



Projet cofinancé par la Wallonie et le FEP
Avec le soutien du « Fonds européen pour la pêche »,
investissons dans une pêche durable.



Etude de la diversité génétique et de l'état des stocks des populations de barbeaux et de hotus en Wallonie. Amélioration des techniques d'élevage en vue de repeuplements raisonnés et de transferts de connaissances vers les pisciculteurs

(Convention SPW DGO3 – FEP 32-1109-005)

Rapport final



Centre de Formation et de Recherches en Aquaculture (ULg)

V. Gennotte, C. Prignon, C. Mélard

Laboratoire de Démographie des Poissons et d'Hydroécologie (ULg)

A. Dierckx, J.-P. Benitez, M. Ovidio

Laboratoire de Génétique de la Conservation (ULg)

J. Michaux

Institut des Sciences de la Vie (UCL)

M.-C. Flamand

Septembre 2015

Centre de Formation et de Recherche en Aquaculture (CEFRA)



Université de Liège

Chemin de la Jusitce 10, 4500 Tihange

Tel : 085 27 41 50

085 27 41 54

Courriel : vgennotte@ulg.ac.be

c.melard@ulg.ac.be

cefra@ulg.ac.be

Laboratoire de Démographie des Poissons et d'Hydroécologie (LDPH)



Université de Liège

Quai Van Beneden 22, 4020 Liège

Tel : 04 366 50 27

Courriel : m.ovidio@ulg.ac.be

Comité d'accompagnement :

Olivier Detrait	SPW, DGO3, Direction des cours d'eau non navigables
Christian Ducarme	Collège des Producteurs (SOCOPRO)
Marie-Christine Flamand	Université Catholique de Louvain, ISV
François Fontaine	SPW, DGO3, Direction des programmes européens
Vincent Gennotte	Université de Liège, CEFRA
Alain Gillet	SPW, DGO2
Robert Mandiki	Université de Namur, URBE
Charles Mélard	Université de Liège, CEFRA
Pierre Mouton	Cabinet du Ministre des Travaux publics, de l'Agriculture, de la Ruralité, de la Nature, de la Forêt et du Patrimoine
Patrice Orban	SPW, DGO3, Direction des cours d'eau non navigables
Michael Ovidio	Université de Liège, LDPH
Xavier Rollin	SPW, DGO3, DNF, Direction de la Chasse et de la Pêche, Service de la pêche
Michel Villers	SPW, DGO3, DNF, Direction de la chasse et de la pêche

Summary: Condition and genetic structure of nase (*Chondrostoma nasus*) and barbel (*Barbus barbus*) populations in South Belgium. Toward a rational management of conservation restocking through the control of production techniques and know-how diffusion.

Nase (*Chondrostoma nasus*) and common barbel (*Barbus barbus*) are two rheophilic cyprinid fish naturally present in South Belgian rivers. During the last decades, the construction of dams together with changes in hydrological regimes, modifications of riverbed morphology and water pollution caused some local dramatic declines in their populations. However, recent improvements in terms of water quality and habitat fragmentation allow now to implement a rational restocking plan of locally endangered patrimonial fish species such as nase and common barbel.

To reach this goal, this project (co-funded by the European Fisheries Fund and the Wallonia Public Service) proposed to develop five complementary parts with specific objectives:

- **Review of the knowledge on nase and barbel geographical distribution and stock health in Wallonia.**

This section presents the distribution and recent evolution of populations in Europe, and more specifically in Wallonia. Areas where population declines were reported are identified. Even if a weak population expansion was reported in some isolated cases, the global status of Walloon populations is still concerning.

- **Characterization of genetic structure and diversity of South Belgium populations.**

Restocking operations for a conservation purpose have to be based on the knowledge and the use of wild type genetic strains. Nase and barbel populations from South Belgium were genetically characterized by use of microsatellites.

Globally, nase and barbel populations are structured on a basin scale. A slight genetic differentiation exists between populations from the Rhine basin and the Meuse basin, defining two conservation units, but no finer structure was observed among populations from the Meuse basin. Genetic variation was high within populations.

Genetic structure of barbel populations is more complex due to past restocking operations with different genetic lineages. An analysis of mtDNA identified 6 different haplotypes but was unable to categorize them as autochtone or allochtone.

- **Development of fish production techniques**

The complete control of fish farming is necessary to produce high quality juveniles for restocking. All the steps of the production cycle were addressed: broodstock management and reproduction, egg incubation, larval rearing and grow-out. Production systems ranging from extensive pond culture to intensive RAS were tested and the optimal farming conditions were identified (temperature, density, feeding, tank volumes, ...).

- **Adaptation assessment of farmed fingerlings to natural conditions.**

Growth and survival performances of captive farmed fish were assessed in an experimental environment that mimics natural conditions. The results suggested that the more efficient practice for restocking would be based on operations performed in spring with large juveniles (3 to 50 g).

- **Know-how diffusion toward fish farmers.**

All the breeding and grow-out techniques developed for nase and barbel production are the subject of two handbooks. These documents, attached to the report, will be published and distributed to fish producers.

Table des matières

AVANT-PROPOS	4
I. INTRODUCTION GENERALE	6
1. INTRODUCTION	6
2. OBJECTIFS ET STRATEGIE	8
II. PRESENTATION DU HOTU	10
1. DESCRIPTION	10
2. CROISSANCE	11
3. HABITAT ET COMPORTEMENT	11
4. REGIME ALIMENTAIRE	12
5. REPRODUCTION	12
III. PRESENTATION DU BARBEAU	14
1. DESCRIPTION	14
2. CROISSANCE	15
3. HABITAT ET COMPORTEMENT	15
4. REGIME ALIMENTAIRE	16
5. REPRODUCTION	16
IV. DISTRIBUTION DU HOTU	17
1. DISTRIBUTION ET EVOLUTION DES POPULATIONS EUROPEENNES	17
2. DISTRIBUTION ET EVOLUTION DES POPULATIONS EN WALLONIE	18
3. STATUT ET MESURES DE PROTECTION	21
V. DISTRIBUTION DU BARBEAU	23
1. DISTRIBUTION ET EVOLUTION DES POPULATIONS EUROPEENNES	23
2. DISTRIBUTION ET EVOLUTION DES POPULATIONS EN WALLONIE	24
3. STATUT ET MESURES DE PROTECTION	27
VI. CARACTERISATION GENETIQUE DES POPULATIONS WALLONNES DE HOTUS ET BARBEAUX	29

1. ECHANTILLONNAGE	29
2. ANALYSE GENETIQUE PAR MICROSATELLITES	32
2.1. Méthodes d'analyse	32
2.2. Résultats : le hotu	35
2.3. Résultats : le barbeau	47
3. ETUDE DE L'ADN MITOCHONDRIAL DU BARBEAU	55
3.1. Introduction	55
3.2. Méthode	57
3.3. Résultats	57
4. DISCUSSION	61
VII. MISE AU POINT ET AMELIORATION DES TECHNIQUES D'ELEVAGE DU HOTU	65
3. MATURATION SEXUELLE, REPRODUCTION ET INCUBATION	65
3.1. Reproduction de géniteurs sauvages	65
3.2. Cycle de maturation sexuelle chez le hotu en captivité : étude histologique et morphométrique du développement gonadique d'individus F1 âgés de deux ans	68
3.3. Cycle de maturation sexuelle chez le hotu en captivité : étude histologique et morphométrique du développement gonadique d'individus F1 âgés de trois ans et essai de contrôle photopériodique	80
4. ELEVAGE LARVAIRE	99
4.1. Evaluation des performances zootechniques des larves F1 de hotu à différents niveaux d'intensification des conditions d'élevage	99
4.2. Performances zootechniques des larves F2 en conditions intensives	108
5. ELEVAGE DES JUVENILES	110
5.1. Evaluation des performances zootechniques des juvéniles F1 de hotu à différents niveaux d'intensification des conditions d'élevage	110
5.2. Hivernage	114
5.3. Détermination de la ration alimentaire chez des larves et juvéniles de hotu en conditions intensives	117
5.4. Effet du confinement sur la croissance du hotu en système intensif	130
5.5. Effet de la qualité de l'aliment sur la croissance et la structure hépatique du hotu en système intensif	132
VIII. MISE AU POINT ET AMELIORATION DES TECHNIQUES D'ELEVAGE DU BARBEAU	136
1. MATURATION SEXUELLE, REPRODUCTION ET INCUBATION	136
1.1. Reproduction de géniteurs sauvages	136
1.2. Production contrôlée du barbeau : reproduction de géniteurs F1 et incubation d'individus F2	137
2. ELEVAGE LARVAIRE	145
2.1. Evaluation des performances zootechniques des larves F1 de barbeau à différents niveaux d'intensification des conditions d'élevage	145

2.2. Performances zootechniques des larves F2 en conditions intensives et extensives-----	152
3. ELEVAGE DES JUVENILES-----	158
3.1. Evaluation des performances zootechniques des juvéniles de barbeau à différents niveaux d'intensification des conditions d'élevage -----	158
3.2. Hivernage -----	161
IX. CAPACITE D'ADAPTATION AU MILIEU NATUREL DES ALEVINS PRODUITS -----	164
1. 1 ^E EXPERIENCE : SIMULATION DE REPEUPLEMENT EN RIVIERES ARTIFICIELLES AVEC DES POISSONS AGES D'1 AN -----	165
2. 2 ^E EXPERIENCE : SIMULATION DE REPEUPLEMENT EN RIVIERES ARTIFICIELLES AVEC DES POISSONS PESANT 1 G-----	169
X. TRANSFERT DES TECHNIQUES D'ELEVAGE VERS LES PRODUCTEURS -----	172
1. MANUELS D'ELEVAGE -----	173
2. ESSAI DE GROSSISSEMENT EN PISCICULTURE-----	174
3. EVALUATION DE L'INTERET PORTE PAR LES ACTEURS HALIEUTIQUES ET ENVIRONNEMENTAUX AU DEVELOPPEMENT DE MESURES DE RESTAURATION DES POPULATIONS DE HOTUS ET BARBEAUX EN WALLONIE-----	178
XI. CONCLUSIONS -----	187
XII. DIFFUSION DES RESULTATS -----	194
XIII. ANNEXES -----	195
XIV. BIBLIOGRAPHIE -----	199

AVANT-PROPOS

Les résultats de recherche décrits dans ce travail sont le fruit d'un projet de trois ans cofinancé par la Direction Générale Agriculture, Ressources naturelles et Environnement du Service Public de Wallonie (DGO3/SPW) et le Fonds Européen pour la Pêche (FEP), mené par le Centre de Formation et de Recherche en Aquaculture (CEFRA) et le Laboratoire de Démographie des Poissons et d'Hydroécologie (LDPH) de l'Université de Liège.

Nous remercions M. le Ministre C. Di Antonio (Ministère des Travaux publics, de l'Agriculture, de la Ruralité, de la Nature, de la Forêt et du Patrimoine de la Région Wallonne,) qui a accordé cette convention de recherche, et la DGARNE (Département de la Nature et des Forêts, Inspecteur général P. Blerot ; Direction de la Chasse et de la Pêche, Directeur M. Villers ; Service de la Pêche, Directeur X. Rollin) pour son soutien au projet.

De nombreux collaborateurs ont apporté leur contribution à la réalisation de ce projet. Nous les en remercions.

D. Gustin et T. Tomson (asbl CERER Pisciculture) ont participé à la réalisation des expériences zootechniques et à la récolte des échantillons sur le terrain. Les expériences d'élevage ont également été menées à bien grâce à la participation d'étudiants en Master Complémentaire en Aquaculture : B. Hoc, B. Hyangya Lwikitcha, M. Loume Diarra, G. Speeckaert et B. Thomassen.

L'analyse des microsattellites a été réalisée avec l'appui des membres du laboratoire de génétique de la conservation (ULg), en particulier F. Gillet, A. Mouton et L.M. Pigneur.

M.C. Flamand (ISLV, UCL) a réalisé l'analyse de l'ADN mitochondrial du barbeau.

Les coupes histologiques ont été réalisées par Chantal Humblet, Alice Marquet et Estelle Dortu à la plate-forme GIGA-Histologie/Immunohistologie (ULg)

Certains échantillons ont été récoltés par G. Bertrand (Service de la Pêche, SPW/DGO3).

Les données génétiques ont été encodées dans la base de données PoP-Wal en collaboration avec Olivier Lehane (ISLV, UCL).

Les déversements de poissons produits expérimentalement ont été encadrés et organisés par A. Lamotte, Y. Neus et X. Rollin du Service de la Pêche (SPW/DGO3).

Les essais de grossissement de juvéniles en étangs ont aimablement été accueillis et supervisés par R. et R. de Dorlodot à la pisciculture de Germensau.

Tout au long de ce travail, nous avons pu bénéficier des conseils scientifiques de F. Lieffrig (CER Marloie), J.C. Philippart (LDPH, ULg), P. Poncin (Unité de Biologie du Comportement, ULg) et C. Rougeot (CEFRA, ULg).

Les échantillons de hotus français ont été fournis par C. Costedoat (IMBE, Université Aix-Marseille).

Merci aux membres du comité d'accompagnement et leurs invités (C. Keulen, Y. Neus) pour leurs participations actives et constructives aux réunions.

Merci à F. Bruls (Faculté des Sciences, ULg), M.A. Jamar de Bolsée (Service de la Pêche, SPW/DG03), S. Helseviers (asbl CERER Pisciculture) et F. Fontaine (DPE, SPW/DGO3) pour la gestion administrative du projet.

I. INTRODUCTION GÉNÉRALE

1. INTRODUCTION

Au cours des dernières décennies, l'industrialisation, l'aménagement des cours d'eau pour le trafic fluvial, les pollutions et le développement des centrales hydroélectriques ont entraîné des modifications importantes de l'écologie globale des réseaux hydrographiques. Ces différents facteurs ont induit une diminution drastique des qualités physico-chimique et hydro-morphologique des cours d'eau, qui a fortement affecté l'état des populations naturelles de poissons, avec pour conséquences extrêmes la raréfaction, voire l'extinction locale ou définitive de certaines espèces à valeurs patrimoniales et halieutiques (Philippart, 2007).

Depuis une dizaine d'années, la mise en application de directives et décisions européennes en matière de protection des milieux aquatiques (Décisions Benelux de 1996 et 2009; Directive Cadre sur l'eau 2000/60/CE, règlement anguille 1100/20007) et de la biodiversité (programme Natura 2000) s'est traduite par des actions concrètes sur le terrain qui ont eu des répercussions positives sur la qualité écologique et piscicole des cours d'eau.

Grâce à la réduction des rejets toxiques industriels et agricoles, au développement des stations d'épuration et à l'assainissement significatif de l'eau et aux programmes de défragement de l'habitat dans les cours d'eau navigables (programme saumon 2000 ; Philippart & Ovidio 2009) et non navigables (Philippart & Ovidio, 2007), il est maintenant possible d'envisager une restauration durable des populations piscicoles de nos rivières. Cependant, le processus de recolonisation des cours d'eau en voie de restauration s'opère très lentement, notamment parce que le rétablissement de la libre circulation piscicole s'opère logiquement de l'aval vers l'amont et qu'il faudra de longues années avant que les géniteurs ne puissent recoloniser naturellement certains habitats potentiels situés dans les zones moyennes et supérieures du réseau hydrographique (Ovidio & Philippart, 2002). Ainsi, à moyen terme, un programme de rempoissonnement réfléchi de certaines espèces à valeur patrimoniale, basé d'une part sur l'utilisation des souches locales et d'autre part, sur la production contrôlée des alevins en élevage, constituerait une aide précieuse pour accélérer le processus de recolonisation de ces secteurs plus isolés, mais dont la qualité écologique et/ou hydromorphologique s'est améliorée.

