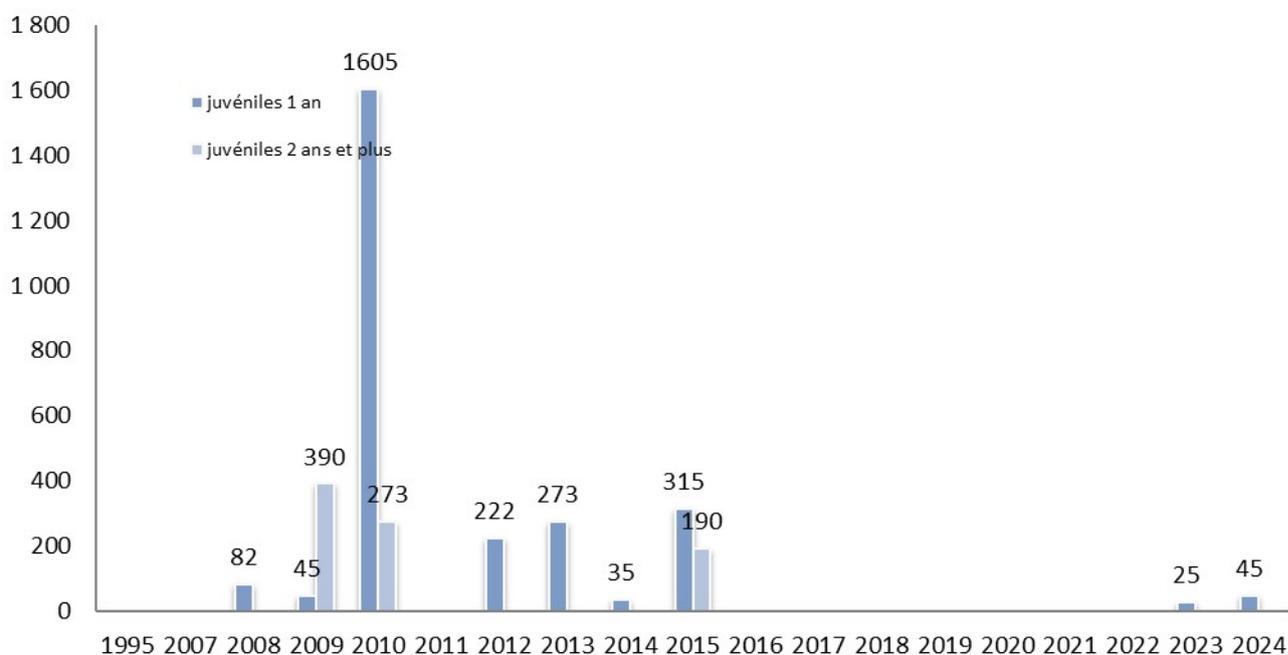
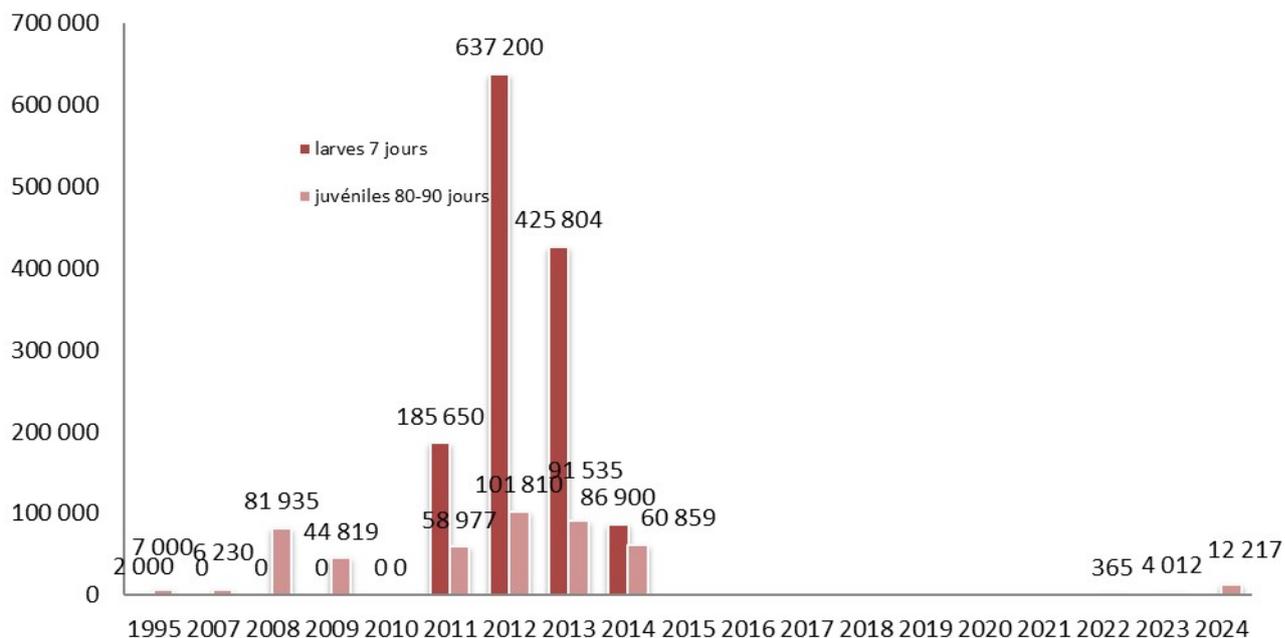


Figure 28 : Bilan des lâchers de Sturio depuis 1995..

4.4. Prédation des esturgeons par les silures au moment des lâchers

En 2023, l'après-midi des lâchers, un pêcheur professionnel est allé pêcher des silures sur la zone de lâcher, et a récupéré 3 silures conservés dans un vivier pour la nuit. Ces silures ont régurgité 17 jeunes esturgones européens.