Afin d'éviter les dérives des repoisonnements des dernières décennies, réalisés en masse avec des souches de poisson d'origines géographique et génétique diverses, il est important de mettre sur pied un programme de restauration des populations à partir du stock génétique naturel constitué par des individus capturés dans leur rivière d'origine (Philippart 1995; GIPPA 2009). A terme, la constitution de stocks de souches d'espèces indigènes à partir de géniteurs sauvages locaux identifiés au plan génétique, garantirait la qualité des individus réintroduits dans leur milieu d'origine. Cela permettrait d'éviter l'introduction de poissons d'une autre origine géographique et la perte de la spécificité génétique des souches wallonnes.

Deux espèces de cyprins rhéophiles, dont la sensibilité environnementale et la mobilité importante en font de bons indicateurs de l'intégrité écologique de nos rivières, ont été ciblées par ce projet : le hotu et le barbeau. Ces deux espèces représentent normalement 60 à 80 % de la biomasse des communautés ichtyologiques des grosses rivières de la zone à ombres et à barbeaux (Semois, Lesse, Ourthe). Cependant, les recensements scientifiques des poissons de Wallonie réalisés entre 1965 et 1981 faisaient état d'une régression marquée de différentes populations de ces deux espèces (Philippart & Vranken, 1983). Ce constat était accompagné de l'identification des causes de régression (pollution, altération physique de l'habitat, surexploitation halieutique) et des mesures de protection à mettre en œuvre pour assurer la pérennité des populations wallonnes : amélioration de la qualité de l'eau, limitation de l'incidence écologique des aménagements hydrauliques, limitation de l'incidence de la pêche et développement de techniques de propagation artificielle. L'application, ou l'initiation de ces mesures a permis d'endiguer ce déclin, voire d'observer certains cas de recolonisation locale, notamment à la faveur d'actions de repeuplement (Philippart, 2007).

La constitution de ces stocks de géniteurs captifs de barbeaux et de hotus, associé à la maîtrise des techniques de contrôle de la reproduction, de production de larves et de juvéniles, permettront la mise en place d'un programme de restauration de ces deux espèces, participant à la conservation du patrimoine piscicole, ainsi qu'à la diversification des activités de production piscicole en Wallonie.

2. OBJECTIFS ET STRATÉGIE

L'objectif de la démarche poursuivie dans ce projet est d'approfondir les connaissances nécessaires à la mise en place de repeuplements de restauration, de conservation ou de compensation pour deux espèces de cyprins rhéophiles, le hotu et le barbeau, dans un souci de conservation du patrimoine piscicole wallon.

Une telle démarche nécessite une approche intégrative, prenant en compte les données écologiques des cours d'eau (habitat) et de la faune piscicole, les caractéristiques génétiques des populations sauvages et la maîtrise de toutes les phases d'élevage des deux espèces. Les espèces cibles ne sont actuellement élevées par aucun pisciculteur belge.

Cinq volets complémentaires ont été développés pour atteindre les objectifs de ce programme :

1. Mise à jour des données sur l'état des populations de hotus et barbeaux.

L'objectif est de valoriser les informations collectées lors des opérations de prélèvements de poissons réalisées dans le cadre de ce projet, ainsi que les données récentes de pêche en région wallonne (LDPH, DEMNA), pour affiner les connaissances sur la répartition des deux espèces et les tendances démographiques constatées en 1983 (Philippart & Vranken, 1983) et 2007 (Philippart, 2007).

2. Caractérisation génétique des populations de hotus et barbeaux.

Cette étape comprend l'analyse de la différenciation et de la diversité génétique de populations géographiquement distinctes afin d'établir s'il existe des différences génétiques suffisantes ou pas justifiant la constitution de stocks spécifiques de géniteurs d'origines géographiques différentes en vue de futures opérations de repeuplement. Cette étude est basée sur l'analyse de marqueurs microsatellites chez des individus provenant de neuf zones géographiques réparties sur le bassin de la Meuse (Ton, Semois, haute-Meuse, Lesse, Sambre, Meuhaigne, basse-Meuse, haute-Ourthe, Amblève) et une située sur le bassin du Rhin (Our).

Une analyse complémentaire de l'ADN mitochondrial a été réalisée chez le barbeau afin de tenter d'identifier la souche originaire de Wallonie et les introgressions génétiques possibles, conséquences des opérations de repeuplement passées.

3. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage.

Une maîtrise complète de la zootechnie des deux espèces est nécessaire pour envisager le transfert de ces techniques vers les pisciculteurs, pouvant produire dans diverses conditions d'élevage. Le cycle d'élevage complet comprend la production de géniteurs captifs et le contrôle de la maturité sexuelle, la reproduction, l'incubation des œufs et l'élevage larvaire, et le grossissement des juvéniles jusqu'à la taille de déversement. La zootechnie d'élevage du barbeau ayant fait l'objet de recherches par le passé (Philippart, 1982; Philippart et al., 1984, 1986; Poncin, 1988, 1993a), ces techniques sont relativement bien maîtrisées. Des essais expérimentaux supplémentaires ont été nécessaires pour adapter ces techniques et diversifier les conditions d'élevage. Par contre, la zootechnie d'élevage du hotu était jusqu'à présent nettement moins bien maîtrisée (Poncin et al., 1990; Philippart, 1994) et nécessitait une réelle mise au point, particulièrement en ce qui concerne le contrôle de la reproduction et l'élevage larvaire.

4. Capacité d'adaptation au milieu naturel des alevins produits.

L'objectif était de quantifier les capacités d'adaptation au milieu naturel des alevins, en réalisant un transfert des poissons produits dans différents systèmes d'élevage vers un système expérimental mimant, pour certains facteurs (qualité et température de l'eau, disponibilité de l'aliment, milieu physique), les conditions naturelles.

5. Formation et transfert des techniques d'élevage vers les producteurs.

Il est important que les techniques d'élevage développées dans un contexte expérimental puissent être accessibles aux pisciculteurs potentiellement intéressés par la production de ces « nouvelles » espèces de repeuplement. A cette fin, les pisciculteurs implantés en Wallonie ont été informés de la démarche poursuivie dans ce projet, un essai de production en étang a été mené chez l'un d'eux et un manuel d'élevage définissant les différentes conditions et infrastructures d'élevage pour les deux espèces a été rédigé et est annexé à ce document.

II. PRÉSENTATION DU HOTU

1. DESCRIPTION

Le hotu (*Chondrostoma nasus*, Linnaeus 1758) est un poisson téléostéen de la famille des Cyprinidae (sous-famille Leuciscinae) largement distribué en Europe centrale et de l'Est, vivant dans les cours d'eau tempérés à courant vif.

Le hotu a un corps élancé d'aspect brillant (Figure II.1). Les flancs sont argentés, le dos gris-bleu à gris-vert et le ventre blanc-jaunâtre. A l'exception de la dorsale, plutôt grise, les nageoires sont gris-rougeâtre à rouge orangé. La nageoire caudale est profondément échancrée, la dorsale se situe à l'aplomb des pelviennes.

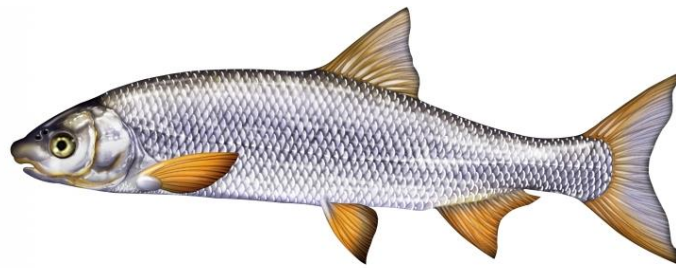


Figure II.1. Le hotu, *Chondrostoma nasus* (Linnaeus, 1758) (image : P. Dunbar)

La tête est l'élément le plus caractéristique de la morphologie du hotu. Petite, elle est composée d'un museau proéminent, de grands yeux et d'une bouche infère à fente transversale munie de lèvres épaisses, cornées et tranchantes, surtout l'inférieure, parfaitement adaptées au raclage de substrats rocheux (Figure II.2.A) (Bruslé & Quignard, 2013).

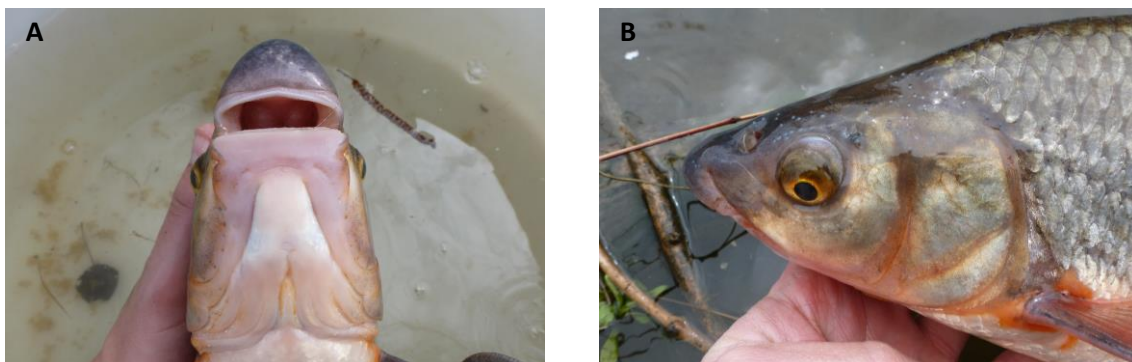


Figure II.2. Morphologie de la tête du hotu : (A) vue ventrale ; (B) vue latérale d'un géniteur portant des boutons de frai (photos : B. Hoc)

Le hotu peut atteindre une longueur maximale d'environ 50 cm pour un poids de 2 kg et une longévité pouvant dépasser 20 ans (Philippart, 1981; Zbinden et al., 2005)

2. CROISSANCE

Philippart (1977) a étudié la biologie des populations de hotus et barbeaux et modélisé la croissance de ces espèces dans l'Ourthe, qui abrite des populations parmi les plus importantes de Wallonie. La croissance du hotu dans cette rivière est relativement rapide, avec un léger dimorphisme sexuel en faveur des femelles (Figure II.3).

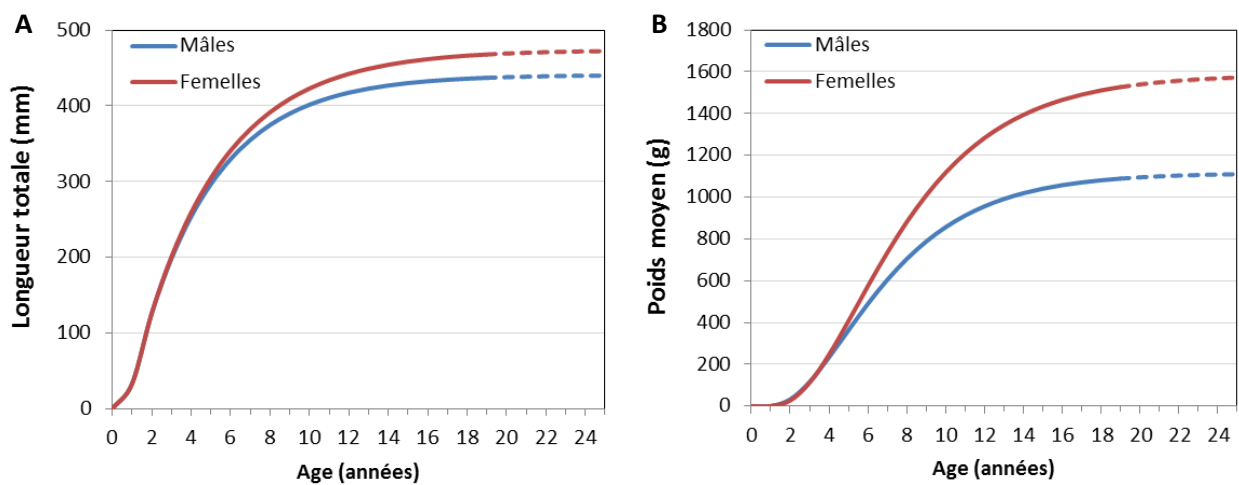


Figure II.3. Courbes de croissance linéaire (A) et pondérale (B) du hotu dans l'Ourthe, calculées d'après un modèle asymptotique de Von Bertalanffy (d'après Philippart 1977).

3. HABITAT ET COMPORTEMENT

Le hotu est une espèce rhéophile qui vit généralement dans la zone à ombres ou à barbeaux. Au cours de leur vie, les hotus peuvent migrer entre différents secteurs de la rivière. La ponte s'effectue dans des sections d'eau peu profondes à courant fort et à fond recouvert de gravier, à proximité de zones plus calmes où se réfugient les larves. En grandissant, les juvéniles puis les adultes passent progressivement vers des zones plus profondes (Nelva, 1997). Les adultes, très mobiles, remontent les cours d'eau pour atteindre les frayères, pouvant parcourir des distances de plusieurs dizaines de kilomètres (de Leeuw & Winter, 2008; Ovidio & Philippart, 2008).

Le hotu manifeste un comportement grégaire, évoluant en bancs ou en petits groupes. Alors que les juvéniles forment des agrégats composés d'individus de plusieurs espèces, les adultes s'associent en bancs monospécifiques (Nelva, 1997).

4. RÉGIME ALIMENTAIRE

L'adaptation buccale très spécialisée du hotu lui confère une niche alimentaire originale de périlithophage exclusif dont il est le seul représentant de l'ichtyofaune européenne. A l'aide de ses lèvres cornées, il racle intégralement la couverture biologique du substrat composée essentiellement d'algues (diatomées principalement, chlorophycées, cyanobactéries), mais aussi d'un faible pourcentage de protozoaires, rotifères, larves d'insectes, nématodes, crustacés, oligochètes et de débris végétaux associés à ces algues (Nelva, 1997). Les larves se nourrissent de plancton, principalement de rotifères (Maier et al., 1995). Les jeunes juvéniles, dont la bouche est encore terminale, ont un régime omnivore composé d'algues et d'une part importante de proies animales (rotifères, protozoaires, larves d'insectes, crustacés, oligochètes, nématodes). Vers 5 à 7 mois, le développement de lèvres cornées et la migration de la bouche en position infère s'accompagnent d'un changement de comportement alimentaire (raclage) et de régime qui se spécialise pour devenir presque exclusivement diatomivore (Maier et al., 1995; Nelva, 1997).

5. REPRODUCTION

La maturité sexuelle, plus précoce chez les mâles, est atteinte à l'âge de 4-7 ans (± 30 cm chez les mâles, ± 34 cm chez les femelles). La reproduction a lieu entre mars et avril, lorsque la température de l'eau est comprise entre 8 et 14 °C (Philippart, 1981). Les poissons matures migrent vers l'amont des rivières et dans les affluents pour rejoindre les zones de frai. Dans des cours d'eau fragmentés, les géniteurs dont la montaison est bloquée par un obstacle peuvent également se reproduire en aval de celui-ci, dans des conditions de flux d'eau minimal (Ovidio & Philippart, 2008).

En période de reproduction, les mâles sont plus sombres et ornés de tubercules nuptiaux (ou boutons de frai, Figure II.2.B) sur la tête. Ce caractère est moins marqué chez les femelles. La ponte est synchrone et la durée du frai est courte (1 à 6 jours). Les géniteurs se rassemblent en larges groupes sur des frayères situées dans des zones bien oxygénées, de faible profondeur (15-30 cm) disposant d'un courant élevé ($\pm 1 \text{ m s}^{-1}$) et d'un substrat constitué de graviers assez grossiers. Les œufs collants sont déposés sur le substrat sans enfouissement. La ponte d'une femelle est

généralement fécondée par plusieurs mâles (Maier et al., 1995). Une ponte peut comprendre de 10000 à 100000 œufs, la fécondité relative est d'environ 35000 œufs par kilo de femelle (Philippart, 1981; Philippart & Vranken, 1983). Les œufs mesurent de 1,7 à 2,9 mm et éclosent après une période d'incubation de 100 à 250 °C jours.

La phase de développement embryonnaire est caractérisée par une forte mortalité liée à des phénomènes de prédation, ainsi qu'à la prolifération d'algues (asphyxie des œufs) et aux variations naturelles ou artificielles de débit (Maier et al., 1995). Après l'éclosion, les larves de hotu sont photophobes et passent leurs premiers jours dans le substrat à l'abri des prédateurs. Ensuite elles dérivent vers les zones proches des berges qui joueront le rôle de nurserie (Schiemer et al., 2002).

III. PRÉSENTATION DU BARBEAU

1. DESCRIPTION

Le barbeau fluviatile (*Barbus barbus*, Linnaeus 1758) est un poisson téléostéen de la famille des Cyprinidae (sous-famille des Barbinae). Cette espèce rhéophile européenne est aisément reconnaissable à son corps allongé, caractéristique d'un bon nageur, et ses 4 barbillons entourant la lèvre supérieure (Figure III.1). Son dos est de couleur verdâtre à brun-doré, les flancs argentés, le ventre blanc jaunâtre et les nageoires orangées.

Il atteint communément une taille de 60 cm, mais les plus grands spécimens peuvent mesurer 100-120 cm pour un poids de 10-12 kg (Bianco, 1998). La longévité peut atteindre 25 ans (Bruslé & Quignard, 2013).



Figure III.1. Le barbeau fluviatile, *Barbus barbus* (Linnaeus, 1758) (image : P. Dunbar, photos : R. Verlinde, Vilda).

2. CROISSANCE

La croissance du barbeau en milieu naturel (Ourthe) est plus lente que celle du hotu, même si la taille et le poids maximaux des femelles sont plus élevés (Philippart, 1977) (Figure III.2). Le dimorphisme sexuel de croissance est bien marqué : le poids d'une femelle de 20 ans est environ 3 fois supérieur à celui d'un mâle du même âge.

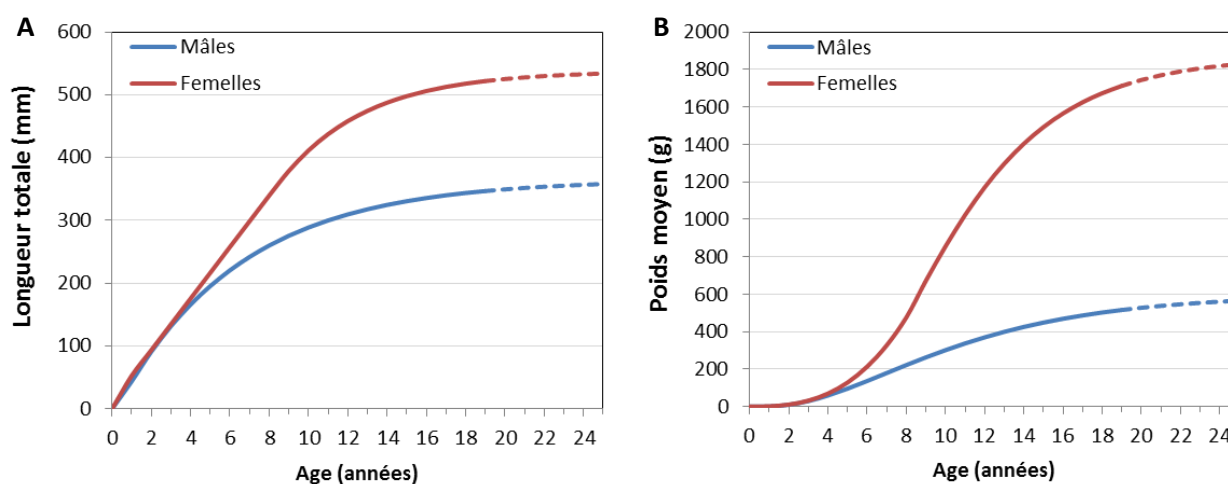


Figure III.2. Courbes de croissance linéaire (A) et pondérale (B) du barbeau dans l'Ourthe, calculées d'après un modèle asymptotique de Von Bertalanffy (linéaire pour la longueur et de type puissance pour le poids des femelles jusqu'à 8 ans) (d'après Philippart 1977).

3. HABITAT ET COMPORTEMENT

Cette espèce rhéophile, représentative de la zone à barbeaux, fréquente les cours d'eau à fond caillouteux-graveleux, à courant rapide et bien oxygénés (Bruslé & Quignard, 2013). Comme chez le hotu, les préférences de micro-habitat changent au cours du cycle de vie. Les larves et jeunes juvéniles fréquentent les zones littorales à faible courant, qui leur fournissent un refuge, alors que les plus grands individus se déplacent vers des vitesses de courant croissantes (Britton & Pegg, 2011).

Les adultes forment souvent des bancs et montrent un comportement résidentiel de homing (Baras, 1997). Ils peuvent réaliser de grandes migrations (de quelques km à quelques dizaines de km), notamment pour rejoindre les zones de frayères. Sur l'Ourthe, Ovidio et al. (2007) ont suivi par radiopistage pendant deux années consécutives des géniteurs réalisant des migrations de reproduction vers l'amont allant de 200 m à 23 km, avec un retour au gîte occupé avant la migration.

4. RÉGIME ALIMENTAIRE

Le barbeau a un régime alimentaire omnivore à dominance zoophage. Si les plus jeunes stades ont un mode d'alimentation planctonophage, le barbeau devient essentiellement benthophage en grandissant, prélevant ses proies en fouissant le substrat avec sa bouche et ses barbillons. Il se nourrit principalement de larves d'insectes, nématodes, oligochètes, crustacés et mollusques (Kraiem, 1980).

5. REPRODUCTION

La première maturité sexuelle est atteinte à 6-7 ans chez les femelles (± 35 cm), et 1 à 2 ans plus tôt chez les mâles (± 15 cm). En milieu naturel, la reproduction du barbeau a lieu en mai-juin, lorsque la température de l'eau est comprise entre 14 et 18 °C (Poncin & Philippart, 2002). La diminution de la photopériode inhibe la maturité des mâles et des femelles (Poncin, 1989). Au terme d'une migration vers l'amont, les géniteurs se regroupent pour pondre sur les frayères constituées de graviers à une profondeur < 30 cm dans un courant assez fort ($25-75 \text{ cm s}^{-1}$). Les ovules sont émis dans le substrat et fécondés par plusieurs mâles (Poncin, 1993b). La fécondité absolue peut atteindre 30000 œufs (Bruslé & Quignard, 2013) mais elle est généralement plus faible (8000 œufs pour une femelle de 40 cm) que chez d'autres cyprins rhéophiles comme le hotu (Philippart, 1987).

Les œufs non-collants, d'un diamètre de 1,9 à 2,4 mm (Britton & Pegg, 2011), éclosent après une période d'incubation d'environ 100 °C jours. Comme chez le hotu, les larves émergentes et les jeunes juvéniles trouvent refuge dans les zones littorales plus calmes. La croissance des individus 0+ est conditionnée par des températures supérieures à 13,5 °C (Baras & Philippart, 1999).

IV. DISTRIBUTION DU HOTU

1. DISTRIBUTION ET EVOLUTION DES POPULATIONS EUROPÉENNES

Le hotu est une espèce typique d'Europe centrale. Originaire du bassin du Danube, de l'Oder, de la Vistule et du Rhin, le hotu se retrouve dans la plupart des systèmes fluviaux de la mer du Nord, de la mer Baltique et de la mer Noire (Nelva, 1997). Son aire de distribution s'étend de la face nord des Alpes jusqu'à la mer du Nord et la mer Baltique (Figure IV.1). L'Oural et la mer Caspienne forment les limites d'extension orientales de l'espèce; à l'Ouest, la distribution s'étend jusqu'au bassin de la Seine, de la Loire et du Rhône. L'espèce est absente de la Grande-Bretagne, du Danemark, de la Scandinavie, de la péninsule ibérique, de la majeure partie de l'Italie et du Sud des Balkans (Kottelat & Freyhof, 2013a).

L'espèce a été volontairement introduite pour la pêche récréative dans le bassin de la Soca, en Slovénie, en 1960. Elle a rapidement pris la place de *Protochondrostoma genei* qui a disparu de la zone adriatique transfrontalière s'étalant entre le Nord-Est de l'Italie et la Slovénie (Povz, 1995).

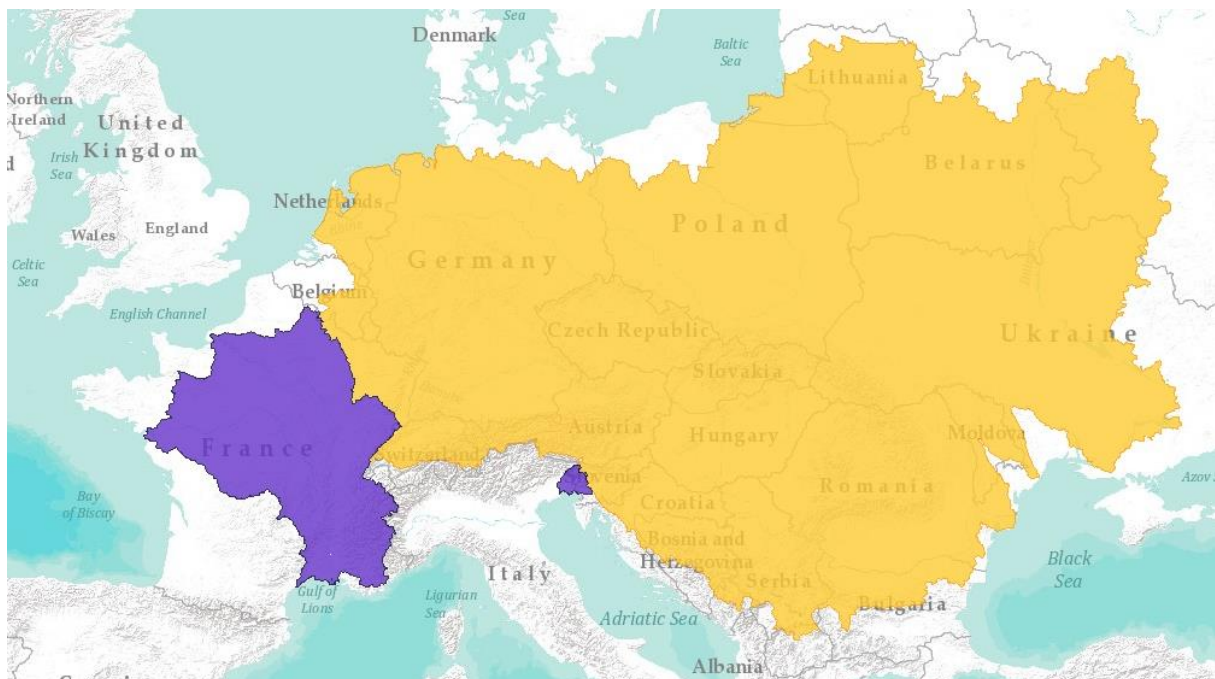


Figure IV.1. Aire de répartition géographique du hotu, *Chondrostoma nasus* (■ natif, ■ introduction ou extension récente; Kottelat & Freyhof 2013b)

L'extension récente de son aire de répartition dans le réseau hydrographique français (Seine, Loire et Rhône) résulte quant à elle d'une colonisation spontanée rendue possible et facilitée par le développement des canaux de navigation au 19^e siècle. La pénétration du hotu en France a débuté après 1850, à partir du bassin du Rhin (peut-être en partie par la Meuse) et son expansion a été rapide puisqu'elle avait atteint son maximum en une quarantaine d'années (Nelva, 1997).

Paradoxalement à cette extension, de nombreuses populations de hotu sont localement en régression depuis de nombreuses années en raison de la dégradation de la qualité de l'eau et de son habitat. En 1996, Peñáz faisait état de signaux alarmant d'un considérable déclin des populations de hotu sur l'ensemble de son aire de distribution. Les régressions démographiques les plus visibles ont été documentées dans les rivières d'Europe centrale où le hotu constituait une des espèces les plus abondantes et les plus productives de la zone à ombres et de la zone à barbeaux. Des signes évidents de déclin démographique ont notamment été mis en évidence en République Tchèque (Lusk et al., 2003), en Autriche où l'espèce a le statut de « menacée », et en Allemagne où elle est considérée comme « en danger » (Zitek, 2009). Elle est également fortement menacée dans le bassin du Rhin, en Suisse (Maier et al., 1995; Zbinden et al., 2005), qui constitue l'une de limites sud de son aire de répartition.

2. DISTRIBUTION ET ÉVOLUTION DES POPULATIONS EN WALLONIE

Le hotu est présent en Wallonie (Figure IV.2) dans le bassin de la Meuse : Meuse, Semois, Rulles, Hermeton, Lesse, Lhomme, Viroin, Eau blanche, Mehaigne, Ourthe, Ourthe occidentale et Amblève. Il est présent dans les rivières appartenant au bassin du Rhin : Sûre et Our, mais est naturellement absent du bassin de l'Escaut et de l'Oise (Philippart & Vranken, 1983; Philippart & Ovidio, 2007). En 1983, Philippart & Vranken rapportaient les plus importantes populations (> 50 kg ha⁻¹) dans la moyenne et la basse Semois, dans la Lesse en aval de la confluence avec la Lhomme, dans l'Ourthe condruzienne, et surtout dans la basse Ourthe, la basse Amblève et la basse Sûre. Cependant, bien que le statut quantitatif des populations wallonnes de hotus soit mal connu, ces auteurs ont identifié de nombreux cas de régression : en haute Semois, dans l'Ourthe occidentale (région de Cheslin), dans l'Ourthe (entre Nisramont et Maboge), dans l'Amblève (en amont du barrage de Raborive), l'Hermeton, la Mehaigne, la Berwinne et l'Our. Le hotu avait par ailleurs disparu de la Vesdre (probablement avant 1850), à l'exception de sa partie basse en aval du barrage de Lhoneux à Chênée où il est toujours présent, et était considéré comme au bord de l'extinction dans les sous-bassins de la Sambre et du Viroin.

Par rapport à l'état des lieux dressé par Philippart & Vranken en 1983, le hotu semble encore potentiellement présent dans le sous-bassin de la Sambre (7 individus pêchés dans la basse Sambre en 1995 et 1 dans la Hantes en 2006, DEMNA-SP/SPW). Les données de pêche électrique récoltées par le DEMNA-SP/SPW entre 1984 et 2014 montrent également la présence du hotu dans le Ton, l'Eau Noire, le Ruisseau de Neufchâteau (sous-affluent de la Semois) et le Samson (Figure IV.2). Il est difficile d'affirmer si ces captures sont le résultat d'un effort de pêche et d'échantillonnage accru ou représentent certains cas d'expansion de l'espèce à la faveur d'une amélioration de la qualité de l'eau.