Figure 29 : Esturgeons régurgités suite à la capture de silures à Couthures sur Garonne (source : AADPPEDG)

Des réunions du groupe thématiques Prédation ont été organisées afin d'essayer de réfléchir à une adaptation des repeuplements pour les prochaines années qui permettront de protéger les esturgeons d'une potentielle prédation. Les membres inclus dans ces premières réflexions sont : MIGADO, INRAE, AADPPEDG, DREAL Nouvelle Aquitaine afin de mettre en parallèle à la fois les lâchers d'esturgeons et les obligations du PNA, le comportement des jeunes individus après lâchers, et le comportement des silures dans le milieu .

Il a été envisagé de travailler sur les points suivants pour les prochaines années dans le cadre d'étude, de gestion des espèces, à la fois afin d'optimiser la survie des esturgeons au moment du lâcher et diminuer la prédation possible. Des réunions seront de nouveau organisées en 2025 sur ce point.

- ✓ Elevage enrichi des juvéniles (courant dans les auges d'élevage, éclairage plus fort)
- ✓ Lâchers séquentiels si le nombre des juvéniles à lâcher est important
- ✓ Extraction des silures sur 2 zones à J-2, J-1, J+1 et J+2 par rapport aux dates de lâchers (2 sites côté Garonne et 2 sites côté Dordogne), avec analyses des contenus stomacaux sur un site sur chaque axe
- ✓ Suivis acoustiques et/ou radio des juvéniles pour mieux comprendre le comportement des juvéniles
- ✓ Elevage dans des containers au bord de l'eau

Plusieurs points ont été mis en place dès 2024, avec un élevage légèrement enrichi, dans la mesure du possible et avec les contraintes d'élevage. L'élevage ne s'est plus fait dans l'obscurité totale, et un léger courant a été mis en place dans les auges d'élevage. Ce courant ne peut être trop élevé afin de ne pas perturber l'alimentation. De la même manière, une luminosité trop élevée perturbe l'alimentation des juvéniles.

Le nombre d'individu n'étant pas très élevé, les lâchers se sont fait en un seul lâcher, un lâcher par axe.

Des pêches d'extraction de silure, auxquelles le personnel MIGADO a participé ponctuellement ont été mis en place par les pêcheurs professionnels en lien avec CAPENA. Des silures ont été capturés avant et après le lâcher. Des prélèvements de contenus stomacaux ont été réalisés, ne mettant en évidence aucune prédation par les silures. Cet élément peut être dû à la digestion rapide, avant analyse du contenu stomacal des esturgeons par les silures, dans une eau avec une température assez élevée, ou par un phénomène de régurgitation du au stress de la capture qui expliquerait le fait que de nombreux contenus stomacaux étaient vides au moment de l'analyse. Les engins de pêche utilisés étaient des filets, des verveux et des cordeaux.

Des relevés de fécés ont cependant été réalisés et ont mis en évidence la présence d'ADN d'esturgeon européen dans les fécés sur la Garonne et Dordogne, mais le nombre d'échantillon est assez faible. Les analyses ont été réalisés par INRAE dans le cadre d'un stage de Master 2, et les résultats seront accessibles dans un rapport spécifiques. Cela confirme cependant la prédation des esturgeons au moment du lâcher.

Cette expérimentation devra se poursuivre dans les prochaines années.

5. PROTOCOLE DE SUIVI DE LA REPRODUCTION NATURELLE

En 2024, ce suivi a fait l'objet d'un programme spécifique non inclus dans ce dossier. Les informations sont disponibles dans le rapport «Lauronce et al, 2025.Suivi de la reproduction naturelle de l'esturgeon européen sur le bassin Garonne Dordogne ».

6. ANIMATION DU PLAN NATIONAL STURIO

L'animation du Plan National Sturio s'est déroulée en différentes étapes :

6.1. Le nouveau PNA 2020 -2029.

Le bilan du Plan National d'Actions pour la sauvegarde de l'esturgeon européen 2011-2015 avait reçu l'approbation du CNPN le 18 octobre 2018. Le futur PNA 2020-2029 a reçu également l'approbation du CNPN le 22 janvier 2019.

Le comité de rédaction restreint créé afin de travailler sur le bilan du PNA 2011-2015 et la rédaction du nouveau PNA était constitué de :

- MIGADO,
- INRAE,
- CNPMMEM,
- DREAL Nouvelle Aquitaine,
- Office Français pour la Biodiversité
- EPTB Garonne (SMEAG),
- EPTB Dordogne (EPIDOR),
- EPTB Estuaire (SMIDDEST)
- Agence de l'Eau Adour Garonne.

Le 24 septembre 2020, le Ministère de la Transition Ecologique et Solidaire a validé le Plan National d'Actions en faveur de l'Esturgeon européen sur la période 2020-2029.



Figure 30 : Page de couverture du Plan National d'actions en faveur de l'Esturgeon européen 2020-2029.

Le document complet du Plan National d'Actions en faveur de l'Esturgeon européen pour la période 2020-2029 est téléchargeable sur le site de MIGADO (www.migado.fr) et sur le site internet dédié au Sturio (www.sturio.fr).

La diffusion du document est prise en charge par la DREAL Nouvelle-Aquitaine, avec une diffusion prioritaire par mail, et avec quelques exemplaires papier qui ont été édités. Le document a été diffusé à plus de 200 personnes. Il a été diffusé en septembre 2021.

6.2. L'élaboration d'une Infomail en mars 2024.

Ce document, appelé Infomail, a pour objectif de décrire les dernières actualités survenues sur l'esturgeon, en regroupant les différentes actions mises en place dans le cadre du Plan National. Les principaux indicateurs que sont le nombre de larves et juvéniles relâchés les dernières années, les captures accidentelles d'esturgeons, le nombre d'esturgeons présents sur la pisciculture de St Seurin et les suivis par pêches expérimentales sont rappelés et actualisés dans chaque Infomail.

L'Infomail est ensuite envoyée via le site internet <http://www.sturio.fr> à un listing actualisé au fur et à mesure des demandes (environ 150 personnes reçoivent actuellement cette parution). Elle a pour objectif d'apporter des informations et des actualités sur l'esturgeon européen.

Une Infomail a été réalisée en mars 2024 (n°21). Elle est consultable sur le site internet www.sturio.fr dans la rubrique communication / Infomail, et sur le site www.migado.fr Elle est jointe en annexe 1 de ce rapport.