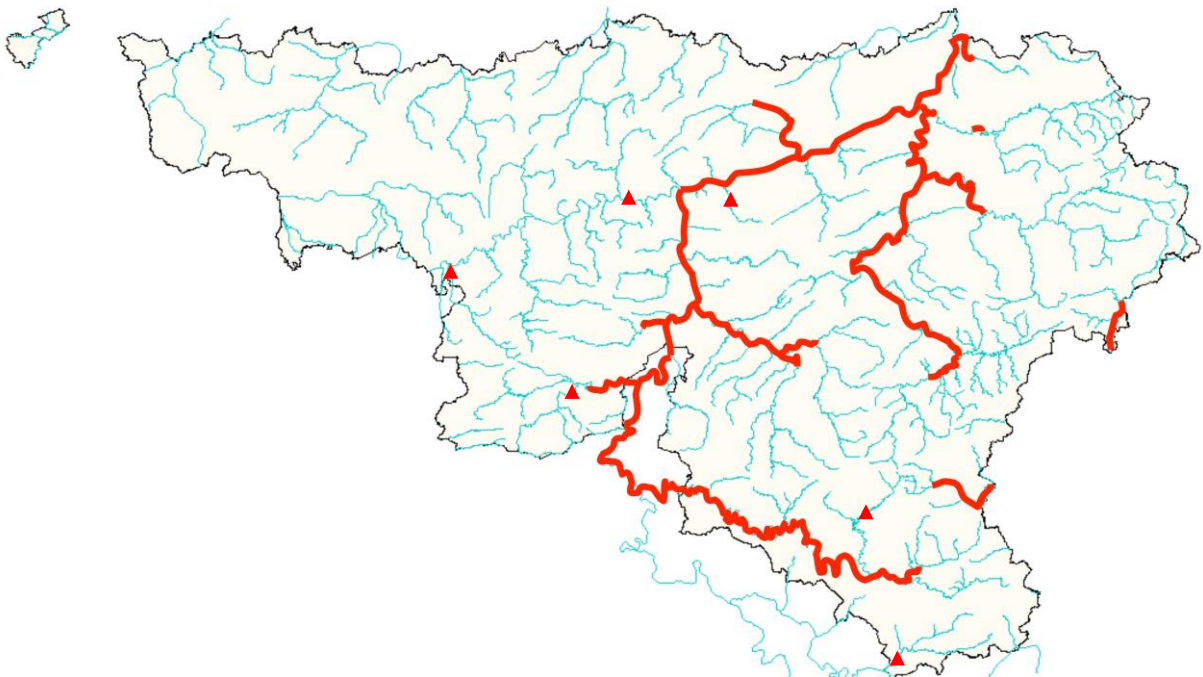


Figure IV.2. Carte de répartition du hotu, *Chondrostoma nasus*, en Wallonie (d'après Philippart & Ovidio 2007, complété par des données de captures ponctuelles ▲, DEMNA-SP/SPW).

Des cas probables de légère expansion de l'aire de distribution du hotu ont été par ailleurs observés ponctuellement à la suite de la mise en place de nouvelles échelles à poissons, de translocations et de repeuplements de réintroduction dans des rivières où la qualité de l'eau s'est globalement améliorée (Philippart, 2007).

C'est notamment le cas dans l'Amblève moyenne. Quelques individus ont été capturés dans la nouvelle échelle à poissons de Lorcé, dont un suivi par biotéléométrie a montré un déplacement jusqu'en aval de la cascade de Coö (Ovidio et al., 2009). Par ailleurs, d'autres suivis téléométriques ont mis en évidence une bonne adaptation comportementale de hotus transloqués de la basse Amblève vers l'Amblève moyenne (Benitez et al., 2013). Cet essai de translocation a montré que ces poissons

étaient capables de se retrouver sur les zones de frayère et de se reproduire dans leur nouvel habitat (Ovidio et al., sous presse).

C'est également le cas dans la Vesdre où 3 individus juvéniles (16 – 18 cm) ont été capturés en 2004 en aval du barrage de Nessonvaux. Ces individus étaient probablement issus de la translocation d'un lot d'espèces mélangées prélevé dans la basse Vesdre ou la basse Ourthe (Philippart, com. pers.).

Enfin, un premier programme de recherche visant à développer l'élevage du hotu pour le repeuplement des rivières avait conduit, entre 1993 et 1995, à des déversements de restauration dans la Meuse (n = 3193), ainsi qu'à des opérations de soutien et de compensation dans l'Ourthe (n = 1590) et l'Amblève (n = 500) (Tableau IV.1).

Tous ces poissons étaient issus de reproductions artificielles réalisées à partir de géniteurs sauvages capturés dans la Meuse à Tailfer.

Tableau IV.1. Repeuplements en hotus d'élevage en Wallonie entre 1993 et 1995 (Philippart, 2005).

Rivière Date	N	Lm (cm)	Stations
Mehaigne			
02/07/93	1849	9,3	7 stations de Moha à Wasseige
21-26/06/94	1294	6,5	4 stations de Moha à Hosdent
28/10/95	50	15/25	Moha aval barrage Willot
Ourthe			
02/07/93	800	9,3	d'Esneux à Hamoir
01/06/94	790	11/14	Nisramont
Amblève			
02/07/93	500	9,3	Comblain-au-Pont

D'autres déversements ont été réalisés dans le cadre de ce projet, dans l'Ourthe et la Vesdre, avec des juvéniles (n = 5580) issus de géniteurs provenant de la basse Ourthe (Tableau IV.2).

Tableau IV.1. Repeuplements en hotus d'élevage réalisés en Wallonie durant ce projet.

Rivière Date	N	Pm (g)	Stations
Ourthe			
13/05/13	3720	1,5/25	6 stations de Comblain-au-Pont à Esneux
Vesdre			
13/05/13	1860	1,5/25	4 stations de Trooz à Chaudfontaine

Il est difficile d'évaluer l'état des stocks actuels des populations de hotu en Wallonie. Cependant, la compilation des données de pêche électrique récoltées par le DEMNA-SP/SPW entre 1984 et 2014 permet d'établir, en première approximation, une carte de distribution des captures (Figure IV.3.).

Cette carte ne représente pas les biomasses ou les densités des populations de hotu, mais les effectifs moyens des captures de hotus pour chaque station échantillonnée par pêche électrique en Wallonie entre 1984 et 2014, sans tenir compte de l'effort de pêche.

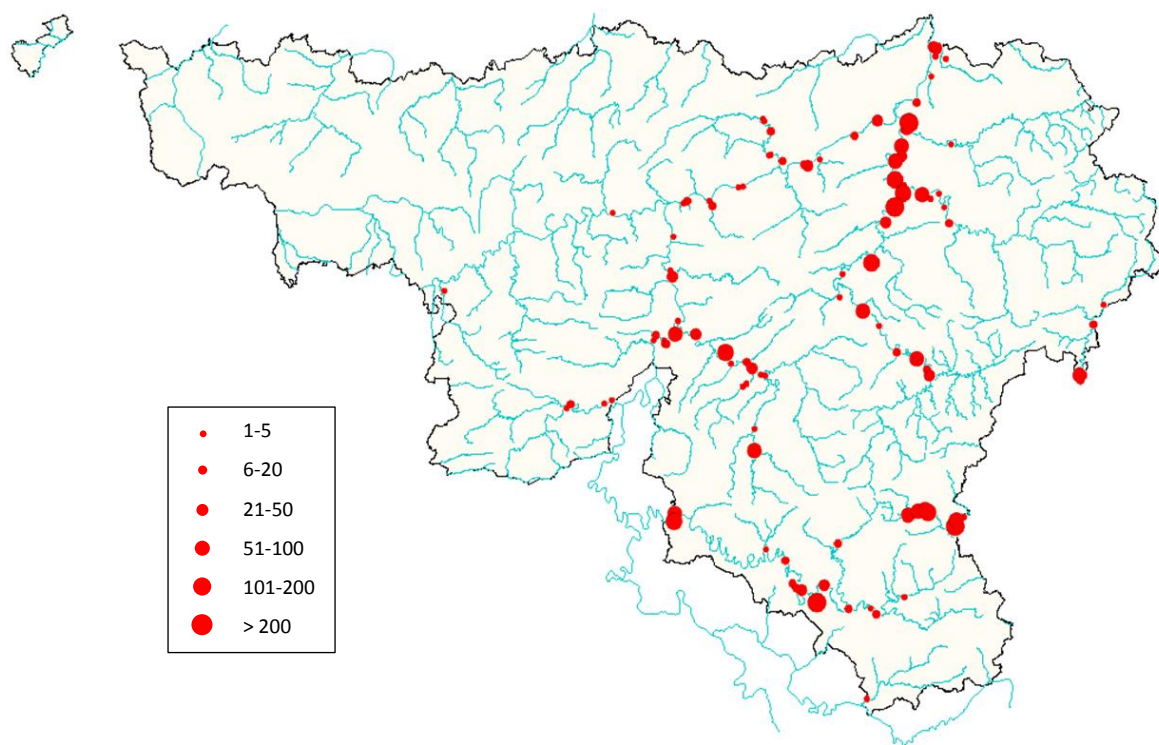


Figure IV.3. Distribution des captures (effectifs moyens) de hotus par pêche électrique en Wallonie entre 1984 et 2014 (d'après les données du DEMNA-SP/SPW).

Sur base de ces données, les populations les plus importantes semblent toujours être présentes dans la basse Ourthe et la basse Sûre, et dans une moindre mesure dans la Semois, la basse Lesse, la basse Amblève et la haute Ourthe. Si cette carte illustre cependant bien l'importance des populations dans les zones bien échantillonnées, l'observation de faibles effectifs de capture ne reflète pas nécessairement l'état des populations mais, dans de nombreux cas, l'effort de pêche. C'est par exemple le cas de la Meuse où les captures sont faibles, notamment en raison de la difficulté de réaliser des pêches électriques dans des cours d'eau de cette dimension.

3. STATUT ET MESURES DE PROTECTION

Considéré comme un poisson comestible de piètre qualité, le hotu ne représente pas un intérêt halieutique important. De plus, sa réputation non-fondée de compétiteur sur les zones de frayère,

voire même de mangeurs d'œufs d'autres espèces l'a rendu victime, par le passé, de campagnes d'extermination (Nelva, 1997). Aujourd'hui, certaines réglementations prévoient des mesures de protection pour cette espèce.

L'UICN (Union Internationale pour la Conservation de la Nature) classe actuellement *Chondrostoma nasus* dans la catégorie « préoccupation mineure », précisant toutefois que c'est une « espèce répandue mais localement menacée par la construction de barrages, la destruction des sites de reproduction et la pollution » (Kottelat & Freyhof, 2013a).

A l'échelle européenne, bien que non repris dans la directive habitats, faune, flore (Natura 2000), le hotu figure à l'annexe III de la convention de Berne, justifiant des mesures de protection en raison de sa fragilité écologique : toute exploitation de la faune sauvage énumérée à l'annexe III est réglementée de manière à maintenir l'existence de ces populations hors de danger. Ces mesures comprennent notamment : i) l'institution de périodes de fermeture et/ou d'autres mesures réglementaires d'exploitation ; ii) l'interdiction temporaire ou locale de l'exploitation, s'il y a lieu, afin de permettre aux populations existantes de retrouver un niveau satisfaisant ; iii) la réglementation, s'il y a lieu, de la vente, de la détention, du transport ou de l'offre aux fins de vente des animaux sauvages, vivants ou morts.

Au niveau régional, le hotu est mentionné dans l'annexe IV du décret du 6 décembre 2001 modifiant la loi du 12 juillet 1973 de la Conservation de la Nature qui indique (article 2) que pour la capture, le prélèvement ou la mise à mort de cette espèce, tous les moyens non sélectifs susceptibles d'entraîner localement la disparition ou de troubler gravement la tranquillité des populations sont interdits.

En Wallonie, la réglementation halieutique prévoit les mesures de protection suivantes :

Interdiction de pêche - dans les cours d'eau navigable : du 3^e samedi de mars au 1^{er} samedi de juin ;
- dans les cours d'eau non-navigable : du 1^{er} octobre au 1^{er} samedi de juin.

Taille minimale de capture : 25 cm.

Même si cette espèce est peu ciblée par les pêcheurs, l'augmentation de la taille minimale de capture, actuellement inférieure à la taille de maturité sexuelle (± 30 cm chez les mâles, ± 34 cm chez les femelles), permettrait une meilleure protection de l'espèce.

V. DISTRIBUTION DU BARBEAU

1. DISTRIBUTION ET EVOLUTION DES POPULATIONS EUROPÉENNES

Originaire du bassin du Danube (Kotlik & Berrebi, 2001), le barbeau est largement répandu en Europe (Figure V.1). Son aire de distribution s'étend de la face atlantique française au Niémen (fleuve qui se jette dans la mer Baltique) au Nord-Est, et au Dniepr (fleuve qui se jette dans la mer Noire) à l'Est. Au Sud, elle s'étend aux bassins du Rhône et du Danube, limitée par les Pyrénées, les Alpes et les montagnes du Balkan en Bulgarie. Le barbeau est également présent à l'Est de l'Angleterre, mais absent du reste des îles britanniques, de la Bretagne, du Danemark, de la Scandinavie, de la péninsule ibérique, de l'Italie et du Sud des Balkans (Philippart & Vranken, 1983; Kottelat & Freyhof, 2013b).



Figure V.1. Aire de répartition géographique du barbeau fluviatile, *Barbus barbus* (Kottelat & Freyhof, 2013b).

Malgré sa large distribution, la construction de retenues d'eau et la pollution ont occasionné d'importants déclin dans certaines populations d'Europe centrale au cours du 20^e siècle. Même si la plupart de ces populations sont aujourd'hui stabilisées, voire restaurées, l'espèce est toujours localement menacée dans les bassins en lien avec la Baltique, l'Elbe, le Boug (bassin de la Vistule) et le Dniepr (Kottelat & Freyhof, 2013b).

Le barbeau a été introduit dans de nombreuses rivières du Sud et de l'Ouest de l'Angleterre (Kottelat & Freyhof, 2013b) et dans le Nord de l'Italie où sa présence est rapportée depuis 1994 (Meraner et al., 2013).

2. DISTRIBUTION ET EVOLUTION DES POPULATIONS EN WALLONIE

En Wallonie, le barbeau se retrouve dans le bassin de la Meuse (Figure V.2) : la Meuse, le Ton, la Semois, la Rulles, la Vierre, le Viroin, l'Eau Blanche, l'Eau Noire, l'Hermeton, la Lesse, la Lhomme, la Sambre, l'Eau d'Heure, la Hantes, le Samson, la Mehaigne, la Burdinale, l'Aisne, le Ruisseau d'Heure, l'Ourthe, l'Ourthe occidentale, l'Ourthe orientale, l'Amblève, la Vesdre, la Berwinne et la Gueule. Il est également présent dans l'Our et la Sûre (bassin du Rhin) (Philippart & Vranken 1983; Philippart & Ovidio 2007).



Figure V.2. Carte de répartition du barbeau, *Barbus barbus*, en Wallonie (d'après Philippart & Ovidio 2007, complété par des données de captures ponctuelles ▲, DEMNA-SP/SPW).

En 1983, Philippart & Vranken rapportaient les populations maximales ($> 100 \text{ kg ha}^{-1}$) dans l'Ourthe, la basse Amblève, la basse et la moyenne Semois ; et des populations atteignant 30 à 100 kg ha^{-1} dans la basse Lesse, le cours inférieur de la Lhomme, la basse Rulles, la basse Berwinne, l'Eau blanche

et l'Our. Ces auteurs ont également identifié de nombreux cas de régression : en basse Meuse, dans la haute Semois, dans la Vierre, dans le sous-bassin du Viroin, dans la haute Ourthe, dans l'Ourthe occidentale et l'Ourthe orientale, dans l'Amblève en amont du barrage de Raborive, dans la Mehaigne, dans la Berwinne, dans la basse Sûre et dans l'Our. De plus, le barbeau était considéré comme en voie de disparition dans le sous-bassin de la Chiers (Vire et Ton), disparu dans la basse-Vesdre (probablement avant 1850), et totalement éteint dans le bassin de l'Escaut.

De 1984 à 2014, le barbeau a vu son aire de répartition s'accroître légèrement dans le sens d'une recolonisation de milieux où il vivait antérieurement, à la faveur d'actions de repeuplements, d'amélioration de la qualité de l'eau de plusieurs rivières (Berwinne, Vesdre, moyenne Amblève, Sambre, Hantes, Eau d'Heure, Ton) ou de défragmentation de l'habitat par la construction d'échelles à poissons (Berwinne, Mehaigne) (Philippart & Ovidio, 2007).