6.3. Site internet www.sturio.fr

MIGADO a repris depuis début 2014 la gestion du site internet www.sturio.fr, après une formation par le CNPMM, et le transfert de gestion du site.

Le site a été entièrement actualisé, et évolue au fur et à mesure de l'avancée des actions. Il est cependant devenu obsolète ayant été créé sur des logiciels qui ne sont plus adaptés. Il est prévu une refonte complète du site en 2025.



Figure 31 : Capture écran de la première page du site internet www.sturio.fr

6.4. Collaboration avec les pêcheurs professionnels et amateurs pour la reconnaissance d'esturgeons exotiques capturés dans le milieu naturel.

En 2020, des échappements ont eu lieu de deux piscicultures, de nombreuses captures accidentelles d'esturgeons exotiques ont eu lieu en 2020, sur le bassin de la Garonne et d'Arcachon, avec 129 déclarations de captures de *Acipenser gueldenstaedtii* et *Acipenser baeri*. En 2021, 24 *A. gueldenstaedtii* et *A. baeri* ont été capturés accidentellement et déclarés, dont 4 sur le Canal de Souston dans les Landes, les autres étaient localisés dans le bassin d'Arcachon ou sur la Garonne et Estuaire. A titre de comparaison en 2021, 51 captures de *A. sturio* ont été déclarées.

Ces espèces sont interdites de présence dans le milieu naturel, en eaux douces françaises, pouvant entraîner des risques sanitaires, de compétition alimentaire ou d'hybridation avec le *A. sturio*. Lors d'une capture accidentelle, il est donc interdit de les remettre à l'eau. Cependant la différence entre les différentes espèces d'esturgeons n'est pas simple.

Afin de protéger le *A. sturio*, il a donc été décidé de mettre en place un système d'identification rapide de l'espèce. Les pêcheurs qui capturent un individu envoient une photographie à Lise Mas, enquêtrice halieutique pour CAPENA, travaillant avec l'AADPPEDG et le CRPMEM. Lise Mas envoie alors cette photo à Vanessa Lauronce (MIGADO) afin d'avoir une confirmation sur l'espèce. Ce n'est qu'après une validation de MIGADO, puis un transfert de l'information aux pêcheurs par CAPENA, que l'esturgeon peut être sorti de l'eau si c'est une espèce exotique. Afin de ne pas mettre en danger *A. sturio*, il a été décidé, que si le pêcheur n'a pas un retour dans les 10min. après l'envoi de sa photo, il remet le poisson à l'eau.

Cette procédure a été mise en place depuis 2020, et fonctionne assez bien. L'ensemble des interlocuteurs sont réactifs.

6.5. Mise à disposition d'esturgeons dans les aquariums

Quatre esturgeons ont été mis à disposition de l'aquarium de la Rochelle en 2013 dans un objectif de communication. Une visite a eu lieu à l'aquarium en mai 2019, afin d'échanger avec le responsable. Les individus sont en bonne santé, et tout un programme de communication est mis en place autour de l'espèce. Cependant, les individus deviennent trop grands pour l'aquarium.

En 2023, MIGADO est allé sur site faire des échographies afin de savoir s'il s'agit de mâles ou femelles (quand ils avaient été transférés, ils n'avaient pas encore fait le déterminisme sexuel), et doit décider, avec les membres du groupe conservation, du devenir de ces poissons. D'autres poissons de plus petites tailles pourront être transférés, lorsque de nouvelles reproductions assistées auront lieu. S'il y a des femelles matures, la question se posera de savoir si elles sont ramenées sur le site de St Seurin pour participer à la reproduction.

La visite a eu lieu en avril 2023, et a priori les individus seraient 3 femelles et 2 mâle. Aucun individu n'est mature, mais les individus sont de grande taille.

MIGADO a récupéré en juillet 2024, 4 esturgeons (un a été conservé au sein de l'aquarium), qui seront lâchés en milieu naturel début 2025. 3 individus plus jeunes ont été transférés à l'aquarium pour l'exposition au public.



Figure 32 : Esturgeons présents à l'aquarium de La Rochelle.

Il est prévu également de renforcer les échanges avec la direction de l'aquarium afin d'augmenter les échanges techniques entre les équipes et la communication autour du PNA.

Des contacts avec les autres aquariums de la façade atlantique qui étaient intéressés pour avoir des esturgeons européens (Nausicaa, Océanopolis) auront lieu en 2025 également, les échanges prévus n'ayant pu se poursuivre en 2020.

6.6. Réunion du groupe financeurs des actions Sturio « bilan des actions 2024 et programmation des actions 2025 »

Le 11 décembre 2024, une réunion du groupe financeurs des actions Sturio a été organisée afin de faire le bilan des actions 2024 et le prévisionnel des actions 2025.

Le relevé de discussion de cette réunion est joint en annexe de ce rapport (annexe 2). Les présentations de Migado, INRAE et CNPMM faites lors de cette réunion ont été transmises aux participants à cette réunion, ne sont pas jointe en annexe de ce rapport.

6.7. Mise à disposition d'esturgeons européens aux porteurs de projet LifeMigratoEbre en Espagne.

Une convention d'intention entre le Ministère de la Transition Ecologique et Solidaire de la République Française et le Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, de l'Alimentation et de l'Environnement du Royaume d'Espagne pour la conservation et la réintroduction de l'esturgeon européen a été signée en mai 2018. Elle encadre les échanges scientifiques et techniques entre la France et l'Espagne.

Un accord a été trouvé avec les partenaires porteurs du projet Life MigratoEbre qui en ont fait la demande (avec un objectif de communication et sensibilisation du grand public et du monde de la pêche) d'accueillir 4 esturgeons européens dans le centre IRTA à San Carles de la Rapita (Catalogne).

Quatre mâles ont été sélectionnés par MIGADO : des individus nés en 2007 mesurant entre 1 m et 1.20 m et pesant environ 10 kg. Du sperme a déjà été prélevé sur ces individus et stocké dans la banque de sperme congelé. Le transfert des individus a eu lieu le 5 mars 2019.

La convention signée est une convention de mise à disposition des individus (pour 5 ans), signée entre MIGADO, IRTA et IDECE en affichant un transfert dans un but de communication. Un rapport annuel, servant de compte-rendu de l'état des poissons, devra être transmis à MIGADO afin de suivre l'évolution des poissons. Un protocole précis d'acclimatation, de quarantaine et d'élevage des poissons a été rédigé par MIGADO et remis à IRTA.

Les poissons ont énormément stressé pendant le transport qui a duré 10h, et ont mis de nombreux mois à s'alimenter de nouveau. Des contacts réguliers avec IRTA permettent de suivre l'évolution de l'état des poissons.

En parallèle, une convention a été passée dans la cadre du Life MigratoEbre et 50 poissons ont été transférés en décembre 2023, suite à une demande CITES. L'objectif est d'évaluer la capacité de dévalaison des esturgeons dans le Delta de l'Ebre. Ces poissons ont 18 mois et sont issus de la cohorte 2022. Un nouveau transfert de 50 individus a eu lieu en novembre 24 issus des reproductions 2023. Des individus de la cohorte 2024 ont été conservés et seront transférés en octobre 2025 pour des lâchers en milieu naturel sur l'Ebre.

Le projet scientifique a été validé par les partenaires scientifiques du Life et des hydrophone ont été installés au niveau du Delta. Le marquage a été réalisé par l'équipe de l'IRTA.



Figure 33 : Positionnement des hydrophones au niveau du Delta de l'Ebre..

Les résultats seront transmis par les partenaires espagnols.

6.8. Convention de partenariat technique et financier entre MIGADO et Ark Nature.

Une convention a été signée le 9 octobre 2018 afin d'encadrer les conditions de partenariat technique et financier entre MIGADO et Ark Nature dans le cadre du plan national de conservation français pour la sauvegarde de l'esturgeon européen, et les relations internationales, et plus spécifiquement sur le programme *Rhine Sturgeon project*.

Il est convenu pour 5 ans (2019-2023) qu'un partenariat technique est mis en place avec une participation financière de Ark Nature au maintien du stock captif français de St-Seurin sur l'Isle. Ark Nature versera 40 000 € annuels à MIGADO, somme qui sera réinvestie dans le programme Sturio, et en contrepartie, si des reproductions ont lieu, une partie des larves et/ou juvéniles seront transférés sur le Rhin pour des tests et suivis de validation de la capacité d'accueil du bassin versant pour l'esturgeon européen.

En 2019, les partenaires de Ark Nature (Bram Houben) et de Royal Dutch Angling Association (Niels Breve) se sont déplacés jusqu'à St Seurin et sont venus assister aux manipulations effectuées sur le 3^e lot de mâles pour le prélèvement de sperme. En 2020 à cause des restrictions de déplacement aux frontières dû à la crise COVID19, ils n'ont pu venir sur site. Des contacts permanents ont lieu par mail, afin qu'ils suivent les avancées des actions sur le site et l'état des poissons. Une visite a été organisée en 2022. De nombreux échanges et réunions en visioconférence ont eu lieu tout au long de l'année, ainsi qu'après la période de reproduction, une session de débriefing post-reproduction a eu lieu en visioconférence avec Bram Houben et Biels Breve.

Le programme Hollandais de réintroduction de l'esturgeon européen suit son cours. L'expertise des habitats a été réalisée et transmise aux partenaires français, qui doivent apporter une expertise et un avis sur la capacité d'accueil du Rhin pour l'esturgeon européen.

Des premiers lâchers avaient eu lieu en 2012 et 2015 afin d'évaluer les capacités d'échappement du Delta du Rhin par des juvéniles en dévalaison. Les partenaires hollandais sont maintenant en train de travailler sur la caractérisation des zones de frayères potentielles, sur le même protocole que celui utilisé sur le bassin Garonne Dordogne. Un projet de plan national d'actions avec un objectif de restauration pour 2030 est également en cours de rédaction sur le Rhin. MIGADO fait partie des partenaires scientifiques et techniques consultés pour la relecture de ce projet de Plan national.

Un premier transfert après marquage d'individus a eu lieu en 2023. Les équipes de MIGADO ont marqués avec des marques acoustiques 74 individus de la cohorte 2022. Un premier transfert a eu lieu le 2 juin et un second le 11 août. Tout un réseau d'hydrophone a été placé sur le Delta du Rhin afin d'observer les déplacements des individus.

En 2024, les techniciens MIGADO ont marqués 120 esturgeons européens en marque acoustique avant transfert et 130 individus supplémentaires ont été transférés sans marquage acoustique.