Sa présence a été rapportée sur le cours supérieur de l'Eau d'Heure, de la Lesse, de l'Ourthe occidentale, ainsi que sur le Bocq. Par ailleurs, l'espèce pourrait ne pas être totalement éteinte dans le bassin de l'Escaut puisque 2 adultes ont été capturés dans la Senne (affluent de la Dyle) à Quenast en 2006, ainsi qu'un alevin dans la Lasne (affluent de la Dyle) à Rosière en 2010 (Rimbaud et al., 2010).

Une première phase de repeuplement avait été entreprise dans les années 1980 et avait conduit, entre 1983 et 1989, au déversement de 85495 barbeaux répartis dans 14 rivières de Wallonie (Figure V.3.) (Philippart, 1990).

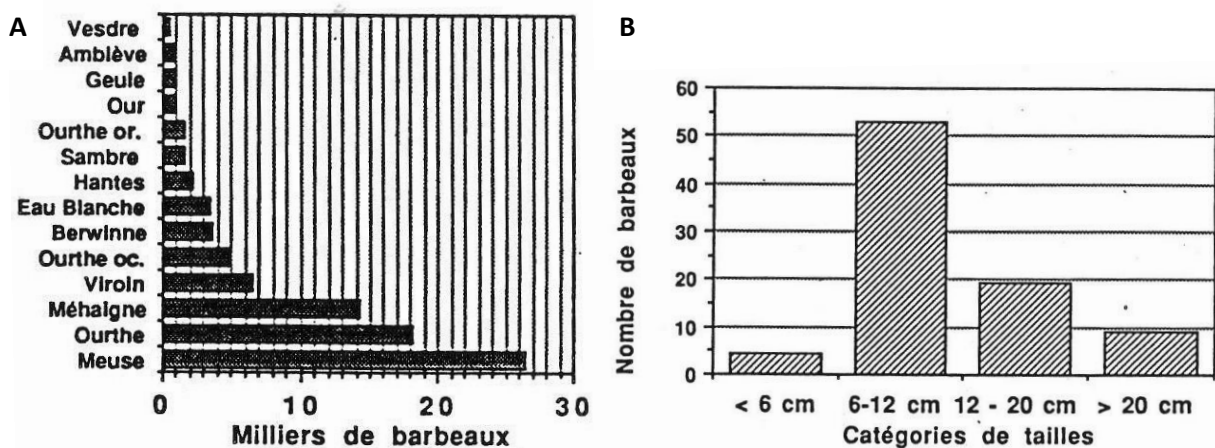


Figure V.3. Bilan des repeuplements en barbeaux effectués dans les rivières de Wallonie de 1983 à 1989 : (A) répartition par rivière ; (B) répartition par catégorie de tailles (Philippart, 1990).

Le succès de ces opérations de repeuplements a pu être apprécié par la recapture ultérieure de poisson déversés, en particulier dans la Mehaigne, le Viroin, l'Eau Blanche et la Hantes. Le cas de la

Mehaigne est particulièrement intéressant puisque le barbeau avait totalement disparu de cette rivière et a pu se réimplanter grâce à ces déversements. Dès 1989, des femelles matures et le recrutement d'une jeune génération ont pu être observés. Vingt ans plus tard, la capture régulière de juvéniles atteste de son adaptation en moyenne Mehaigne (Rimbaud et al., 2011).

Les souches utilisées pour ces opérations de repeuplement provenaient principalement de l'Ourthe, mais également de la Brouffe (affluent de l'Eau Blanche) et de la Meuse.

A la suite de ce programme de repeuplement, mené conjointement par l'ULg et la Région Wallonne, des déversements de barbeaux issus d'une souche allochtone, provenant de République Tchèque (d'une pisciculture située à Tábor, sur la rivière Lužnice, affluent de la Moldau, bassin de l'Elbe), avaient également été entrepris dans les années 1990 dans différentes rivières de Wallonie. Ces déversements ont été réalisés sur base d'initiatives personnelles, sans contrôle ni encadrement du milieu scientifique et du service public.

Il n'existe donc aucune donnée précise permettant d'apprécier l'ampleur et la distribution exacte de ces déversements. Les témoignages recueillis concernant ces déversements attestent d'opérations menées dans la Sambre et ses affluents, ainsi que dans la Mehaigne.

D'autres déversements ont été réalisés dans le cadre de ce projet, dans l'Ourthe et la Vesdre, avec des juvéniles (n = 9132) issus de géniteurs provenant de la basse Ourthe (Tableau V.1).

Tableau V.1. Repeuplements en barbeaux d'élevage réalisés en Wallonie durant ce projet.

Rivière Date	N	Pm (g)	Stations
Ourthe			
13/05/13	5688	1,5/60	6 stations de Comblain-au-Pont à Esneux
29/10/13	600	83	3 stations de Streupas à Colonster
Vesdre			
13/05/13	2844	1,5/60	4 stations de Trooz à Chaudfontaine

Comme pour le hotu, la compilation des données de pêche électrique (DEMNA-SP/SPW) récoltées entre 1984 et 2014 a permis d'établir une carte qui nous donne des indications sur la situation actuelle des stocks de barbeaux en Wallonie (Figure V.4). Cette carte ne représente pas les biomasses ou les densités des populations de barbeaux, mais les effectifs moyens des captures pour chaque station échantillonnée par pêche électrique en Wallonie entre 1984 et 2014, sans tenir compte de l'effort de pêche.

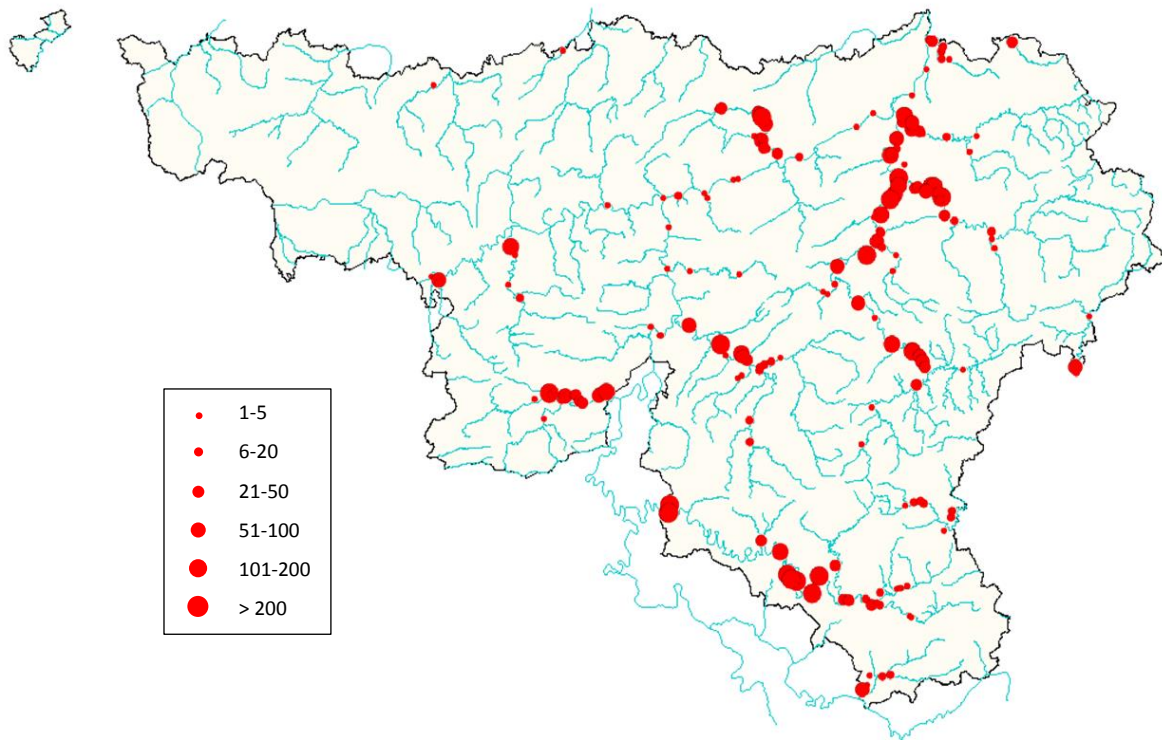


Figure V.4. Distribution des captures (effectifs moyens) de barbeaux par pêche électrique en Wallonie entre 1984 et 2014 (d'après les données du DEMNA-SP/SPW).

Sur base de ces données, les populations les plus importantes semblent toujours être présentes dans l'Ourthe, la basse Amblève, la basse et la moyenne Semois. Des effectifs relativement importants ont également été enregistrés sur la basse Lesse, le Viroin, et la basse Vesdre. Si cette carte illustre cependant bien l'importance des populations dans les zones bien échantillonnées, l'observation de faibles effectifs de capture ne reflète pas nécessairement l'état des populations mais, dans de nombreux cas, l'effort de pêche. C'est par exemple le cas de la Meuse où les captures sont faibles, notamment en raison de la difficulté de réaliser des pêches électriques dans des cours d'eau de cette dimension.

3. STATUT ET MESURES DE PROTECTION

Les menaces qui ont pesé sur le barbeau et le déclin de certaines populations dans les rivières européennes lui a valu le statut d'espèce vulnérable au cours du 20^e siècle (Philippart, 2007). Actuellement, l'UICN attribue à l'espèce le statut de « préoccupation mineure », en raison de sa

large distribution. Ce classement est global et n'empêche que l'espèce soit menacée localement, comme c'est le cas dans le bassin de l'Escaut (Kottelat & Freyhof, 2013b).

A l'échelle européenne, le barbeau figure aux annexes IV et V de la directive 92/43/CE habitats, faune, flore (Natura 2000) qui attribuent à l'espèce un intérêt communautaire nécessitant une protection stricte, et interdisent l'utilisation de moyens non sélectifs de prélèvement, de capture et de mise à mort.

Cette interdiction est transcrite au niveau régional dans le décret du 6 décembre 2001 modifiant la loi du 12 juillet 1973 de la Conservation de la Nature (annexe IV).

En Wallonie, la réglementation halieutique prévoit les mesures de protection suivantes :

Interdiction de pêche - dans les cours d'eau navigable : du 3^e samedi de mars au 1^{er} samedi de juin ;

- dans les cours d'eau non-navigable : du 1^{er} octobre au 1^{er} samedi de juin.

Taille minimale de capture : 30 cm.

Comme pour le hotu, la taille minimale de capture actuelle du barbeau est en-dessous de la taille de maturité sexuelle des femelles (\pm 35 cm). Une augmentation de la taille minimale de capture, assurant une meilleure protection de l'espèce, est donc recommandée également pour le barbeau.

VI. CARACTÉRISATION GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS WALLONNES DE HOTUS ET BARBEAUX

1. ECHANTILLONNAGE

L'échantillonnage a été réalisé par pêche électrique sur 10 stations appartenant à différents cours d'eau répartis sur le territoire wallon, 9 appartenant au bassin hydrographique de la Meuse : haute-Meuse, Ton, Lesse, moyenne-Amblève, haute-Semois, haute-Ourthe, basse-Meuse et haute-Sambre ; 1 au bassin du Rhin : Our. Les individus échantillonnés sur l'Ourthe à Angleur et sur la Meuse à Lixhe (station basse-Meuse) ont été capturés dans les pièges situés au niveau des échelles à poissons.

Sur chaque individu, un petit morceau de nageoire (pelvienne ou caudale) a été prélevé sous anesthésie et conservé dans de l'éthanol jusqu'à l'extraction de l'ADN.

Au total, 177 hotus et 311 barbeaux ont été échantillonnés (Tableau VI.1, Figure VI.1.A). Nonante-trois échantillons de hotu provenant des bassins de la Loire (Allier), de la Seine (Chée) et du Rhône (Ardèche) (fournis par l'Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie marine et continentale) ont également été analysés afin de comparer les caractéristiques génétiques des poissons issus des principaux bassins hydrographiques wallons à des celles de poissons provenant de bassins hydrographiques français géographiquement plus éloignés (Tableau VI.1, Figure VI.1B).

L'objectif initial d'échantillonnage était de 40 individus / station pour chaque espèce. Un effort de pêche suffisant a été déployé sur chaque station, excepté sur la Lesse où des pêches plus en aval, sur des secteurs hébergeant des populations plus abondantes des 2 espèces, auraient probablement permis un échantillonnage plus important. Dans les autres cas, les effectifs échantillonnés reflètent probablement l'abondance locale de chaque espèce.

Ces données appuient les constats de déclin des populations de hotu observés dans le Ton, le bassin du Viroin, de la Sambre et dans la Meuse (voir IV.2). Même si les populations de barbeau semblent plus abondantes sur les cours d'eau échantillonnés, un constat semblable peut également être dressé sur le bassin de la Sambre et la Meuse. La Meuse est cependant un cas particulier (voir V.2) et une seule pêche a été réalisée sur ce cours d'eau (contre 2 dans la plupart des autres) où la population de barbeaux semble en voie de recouvrement (Rimbaud et al., 2011).

VI. Caractérisation génétique des populations wallonnes de hotus et barbeaux

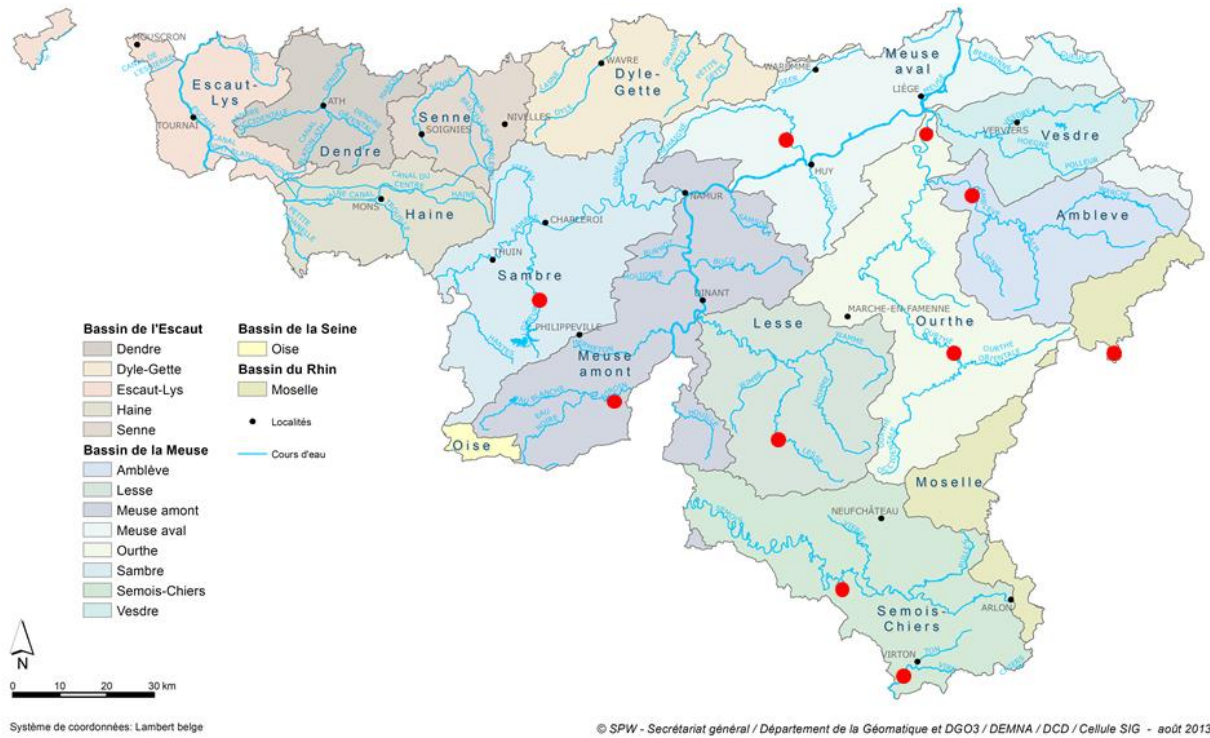
Pour les 2 espèces des effectifs plus importants, indiquant des populations avec un statut plus favorables, ont pu être capturés sur la Semois, la basse-Meuse, l'Ourthe, la basse Amblève et l'Our.