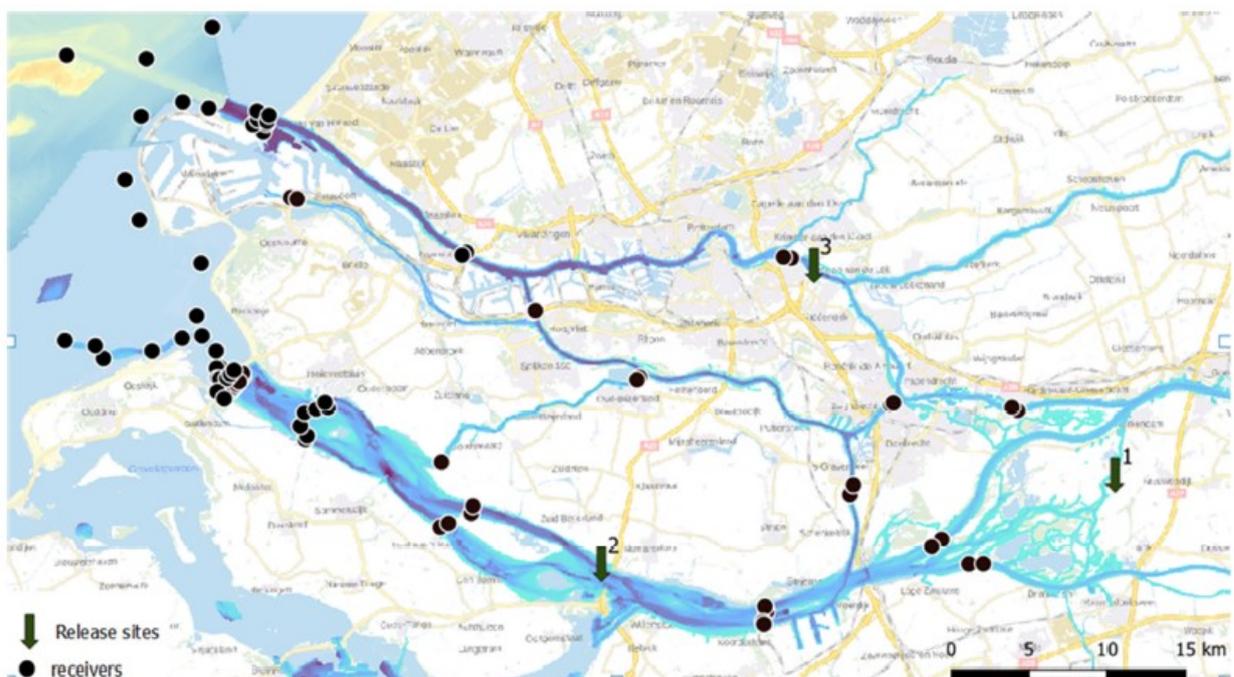


Figure 34: Positionnement des hydrophones au niveau du Delta de l'Ebre..

L'objectif est d'évaluer la capacité de dévalaison à travers le Delta du Rhin. Ce projet se fera sur 3 ans, des individus seront transférés en 2025 (140 individus).

Une convention doit être établie en 2025 afin d'organiser les transferts, la convention actuelle arrivant à échéance.

6.9. Partenariat France Allemagne dans le cadre du programme national de sauvegarde de l'esturgeon européen dans l'Elbe.

L'IGB possède un stock captif issu des reproductions assistées réalisées à St Seurin sur l'Isle, avec des transferts d'individus de chaque cohorte lorsque les reproductions le permettent. En 2024, 200 individus de la cohorte 2024 ont été transférés afin d'alimenter le stock captif à Berlin, et réaliser des reproductions.

Un accord entre le Ministère Français et Allemand existent dans le cadre du PNA 2011-2015 et doit être renouvelé. Des discussions seront entamées en 2024.

Une réunion est également prévue afin de travailler sur les indicateurs de la reproduction des individus présents dans le stock captif allemand.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le stock d'esturgeons européens captifs est constitué d'esturgeons sauvages récupérés dans le milieu naturel (5 individus) et d'esturgeons issus des reproductions assistées qui ont eu lieu entre 2007 et 2014. Actuellement, sur le site de St Seurin, plus de 600 esturgeons de différents stades sont présents, certains en attente de transfert dans d'autres pays européens.

Depuis 2017, les premiers mâles issus des reproductions assistées commencent à maturer et ont donné du sperme qui a pu être prélevé, ce qui permet d'alimenter la banque de sperme congelé. Le transfert de la reproduction à MIGADO est effectif depuis 2018, et MIGADO a donc la responsabilité de l'ensemble du cycle de l'esturgeon européen, de l'élevage et conservation du stock, de la reproduction, élevage des juvéniles et lâchers en milieu naturel.

Les conditions d'élevage du stock d'esturgeons captifs s'améliorent au cours des années, en fonction des connaissances acquises sur les taux de croissance, le taux de déterminisme sexuel et le taux de maturation. Il a également été mis en évidence que le déterminisme sexuel s'améliore quand on transfère les individus en eau saumâtre, et qu'ils commencent à s'alimenter avec les mêmes aliments que les géniteurs.

En 2024, une reproduction a été réalisée et a permis de reprendre les repeuplements avec le lâcher de plus de 12 000 individus en Garonne et Dordogne. Des croisements génétiques ont pu être réalisés avec de la semence congelée d'individus sauvages nés il y a plusieurs années. Cela permet d'augmenter la diversité génétique des individus dans le stock captif et des individus lâchés.

Un protocole de suivi de la reproduction naturelle a été mis en place avec une caméra sonar et des caméras de déclenchement automatique. Des individus de grande taille ont pu être repérés grâce à ce suivi par caméra sonar.

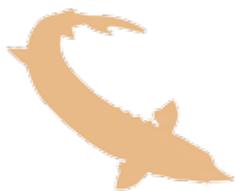
Le nouveau Plan National d'Actions pour l'esturgeon européen a été validé par le Ministère de la Transition Ecologique et Solidaire en septembre 2020. Le document a été mis en forme et édité en 2020. La mise en place des actions a démarré.

Les outils de communication du PNA, ainsi que le site internet dédié à l'esturgeon européen ont été actualisés. Les échanges européens avec les partenaires espagnols, catalans, hollandais et allemands se sont renforcés avec l'organisation de plusieurs réunions, la concrétisation des collaborations via des conventions de partenariats entre les Ministères français et étrangers, et des échanges techniques. L'impulsion donnée aux échanges internationaux devrait se poursuivre et se renforcer dans les prochaines années. 4 poissons ont été mis à disposition des espagnols sur le Delta de l'Ebre. De nombreux échanges ont eu lieu avec les partenaires hollandais.

ANNEXES

Infomail Sturio n°21

Si vous ne visualisez pas notre lettre d'information, » [cliquez ici](#).



Infomail Sturio

Plan National d'Actions en faveur de l'Esturgeon eu

Infoc

Actualités

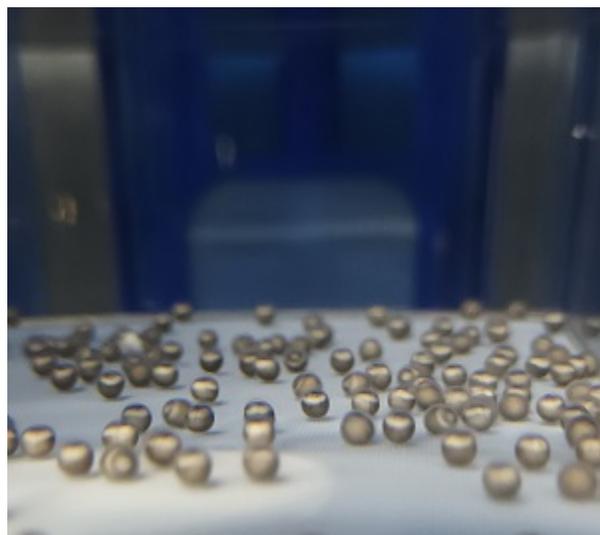
La reprise des lâchers en 2022 et 2023



source : V. Lauronce, MIGADO

Les esturgeons européens nés en captivité lors des premières reproductions assistées réalisées par le Cemagref en 2007, 20 ans de maturation depuis ces dernières années. Les femelles, qui ont un âge de première maturation à environ 15 ans, ont été réalisées en 2022, et en 2023. En 2023, MIGADO a poursuivi les lâchers de juvéniles en déversant dans les zones de reproduction potentielle. Depuis le début des lâchers, millions d'individus ont été lâchés à différents stades.

La reproduction assistée des esturgeons européens



En 2023, plusieurs croisements génétiques ont pu être réalisés. Une femelle sur le site de St Seurin a permis de récupérer des oeufs qui ont été fécondés par la semence prélevée sur plusieurs mâles. De la semence fraîche a pu être utilisée sur les mâles le même jour que la ponte des femelles, mais des croisements ont également été réalisés par MIGADO grâce à la semence congelée par INRAE. Ainsi, tous les ans, de la semence congelée gérée par INRAE. Cela permet maintenant d'augmenter la diversité génétique de la population dans le milieu grâce aux croisements génétiques avec des poissons : plusieurs années dont la semence a été conservée.

source : V. Lauronce, MIGADO

Prochaines étapes : repérer les géniteurs qui reviennent sur les zones d

après avoir grandi en mer



source : pêcheur professionnel

Les individus relâchés en 2007, 2008 commencent à atteindre l'âge de maturation sexuelle, et devraient commencer à revenir dans les zones de reproduction identifiées sur la Garonne et la Dordogne. Le retour des géniteurs sur frayères et l'observation d'un premier signe de succès du programme démarré il y a plus de 20 ans. Les différents partenaires impliqués dans le projet de sauvegarde de l'esturgeon européen participeront au recueil de ces observations par des moyens techniques différenciés : présence d'individus dans le milieu naturel lors de captures accidentelles en rivières par les pêcheurs, la détection d'ADN d'A. sturio dans l'analyse de l'ADN environnemental par INRAE, par des suivis avec des caméras sonar, drones aquatiques et échosonde MIGADO en période de reproduction sur les secteurs identifiés directement.

Pour en savoir plus...

Contacts

Animation : Ass. MIGADO - Vanessa Lauronce - vanessa.lauronce@migado.fr

Coordination : DREAL Nouvelle-Aquitaine - Gilles Adam - gilles.adam@developpement-durable.gouv.fr

Partenaires techniques et financiers



ve

[www.sturio](http://www.sturio.fr)



Plan National d'Actions en faveur de l'Esturgeon européen

| | | |
|---|---|--|
|  | <p style="text-align: center;">Relevé de Décision de la réunion financeurs Sturio pour la programmation des actions 2024 – perspectives 2025</p> <p style="text-align: center;">Date de la réunion : 11/12/2024</p> |  <p style="text-align: center;">PRÉFET DE LA RÉGION NOUVELLE-AQUITAINE <i>Liberté Égalité Fraternité</i></p> |
|---|---|--|

Nom du rédacteur : Vanessa LAURONCE Lieu : Visioconférence

Objet : Réunion bilan des actions techniques 2024 – perspectives 2025

Participants

Vanessa LAURONCE (Ass. MIGADO)
Eric ROCHARD, (INRAE)
Marie-Laure ACOLAS (INRAE)
Henrique CABRAL (INRAE)
Dominique TESSEYRE (Agence de l'Eau Adour Garonne)
Valentin LONNI (CNPMMEM)
Lise MAS (CAPENA)
Gilles ADAM (Dreal Nouvelle Aquitaine)
Alice DECHRISTE (Département Gironde)
Bénédicte VALADOU / Marie MOTTE (OFB)

Excusés :

Daniel BOURDIE / Jean-Michel RAVAILHE / Gilles BRICHET (Ass MIGADO)
Eric LAVIE (Région Nouvelle Aquitaine)

Relevé de décision

Cette réunion annuelle regroupe les partenaires maîtres d'ouvrages d'actions du PNA et les financeurs afin de présenter le bilan des actions techniques de l'année passée, les perspectives de l'année suivante et les plans de financement.

Présentation des actions portées par MIGADO

Cf. présentation jointe en annexe

Le système mis en place dans l'écloserie par une restructuration totale de l'écloserie devrait permettre de faire sédimenter le fer de l'eau de forage et optimiser l'élevage en réduisant les mortalités au moment de l'incubation, de l'éclosion et de l'élevage. Ce système est utilisé à la SAEG et fait ses preuves.

En ce qui concerne le déstockage éventuel d'individus présents à St Seurin dans le stock captif, il faut réfléchir aux possibilités en lien avec la génétique des individus afin d'optimiser le nombre d'individus sur site sans mettre à mal les possibilités de reproduction assistée et l'optimisation de la diversité génétique. Eric Rochard propose de mobiliser le généticien du Comité scientifique du PNA Leonardo Congiu. Il va rédiger une note et la transmettra aux partenaires du PNA avant de la transmettre à Leonardo Congiu.

En ce qui concerne l'alimentation des géniteurs et l'apport de compléments alimentaires, Marie-Laure Acolas explique que Joern Gessner constate un manque de nutriments également sur les poissons d'élevage. Ce point avait été abordé afin d'essayer de comparer la composition du muscle en acides gras entre les

poissons du milieu naturel et les poissons présents dans le stock captif, en faisant des micro-prélèvements. Il faudra dans un premier temps identifier quel type d'acides gras sont importants et doivent être analysés. Vanessa Lauronce estime que cela peut être intéressant à mettre en place.