Tableau VI.1. Nombre d'individus et provenance géographique des hotus et barbeaux échantillonnés pour l'analyse génétique.

Bassin hydrographique	Nom station	Cours d'eau	Localité	n hotus	n barbeaux
Meuse	Ton	Ton	Lamorteau	3	44
Meuse	Semois	Semois	Lacuisine	40	40
Meuse	Haute-Meuse	Viroin	Mazée, Vierves, Olloy	0	19
Meuse	Lesse	Lesse	Daverdisse	0	4
Meuse	Sambre	Eau d'Heure	Pry	0	11
Meuse	Mehaigne	Mehaigne	Moha	0	11
Meuse	Basse-Meuse	Meuse, Ourthe	Lixhe, Angleur, Méry	32	52
Meuse	Haute-Ourthe	Ourthe	Nisramont, Hotton	32	40
Meuse	Amblève	Amblève	Comblain-au pont, Heid-de-Goreux, Venne, Coe	26	47
Rhin	Our	Our	Ouren	44	43
Loire	Allier	Allier	Coudes	31	0
Seine	Chée	Chée	Vitry-le-François	31	0
Rhône	Ardèche	Ardèche	Saint Just	31	0
Total				270	311

VI. Caractérisation génétique des populations wallonnes de hotus et barbeaux

A



B

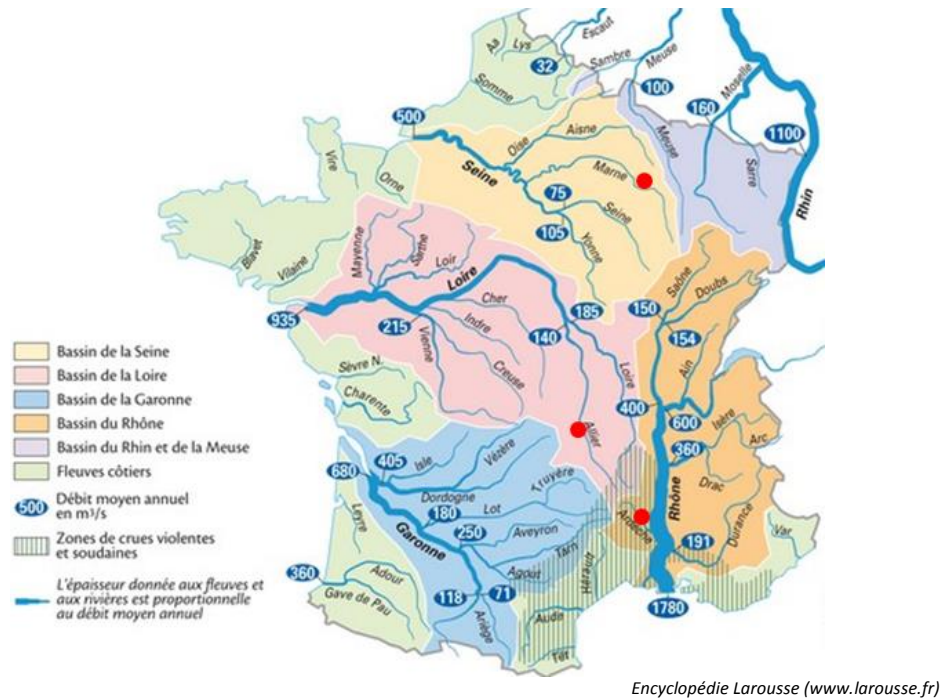


Figure VI.1. Distribution des stations d'échantillonnage (points rouges) de hotus et barbeaux en Wallonie (A) et en France (B).

2. ANALYSE GÉNÉTIQUE PAR MICROSATELLITES

2.1. Méthodes d'analyse

La caractérisation génétique des populations piscicoles provenant des différentes stations d'échantillonnage a été faite par l'utilisation de microsatellites. Les microsatellites sont des séquences d'ADN composées de motifs répétitifs dont le polymorphisme permet leur utilisation comme marqueurs génétiques pour l'étude des populations. La première étape de cette étude consistait à identifier les microsatellites pour chaque espèce et les amorces permettant leur amplification par PCR (polymerase chain reaction). Les amorces (ou primers) sont de courtes séquences d'ADN complémentaires des régions flanquantes de la séquence d'intérêt (microsatellite) permettant sa réplication (amplification) par une ADN polymérase. Une fois ces séquences identifiées, l'amplification proprement dite des marqueurs d'intérêt est réalisée par PCR multiplex. Cette technique permet, avec l'utilisation d'amorces marquées par des fluorochromes, d'amplifier plusieurs microsatellites dans une même réaction. La combinaison de fluorochromes associés à des amplicons de tailles différentes permet le discernement des allèles lors du génotypage. Le génotypage est réalisé grâce à un séquenceur à capillaires. Il permet de caractériser l'identité génétique de chaque individu sur base de la longueur des allèles (nombre de répétitions) des microsatellites d'intérêt.

2.1.1. Identification des amorces, conditions d'amplification et génotypage

L'ADN a été extrait des échantillons de nageoire à l'aide de kits DNeasy Blood & Tissue (Qiagen). A partir de l'ADN extrait, des tests d'amplification ont été réalisés pour identifier des couples d'amorces permettant l'amplification de microsatellites. Chaque couple d'amorces a été testé sur un minimum de 3 individus issus de stations différentes (Ton, Our, Amblève).

L'amplification des marqueurs s'est faite par PCR en utilisant le kit Multiplex PCR (Qiagen), dans un volume final de 10 µl contenant 1 µl d'extrait ADN. Les conditions d'amplification étaient les suivantes : 15 min à 95 °C suivies par 30 cycles (45 s à 94 °C, 90 s à 57 °C, 1 min à 72 °C) et une élongation finale de 30 min à 72 °C. Les produits d'amplification ont été identifiés après électrophorèse sur gel d'agarose 2 % coloré au Midori Green (Nippon Genetics).

Vingt-quatre couples d'amorces amplifiant des marqueurs microsatellites polymorphes chez 15 espèces de cyprinidés (dont *C. nasus*) (Dubut et al., 2010) ont été testés sur nos échantillons de hotu et ont été retenus et utilisés pour le génotypage des 270 échantillons de hotu (Annexe 1) : *BL1-2b*,

VI. Caractérisation génétique des populations wallonnes de hotus et barbeaux

BL1-30, BL1-84, BL1-153, LleA-029, LleA-071, LleC-090, LceC1, Lsou19, BL1-98, BL2-114, LleA-150, Lsou05, Lsou08, Lsou29, Lsou34, Ppro132, CnaB-030, CnaD-112, CtoA-247, CtoA-256, CtoE-249, LCO3, Rser10.

Parmi 49 couples d'amorces développées sur différentes espèces de cyprinidés (Dubut et al., 2010), et plus spécifiquement chez des espèces du genre *Barbus* (Chenuil et al., 1999; Gettová et al., 2013) et testées chez le barbeau, 21 ont été retenus et utilisés pour le génotypage des 311 échantillons de barbeau (Annexe 2): *Barbus28, Barbus32, Barbus35, Barbus37, Barbus4, Barbus11, Barbus21, Barbus26, Barbus27, Barbus31, Barbus47, Barbus55, Barbus56, Barbus57, Barbus63, Barb59, Barb79, Barbus38, Barbus39, Barbus50, Barbus62.*

Les conditions de PCR multiplex, notamment les concentrations de certains primers, ont été adaptées d'après les travaux de Dubut et al., (2010) et (Gettová et al., 2013) à nos conditions de travail afin d'optimiser les signaux obtenus lors du génotypage. Les cycles d'amplification étaient semblables à ceux décrits ci-dessus.

Les produits PCR ont été génotypés sur un séquenceur à capillaire ABI 3130XL utilisant le standard de taille GeneScan-500 (LIZ) (Applied Biosystems). La lecture des résultats et l'interprétation allélique ont été réalisées grâce au programme GeneMapper 4.0 (Applied Biosystems).

2.1.2. Structure génétique des populations

Une approche bayésienne a été utilisée pour rechercher les groupements (clusters) génétiques, basés sur les génotypes microsatellites indépendamment de l'origine géographique, grâce à STRUCTURE 2.3 (Pritchard et al., 2000). Le nombre de clusters génétiques (K) a été déduit en répétant 10 analyses pour $K = 1$ à $K = 10$, utilisant le modèle *admixture*, 1×10^5 *burn-in* et 1×10^6 répétitions de *Markov Chain Monte Carlo* (MCMC). La valeur de K qui correspond au mieux à la structure du jeu de donnée a été déterminée grâce à STRUCTURE HARVESTER (Earl & vonHoldt, 2011), utilisant la correction d'Evanno (Evanno et al., 2005). Les représentations graphiques des résultats d'appartenance aux clusters génétiques ont été générées grâce à CLUMPAK (Kopelman et al., 2015). L'analyse factorielle des correspondances (AFC), qui représente la proximité entre chaque génotype individuel dans un graphique bidimensionnel basé sur la distribution des fréquences alléliques a été réalisée sur GENETIX 4.05. Les jeux de données utilisés pour l'AFC ont été classés par populations géographiques.

Par rapport au hotu, qui est une espèce diploïde, l'analyse de la structure et de la diversité génétique des populations de barbeau présente des particularités liée au caractère tétraploïde de son génome.

VI. Caractérisation génétique des populations wallonnes de hotus et barbeaux

Comme il n'existe pas d'outils permettant l'analyse de la structure génétique des populations d'espèces tétraploïdes, la discrimination des clusters génétiques a été réalisée sur base des marqueurs microsatellites disomiques chez le barbeau. Ces marqueurs présentent un mode de transmission héréditaire vraisemblablement semblable aux gènes d'un organisme diploïde, avec seulement 1 ou 2 allèle(s) par locus présent(s) chez un individu. L'utilisation de marqueurs présentant un mode ségrégation disomique permet l'utilisation de méthodes d'analyse développées pour les organismes diploïdes (Welsh & May, 2006).

Sur les 21 microsatellites sélectionnés chez le barbeau, 12 étaient disomiques et ont été utilisés pour l'analyse de la structure génétique des populations : *Barbus28*, *Barbus32*, *Barbus21*, *Barbus26*, *Barbus31*, *Barbus47*, *Barbus56*, *Barbus57*, *Barbus63*, *Barbus59*, *Barbus50*, *Barbus62*.

2.1.3. Diversité et différenciation génétique

Les indices intra- et inter-populationnels ont été calculés sur base de données alléliques de l'ensemble des individus de chaque population géographique. La différenciation génétique a été évaluée par l'indice de différenciation populationnel de Nei (Nei, 1973), G_{ST} , et par l'indice de fixation F_{ST} (Weir & Cockerham, 1984). La diversité génétique a été évaluée en calculant les taux d'hétérozygotie observée (H_o) et attendue (H_e), la richesse allélique (A_r) (Mousadik & Petit, 1996) et le coefficient de consanguinité F_{IS} dont le calcul est basé sur les valeurs d'hétérozygotie. La richesse allélique mesure le nombre d'allèles présents à chaque locus en tenant compte de leurs fréquences.

Les indices de diversité et de différenciation génétique ont été calculés grâce au pack *diveRSity* v1.7.6 (Keenan et al., 2013). Pour le barbeau, le programme *ATetra* (Van Puyvelde et al., 2010), développé spécifiquement pour les espèces tétraploïdes, a été utilisé pour calculer les valeurs de G_{ST} .

Les sources principales de diversité génétique (intra- vs inter-populationnelles) ont été évaluées par une analyse moléculaire de la variance (AMOVA) grâce au programme *ARLEQUIN* 3.5 (Excoffier & Lischer, 2010). Pour cette analyse, deux groupes ont été constitués, un comportant les populations du bassin mosan, et l'autre la population de l'Our représentant le bassin rhénan.

2.2. Résultats : le hotu

2.2.1. Structure génétique des populations

2.2.1.1. Vue d'ensemble

Les résultats fournis par le programme STRUCTURE suggère l'existence de 5 clusters génétiques différenciés au sein des hotus analysés. Les individus provenant du Ton, de la Semois, de la basse-Meuse, de la haute-Ourthe et une partie (10 sur 26) des individus provenant de l'Amblève (bassin de la Meuse) montrent une grande similitude de structure génétique, avec une forte appartenance au cluster *K1* (en bleu dans la Figure VI.2). Certains individus issus de ces rivières présentent cependant des combinaisons d'appartenance aux 5 clusters identifiés. Une assignation semblable à celle de ces poissons issus du bassin de la Meuse se retrouve chez les individus provenant de la Chée (bassin de la Seine) (Figures VI.2. et VI.3).

Les hotus provenant de l'Our sont bien caractérisés avec une forte assignation au cluster *K2* (en vert dans la Figure VI.2). De même, les individus provenant de l'Allier (bassin de la Loire) et de l'Ardèche (bassin du Rhône) sont bien différenciés et représentés par le cluster *K5* (en orange dans la Figure VI.2).

Enfin, 2 groupes mineurs (*K3* en jaune et *K4* en rouge dans la Figure VI.2) se distinguent parmi les hotus provenant de Wallonie. Les 18 individus assignés au groupe *K3* proviennent de l'Amblève. Le groupe *K4* caractérise 4 individus (3 provenant de l'Our et 1 de la basse-Meuse) possédant un génotype particulier. Etant donné l'isolement génétique de ces 2 groupes, clairement visible dans les Figures VI.5 et VI.7, ils ont été retirés de l'analyse dans la Figure VI.3, afin de pouvoir pleinement visualiser la distribution de l'ensemble des autres individus. De plus, dans le cas de *K3*, une analyse plus poussée a mis en évidence une filiation forte entre ces individus, biaisant ainsi les résultats de clustering (voir VI.2.2.1.4).

La distribution des individus sur base de leurs fréquences alléliques (Figure VI.3) montre une assez large variabilité parmi les individus provenant du bassin de la Meuse, groupés avec ceux de la Chée (bassin de la Seine). Ce groupe montre par ailleurs un certain recouvrement avec les distributions de l'Our (bassin du Rhin) et de l'Ardèche (bassin du Rhône).

VI. Caractérisation génétique des populations wallonnes de hotus et barbeaux

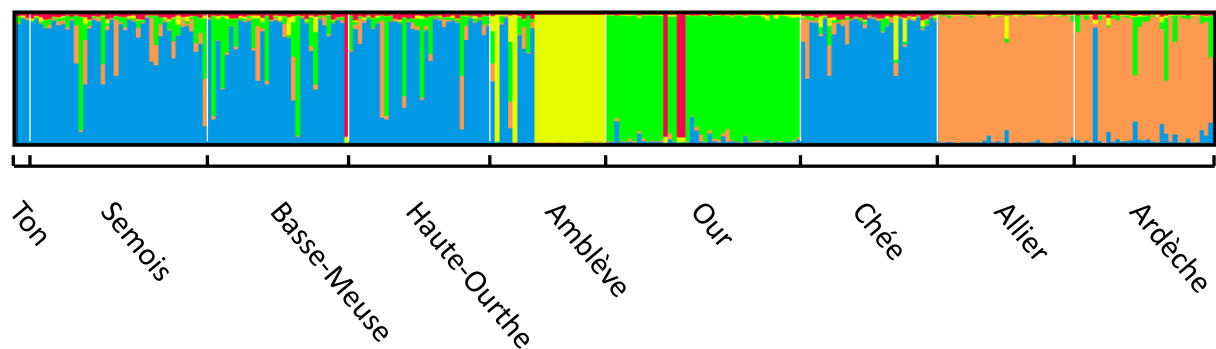


Figure VI.2. Clusters génétiques définis par l'analyse STRUCTURE chez le hotu, après correction d'Evanno ($K = 5$; ■ K1, ■ K2, ■ K3, ■ K4, ■ K5 ; annexe 3.A). Les 270 individus analysés sont représentés. Les lignes verticales représentent l'appartenance de chaque individu aux clusters génétiques.