Il a été observé pendant les reproductions 2024, une différence de croissance entre les larves et juvéniles (taux de croissance) issus d'une reproduction avec semence congelée et avec semence fraîche. Il semble difficile d'identifier quel est le facteur influençant cette différence de taux de croissance entre l'origine de la semence et le système d'élevage (circuit fermé avec eau du robinet, et circuit ouvert eau de forage). Eric Rochard évoque également le fait que les individus incubés dans le zebtech (petits lots avec semence congelée) ne subissent pas de passage à l'argile, passage à l'argile qui détruit les protections de la larve. Cela peut être également un facteur aggravant du développement de la larve.

L'analyse des données n'a pas été totalement faite, mais les données d'élevage sont disponibles et vont être analysées prochainement. Il faudra regarder à quel moment du développement ont lieu les mortalités, et en 2025, regarder ces mortalités et les problèmes de développement au stade œuf, afin d'avoir une information sur le taux de fécondation de chaque croisement et le taux d'éclosion.

Eric Rochard explique que les collègues allemands et polonais ont également des problèmes pour faire se reproduire les F1 *Acipenser oxyrinchus*, alors que les individus sauvages de cette espèce, qui mangent le même aliment se reproduisent sans problème. Le problème ne viendrait donc peut être pas de l'alimentation. Les partenaires allemands et polonais souhaiteraient organiser un groupe de travail sur ce sujet.

En terme de communication, Bénédicte Valadou se demande s'il ne serait pas intéressant d'ouvrir la possibilité d'accueil d'individus à d'autres aquariums que ceux de la façade atlantique. Il avait été décidé dans le cadre d'un groupe thématique communication du PNA que seuls les aquariums de la façade atlantique pourrait accueillir des esturgeons européens, afin de sensibiliser le grand public dans des secteurs où le grand public est susceptible d'en croiser dans le milieu naturel (proche des océans). Bénédicte Valadou pense qu'il serait intéressant de communiquer au maximum sur l'espèce et d'ouvrir à d'autres aquariums. Une réunion pourra être organisée afin de réfléchir à ce point dans le cadre du PNA, en gardant en tête les contraintes de croissance des individus, et les difficultés pour les aquariums de les garder quand ils deviennent trop grands. Actuellement l'aquarium de La Rochelle a ramené à St Seurin 4 esturgeons mais qu'il est impossible de remettre dans le stock captif, donc qui seront relâchés en milieu naturel.

Dans le cadre des échanges avec les partenaires européens, les hollandais pensent ne pas renouveler la convention avec MIGADO, qui assurait un financement du stock captif à hauteur de 40 000€ pendant 5 ans, afin d'assurer un appui au programme. Ils souhaitent s'orienter vers une compensation financière des frais d'élevage en fonction du nombre d'individus transférés pour les repeuplements sur le Rhin.

Une discussion avec Eric Rochard, la DREAL NA, MIGADO et les partenaires hollandais est prévue début janvier pour discuter de ce point. Les partenaires hollandais considéreraient qu'ils ne récupèrent pas suffisamment d'esturgeons européens tous les ans, et souhaiteraient s'orienter vers la mise en place d'un stock captif.

En ce qui concerne la mise en place d'un stock captif, cela relève du gouvernement hollandais. La CIPR (Commission Internationale pour la Protection du Rhin) pourrait être mise dans la boucle. Lien des membres de la CIPR <https://www.iksr.org/fr/cipr/qui-sommes-nous/membres>

Pour information Bénédicte Valadou explique que le PNMA est passé en commission devant le CNPN, et une des réflexions a été qu'il n'y a pas suffisamment d'actions transfrontalières.

Plan de financement 2025

Programme de conservation du stock d'esturgeons européens (AESTU25) : 927 878€

Financement AEAG 50%, Etat 12%, Feder NA 31,7%, Département Gironde 2,16%, partenaires européens 5,4%

Elevage des juvéniles d'esturgeons européens (FVRESTR2425) : 201 258€

Financement AEAG 50%, Etat Fonds Verts 50%

Total dossier 2025 : 1 129 036 €

Pour rappel en 2024 :

Programme de conservation du stock d'esturgeons européens (AESTU24) : 824 042€

Financement AEAG 50%, Etat 12%, FEDER 33,4%, Département Gironde 3,03%, partenaires européens 1,5%

Suivi de la reproduction naturelle de l'esturgeon européen (SRESTU24) : 18 711€

Financement 50% AEAG, 50% Fondation Nature et Découvertes

Elevage des juvéniles d'esturgeons européens (FVRESTR2425) : 201 258€

Financement AEAG50%, Etat Fonds Verts 50%

Total dossier 2024 : 1 043 911€

Présentation des actions portées par INRAE

Cf. présentation jointe

Différentes expérimentations ou suivis sont programmés en lien avec le PNA Sturio :

- Semences congelées : congélation de semences et estimation du pouvoir fécondant des semences congelées. La méthodologie et organisation seront calées avec MIGADO lors de la réunion débriefing reproduction du 17 décembre.
- Caractérisation du comportement de nage des larves d'esturgeons européens : expérimentation réalisée avec *A. ruthenus* en 2024, sera réalisé avec *A. sturio* en 2025. Demandes de larves de sturio à réaliser
- Tests de l'effet de contaminants sur *A. ruthenus* : le rapport de stage de M2 de Nathanaël Croc <https://filesender.renater.fr/?s=download&token=66adecad-4a21-466a-9ed7-cf25618b2d4d>
- Test d'un dispositif d'exposition d'embryons à des eaux naturelles. Utilisation du système utilisé pour les aloses, avec des *A. ruthenus* en 2024.

Les suivis en milieu naturel n'ont pas permis de mettre en évidence pour le moment de reproduction naturelle.

Lise Mas demande si d'autres pays européens, autre que l'Espagne pour le programme sur l'Ebre ont fait la demande d'esturgeons européens afin de lancer des programmes de repeuplement en Méditerranée.

Eric Rochard explique qu'une thèse a mis en évidence que la souche de Méditerranée est légèrement différente de celle de l'Atlantique.

Il y a des demandes provenant de l'Italie qui travaille sur différentes espèces dont le Beluga et souhaiteraient re-introduire l'esturgeon européen, mais pas de programme calé pour le moment.

L'Espagne envisage de lancer un programme sur le Minho mais qui est frontalier avec le Portugal, donc nécessité d'intégrer le gouvernement portugais dans les discussions.

Projet SCUTE : évaluation de la mise en œuvre du Plan d'action européen pour la conservation des esturgeons :

- 5 grandes régions : Baltique, Atlantique, Danube amont, Danube aval, Italie
- Rapports SCUTE concernant «la « région » Atlantique et les captures accidentelles <https://filesender.renater.fr/?s=download&token=ad066748-e119-4899-85ce-f76cf186f67d>
- Plaquette d'information en français <https://filesender.renater.fr/?s=download&token=e2a70c0c-86cc-457e-b8c0-76917c033e33>

Plan de financement 2025

Programme pour l'esturgeon européen : 605 846€

Financement AEAG 50%, Département Gironde 5,9%, INRAE 44,1%

Pour rappel programme 2023-2024:

Programme pour l'esturgeon européen : 431 416€

Financement AEAG 33,62%, Département Gironde 10,43%, INRAE 55,95%

Présentation des actions portées par le CNPMEM

Cf. présentation jointe

Lise Mas explique que le nombre de déclarations diminue sur les dernières années et cela s'explique par le fait que les esturgeons sont de plus en plus gros, et soit ils percent le filet et les pêcheurs ne les voient pas bien et donc ne peuvent prendre les informations nécessaires à la déclaration (état du poisson, taille, poids etc...), soit ils se décrochent du filet quand les pêcheurs remontent le filet et ils n'ont pas le temps de recueillir les éléments nécessaires à la déclaration.

En 2025, en plus de l'action de sensibilisation du monde de la pêche, une nouvelle action va être mise en place : le projet « ESCAPE » Etude sur le taux de survie de l'esturgeon européen suite aux captures accidentelles par les pêcheurs professionnels dans l'Estuaire de la Gironde.

Deux réunions techniques ont déjà eu lieu avec les différents partenaires impliqués afin de discuter et définir un protocole à mettre en place. En 2025, les marquages seront réalisés avec des marques externes par les observateurs de pêche embarqués. En 2026, des marquages avec des balises enregistrant plus de paramètres environnementaux et peut être des déplacements seront peut-être envisagés dans le cadre d'un partenariat scientifique-pêcheurs. En 2026, il pourra être envisagés de demander des fonds FEAMPA.

Le CNPMM ne pourra pas être porteur de ce projet, la Direction du CNPMM ne le souhaite pas, afin que les partenaires locaux s'approprient l'action, et que le projet n'est pas à une échelle nationale. Le CRPMM doit se réunir et décider s'ils acceptent d'être porteur de ce projet.

Dominique Tesseyre souligne l'importance d'un tel projet, et l'intérêt pour l'Agence de suivre et être impliqué dans le projet, même si l'AEAG n'est pas directement financeur de l'action.

Plan de financement 2025 prévisionnel

Campagne d'information et gestion des déclarations de captures accidentelles : 33 824€

Financement : Etat 44,35%, OFB 51,22%, CNPMM 4,43%

Etude de la survie des esturgeons européens capturés par les pêcheurs professionnels dans l'estuaire de la Gironde : 80 000€

Financement : Etat 50%, OFB (Parc Marin) 37,50 %, Autre financement (à définir CNPMM, CRPMM, CDPMM17 , CDPMM33) 31,25%

Pour rappel programme 2024:

Campagne d'information et gestion des déclarations de captures accidentelles : 31 738€

Financement : Etat 47,26%, OFB 48,01%, CNPMM 4,73%

Présentation des actions portées par l'AADPPEDG

Cf. présentation jointe présentée par Lise Mas (CAPENA)

Suite aux observations réalisées en 2023 suite aux lâchers, une action a été mise en place en 2024 afin de capturer et analyses les contenus stomacaux. En 2023, suite aux lâchers d'esturgeons, des filets avaient été mis à l'eau sur la zone et laissés en place 30min. Les silures, conservés dans des viviers avaient régurgités 17 juvéniles d'esturgeons européens.

En 2024, les pêches réalisées avec des verveux, des filets fixes et des cordeaux, n'ont pas mis en évidence d'esturgeons dans les contenus stomacaux pour le moment (reste un poisson non identifié sur la Dordogne et 3 sur la Garonne). L'analyse des fèces récoltés permettra également de savoir si des esturgeons ont été prédatés. L'analyse des fèces sera réalisée en 2025 par INRAE (stagiaire de Master).

Gilles Adam précise que cette expérimentation a été inclus dans le nouveau protocole cadre en cours d'élaboration.

Pour 2025, une réunion sera organisée afin de ré-engager les suivis, en orientant les protocoles et choix des techniques de pêche en fonction des retours d'expérience de cette première année.

Conclusion

Eric Rochard exprime son contentement devant les résultats présentés et les différentes actions développées. Il re-exprime le fait qu'un COPIL serait utile et notamment avec le contexte international actuel. Deux points peuvent poser question actuellement :

- Y a-t-il un souci avec les F1 et que se passe-t-il avec le stock captif ? les reproductions vont-elles se relancer ?
- Aucune reproduction naturelle n'a encore été observé. Le bassin est-il toujours favorable à l'accueil d'une population et à des reproductions naturelles ?

Gilles Adam souligne la qualité des interventions réalisées pendant cette réunion. En 2025, une échéance arrive et le bilan intermédiaire du PNA doit être réalisé. Les présentations de cette réunion apportent la matière à la réalisation de ce bilan. Beaucoup de questions devront être abordés dans ce bilan, dont le transfert vers l'international. Un rapport devra être réaliser. Vérifier si 'une présentation en CNPN doit être mise en place.

Alice Dechristé et Dominique Tesseyre remercient les partenaires porteurs d'actions pour ces présentations et la teneur des échanges.

Opération financée par :



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



Association MIGADO

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

www.migado.fr -    