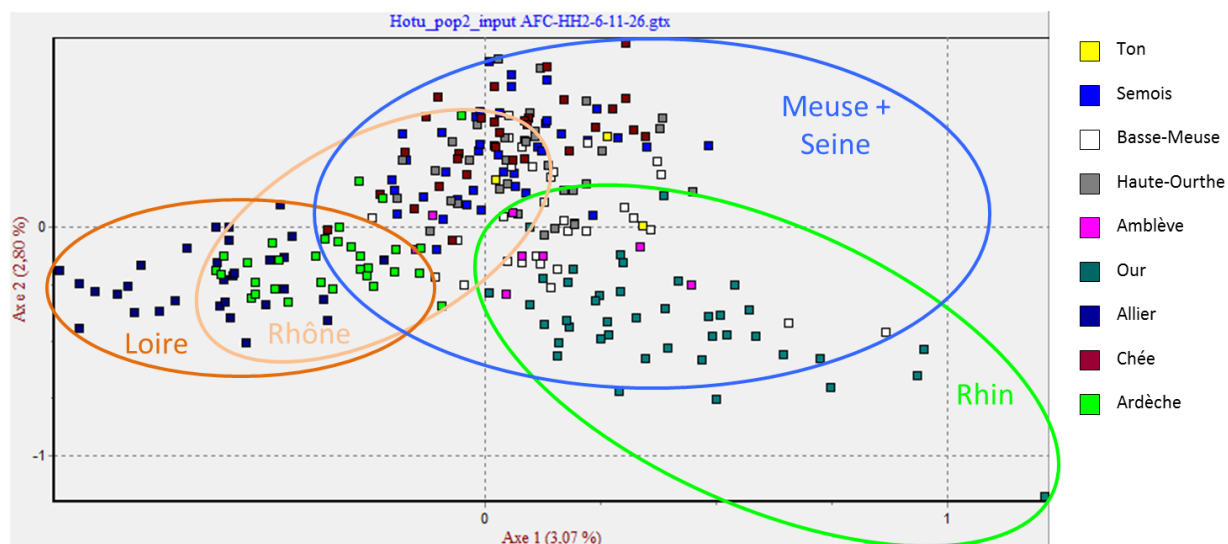


Figure VI.3. Résultats graphiques de l'analyse factorielle des correspondances alléliques chez le hotu. Afin d'améliorer la lisibilité des résultats, les individus appartenant aux clusters mineurs ■ K3 et ■ K4 ne sont pas représentés (voir explication dans le texte).

2.2.1.2. Wallonie

Dans cette partie, l'analyse a porté sur les échantillons provenant de Wallonie uniquement. Ceux provenant de France (Chée, Allier et Ardèche) ont été retirés du jeu de données. La structuration des populations est semblable à celle décrite à la section VI.2.2.1.1 (Figure VI.2), le cluster 5 (K5 associé aux populations françaises de l'Allier et de l'Ardèche) en moins (Figure VI.4).

VI. Caractérisation génétique des populations wallonnes de hotus et barbeaux

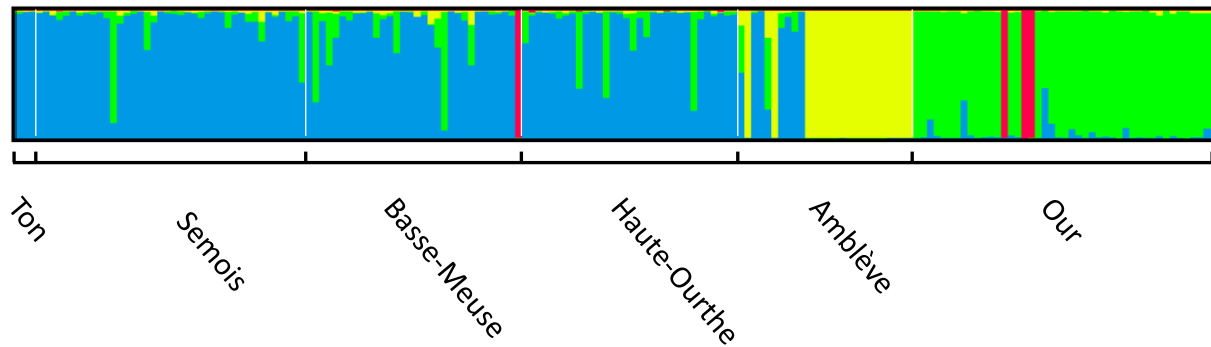


Figure VI.4. Clusters génétiques définis par l'analyse STRUCTURE chez le hotu, après correction d'Evanno ($K = 4$; ■ K1, ■ K2, ■ K3, ■ K4; annexe 3.B), dans les populations wallonnes. Les lignes verticales représentent l'appartenance de chaque individu aux clusters génétiques.

L'AFC réalisée sur l'ensemble des hotus wallons (Figure VI.5) montre une grande distance génétique entre les 4 individus assignés à K4 et les autres individus provenant de l'Our et du bassin de la Meuse.

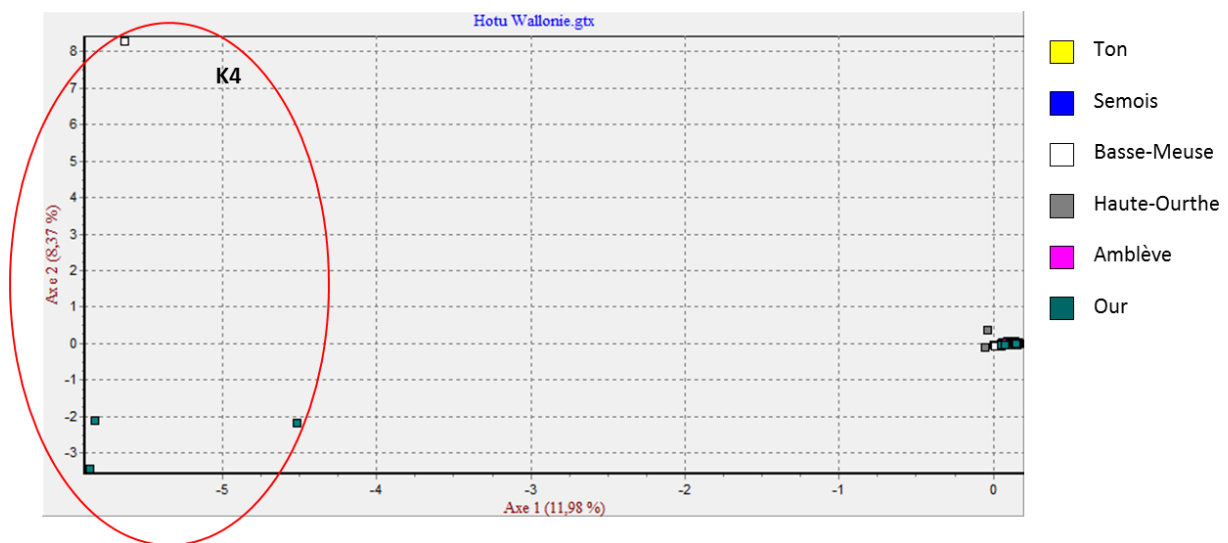


Figure VI.5. Résultats graphiques de l'analyse factorielle des correspondances alléliques chez les hotus échantillonnés en Wallonie.

Une analyse comparable réalisée en retirant ces 4 individus ($K4$) du jeu de données ne modifie pas les assignations (Figure VI.6) mais permet un meilleur discernement des différences génétiques entre les autres populations et fait apparaître un groupe formant une lignée génétique distincte (Figure VI.7), caractérisée par une appartenance au cluster $K3$ (en jaune dans la Figure VI.7). Ce groupe, composé de 18 individus provenant de l'Amblève, ne présente aucun mélange avec le cluster $K1$

VI. Caractérisation génétique des populations wallonnes de hotus et barbeaux

caractérisant principalement les autres hotus provenant de l'Amblève et du bassin de la Meuse de manière plus générale.

Une analyse plus fine du génotype de ces individus a révélé des liens de parenté étroits entre eux (ces poissons appartiennent à la même famille ; voir 2.2.1.4, p 42). L'échantillonnage de ces poissons n'était donc pas représentatif de la population de l'Amblève, et, afin de ne pas biaiser les analyses, les 16 juvéniles appartenant à la même fratrie n'ont pas été pris en compte dans la suite.

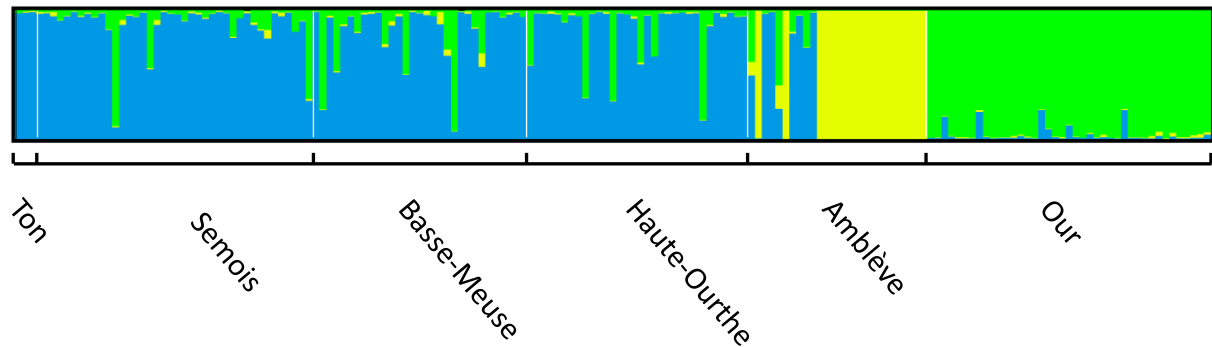


Figure VI.6. Clusters génétiques définis par l'analyse STRUCTURE chez le hotu, après correction d'Evanno ($K = 3$; ■ K1, ■ K2, ■ K3 ; annexe 3.C), dans les populations wallonnes. Les 4 individus assignés au cluster K4 ont été retirés de l'analyse. Les lignes verticales représentent l'appartenance de chaque individu aux clusters génétiques.

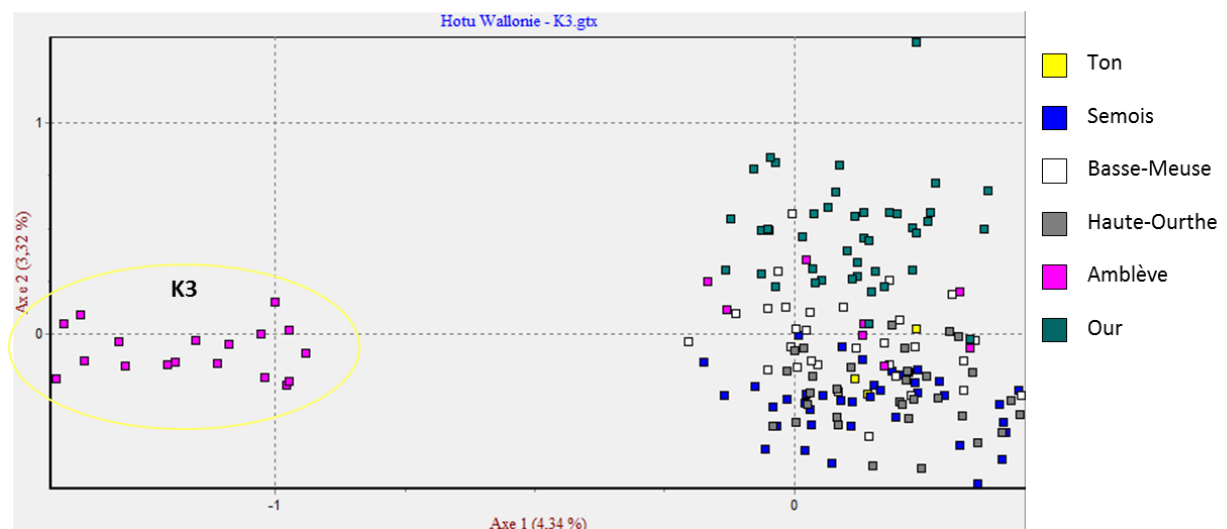


Figure VI.7. Résultats graphiques de l'analyse factorielle des correspondances alléliques chez les hotus échantillonnés en Wallonie, sans les 4 individus assignés au cluster K4.

VI. Caractérisation génétique des populations wallonnes de hotus et barbeaux

Sans ces individus, la majorité des hotus wallons sont assignés à 2 clusters génétiques (Figure VI.8). Un caractérisant principalement les poissons provenant des rivières du bassin de la Meuse (Ton, Semois, basse-Meuse, haute-Ourthe et Amblève) et l'autre caractérisant les poissons de l'Our (bassin du Rhin).

Sur base de la distribution des fréquences alléliques, ces 2 groupes montrent une importante variabilité intra-groupe et sont relativement bien différenciés, même si certains individus provenant du bassin de la Meuse et du Rhin présentent des caractéristiques génotypiques semblables (Figure VI.9).

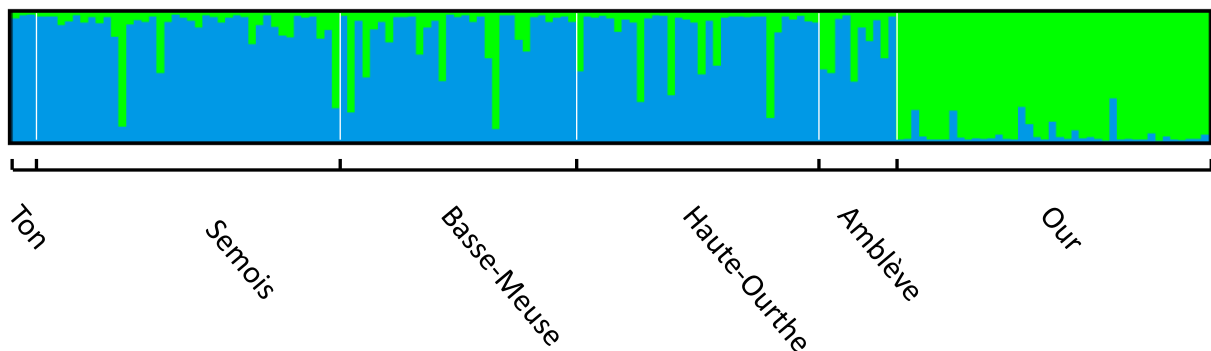


Figure VI.8. Clusters génétiques définis par l'analyse STRUCTURE chez le hotu, après correction d'Evanno ($K = 2$; ■ K1, ■ K2; annexe 3.D), dans les populations wallonnes. Les 4 individus assignés au cluster K4 et les 16 juvéniles assignés au cluster K3 ont été retirés de l'analyse. Les lignes verticales représentent l'appartenance de chaque individu aux clusters génétiques.

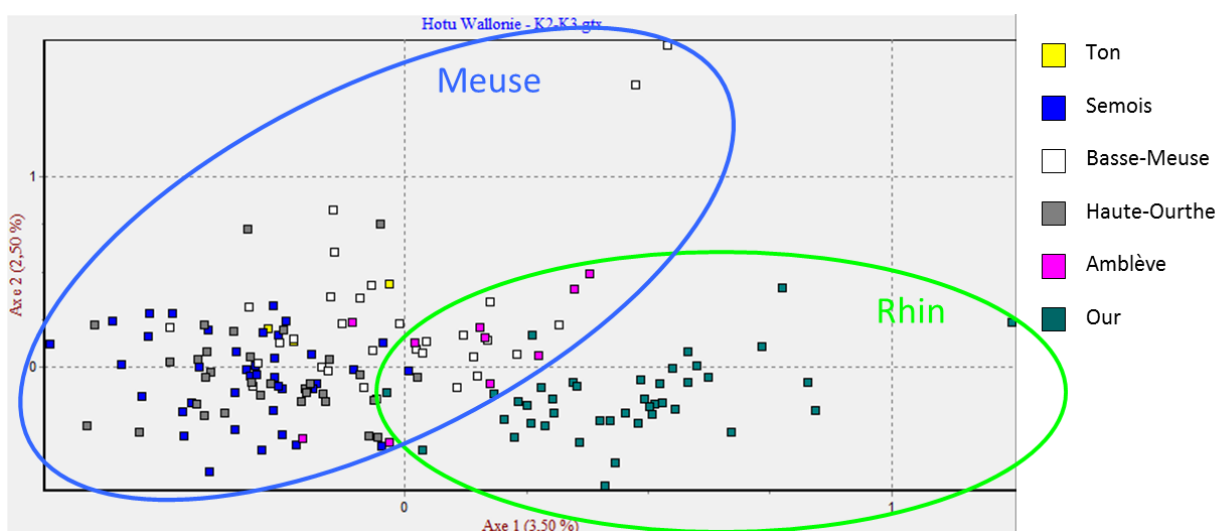


Figure VI.9. Résultats graphiques de l'analyse factorielle des correspondances alléliques chez les hotus échantillonnés en Wallonie, sans les 4 individus assignés au cluster K4 et les 16 juvéniles assignés au cluster K3.

VI. Caractérisation génétique des populations wallonnes de hotus et barbeaux

Finalement, si la Figure VI.8 permet une bonne visualisation de la structuration génétique des populations de hotu échantillonnées en Wallonie, une analyse complète des génotypes identifiés en Wallonie, qui intègre le groupe mineur constitué par le cluster *K4*, est représentée à la Figure VI.9.

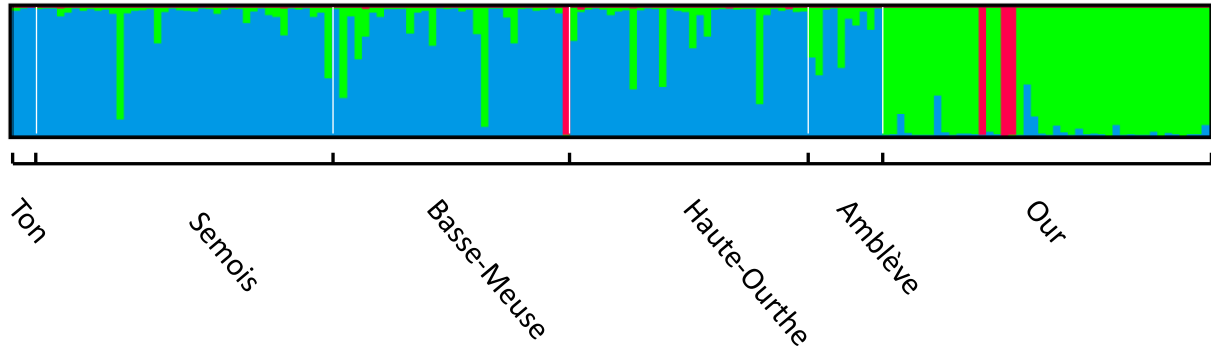


Figure VI.10. Clusters génétiques définis par l'analyse STRUCTURE chez le hotu, après correction d'Evanno ($K = 3$; ■ *K1*, ■ *K2*, ■ *K4* ; annexe 3.E), dans les populations wallonnes. Les lignes verticales représentent l'appartenance de chaque individu aux clusters génétiques.

2.2.1.3. Bassin de la Meuse

Si l'étude réalisée sur l'ensemble des échantillons wallons a révélé une différenciation génétique claire entre les populations appartenant au bassin de la Meuse et celle provenant du bassin du Rhin (représentée par les poissons de l'Our), l'analyse des premières a été poursuivie afin de détecter d'éventuelles différences génétiques plus fines entre elles.

Sur base des outils utilisés, l'ensemble des individus issus des rivières situées dans le bassin de la Meuse montrent des caractéristiques génotypiques proches et aucune structuration plus fine n'a pu être mise en évidence entre les hotus provenant du Ton, de la Semois, de la basse-Meuse, de la haute-Ourthe et de l'Amblève (Figures VI.11 et VI.12).

VI. Caractérisation génétique des populations wallonnes de hotus et barbeaux

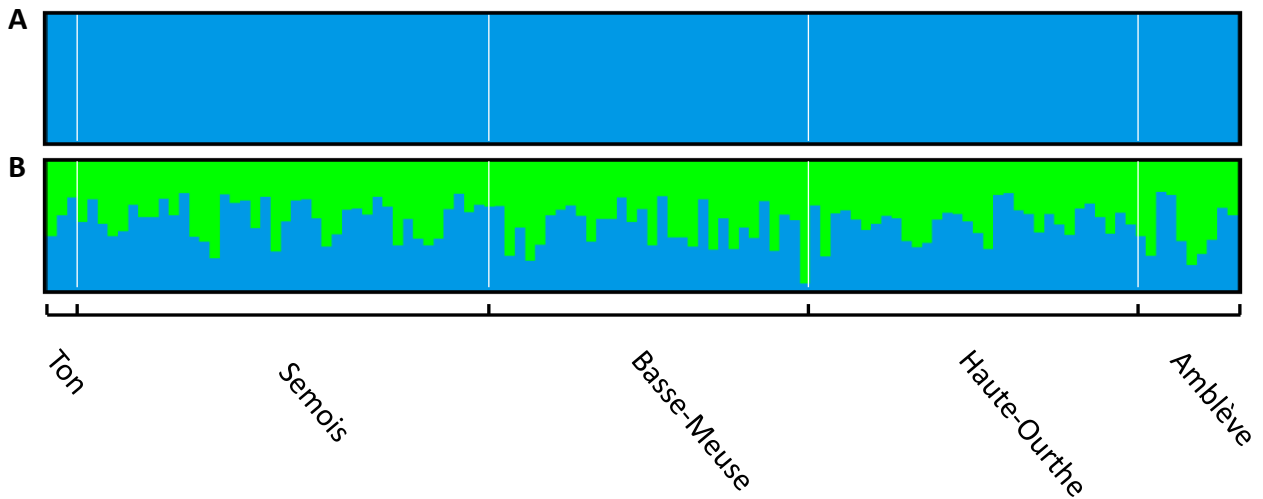


Figure VI.11. Clusters génétiques définis par l'analyse STRUCTURE chez le hotu, après correction d'Evanno ($K = 1$; annexe 3.F), dans les populations provenant du bassin de la Meuse. (A) $K = 1$; (B) illustration d'un scénario avec $K = 2$ (■ $K1$, ■ $K2$). Les lignes verticales représentent l'appartenance de chaque individu aux clusters génétiques.

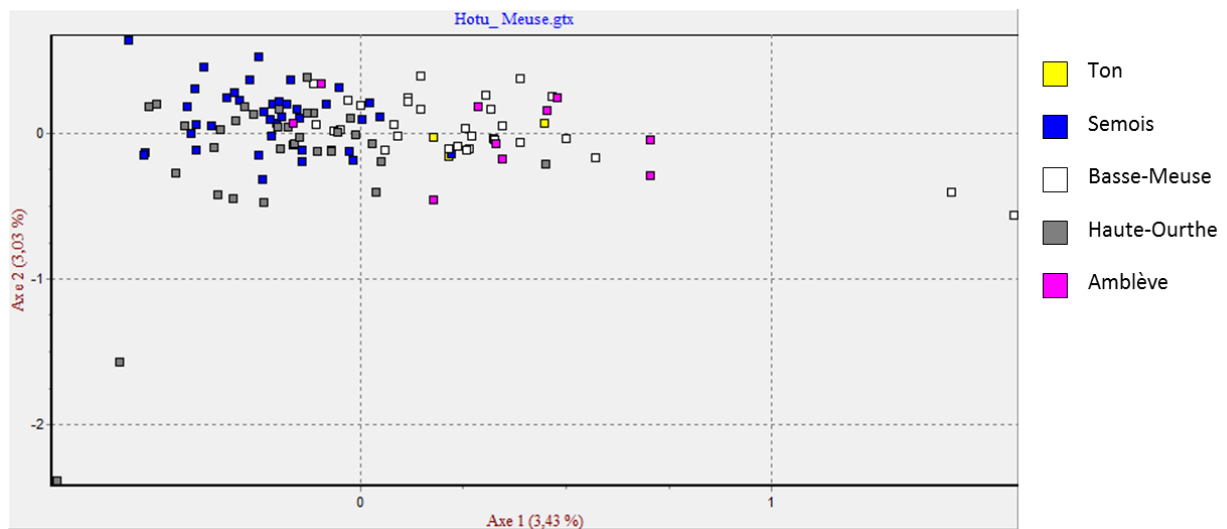


Figure VI.12. Résultats graphiques de l'analyse factorielle des correspondances alléliques chez les hotus échantillonnés dans les rivières du bassin de la Meuse.

2.2.1.4. Cas de l'Amblève

La présence, dans l'Amblève, d'une apparente lignée génétique distincte, assignée exclusivement au cluster génétique *K3* (voir VI.2.2.1.1 et VI.2.2.1.2), trouve une explication dans l'histoire particulière de ces poissons. En février-mars 2011, 10 hotus adultes (individus n°1 à 10 de la population de l'Amblève, Figures VI.2, VI.4 et VI.6) pêchés à l'électricité en aval du barrage de Lorcé (Figure VI.13) avaient été transloqués par le LDPH dans le secteur amont compris entre le barrage de Lorcé et la cascade de Coo.

Le hotu avait disparu de ce secteur depuis les années 1970 suite à la pollution (organique et au chrome) causée par une tannerie à proximité de Malmedy et la fragmentation de la rivière. La qualité physico-chimique de l'Amblève s'est nettement améliorée depuis l'arrêt des activités de la tannerie dans les années 1990. L'implantation de radio-émetteur dans les 10 hotus transloqués a permis de suivre leurs déplacements dans ce nouveau secteur et de les observer sur des zones de frai, notamment les individus n°2 et 6 assignés au cluster *K3* (Benitez et al., 2013). En septembre 2011, 16 juvéniles (0+) ont été capturés en amont de Lorcé, soulignant les capacités d'adaptation et de reproduction des hotus dans un secteur nouvellement occupé.

Les liens de parenté entre les 16 juvéniles (0+) et les 10 adultes ont été analysés grâce au logiciel COLONY 2.0 (Jones & Wang, 2010), conçu pour identifier les liens de parenté et de filiation entre individus en utilisant des données génotypiques (les paramètres du programme étaient les suivants : mating system: male and female polygamy, inbreeding present; analysis method: full-likelihood; no sibship prior; no known and no excluded sibship; autres paramètres par défaut). Les juvéniles ont été identifiés comme appartenant à une même fratrie dont les parents étaient les adultes n°2 et n°6 avec une probabilité de 1.

Le groupe *K3* est donc composé d'une seule famille. Ces résultats mettent en évidence les capacités de recolonisation du hotu dans des secteurs où la qualité de l'habitat s'est améliorée (Ovidio et al., sous presse).

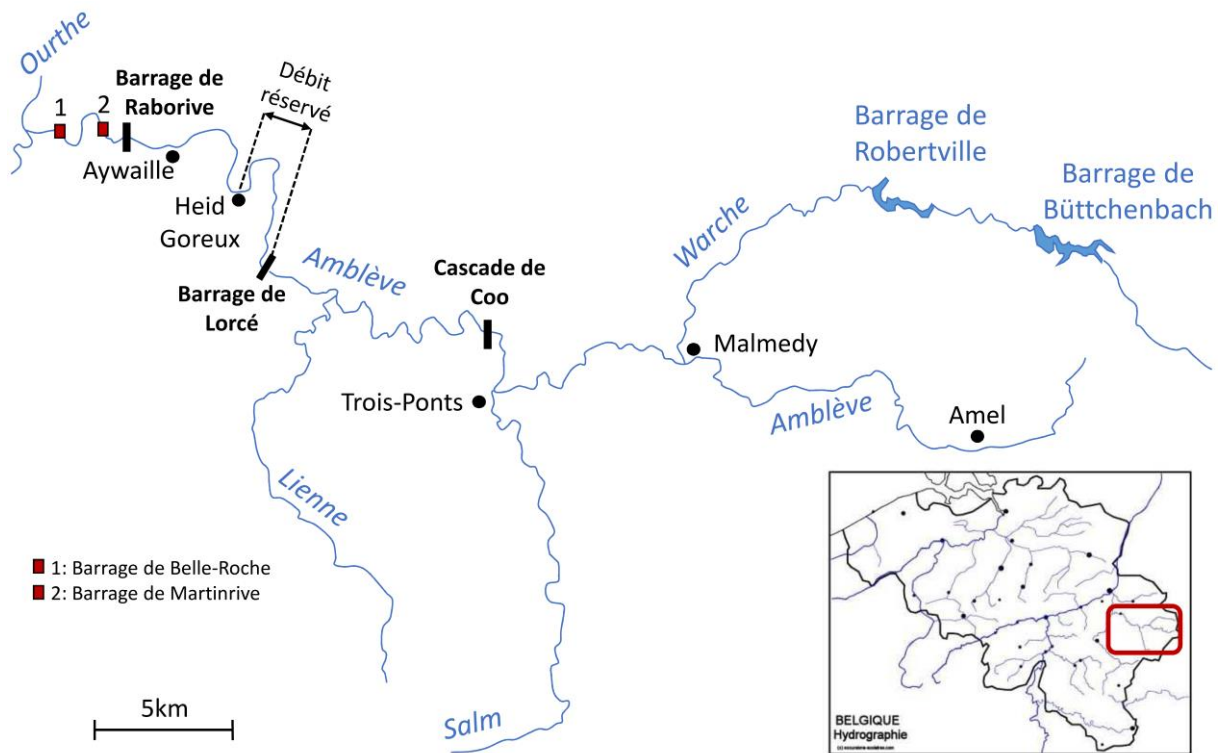


Figure VI.13. Carte de l'Amblève (Benitez et al., 2013).

2.2.2. Diversité et différenciation génétique

Sur l'ensemble des échantillons analysés, les 24 marqueurs microsatellites étaient polymorphiques, avec un nombre total d'allèles par locus compris entre 2 et 17.

Parmi les différentes populations wallonnes, la plus grande diversité génétique intra-populationnelle est observée dans la population de la basse-Meuse (Tableau VI.2). Elle est caractérisée par une richesse allélique élevée ($A_r = 3,2$) et un coefficient de consanguinité (F_{IS}) proche de 0, indiquant une population à l'équilibre.

Des caractéristiques proches sont observées dans les populations de l'Amblève et de l'Our, même si dans cette dernière, un F_{IS} de 0,07 traduit un léger défaut d'hétérozygotie. Ce caractère est cependant beaucoup plus marqué dans les populations de la haute-Ourthe et de la Semois où la diversité génétique est plus faible. Ces populations présentent des F_{IS} respectifs atteignant 0,15 et 0,20.

Les résultats rapportés pour la population du Ton sont à interpréter avec précaution étant donné le très faible nombre d'individus composant ce groupe.

VI. Caractérisation génétique des populations wallonnes de hotus et barbeaux

Tableau VI.2. Paramètres de diversité génétique des 9 populations de hotu échantillonnées en Wallonie (6) et en France (3). N : nombre d'échantillons ; N_a : nombre moyen d'allèles (écart-type) ; A_r : richesse allélique ; H_o : hétérozygotie observée ; H_E : hétérozygotie attendue ; F_{IS} : coefficient de consanguinité (valeurs calculées sur 24 marqueurs microsatellites et intervalles de confiance à 95 % pour les F_{IS}).

	N	N_a	A_r	H_o	H_E	F_{IS}
Ton	3	3,1 (1,1)	2,6	0,68	0,56	-0,796 < -0,205 < -0,001
Semois	40	5,8 (3,7)	2,6	0,60	0,65	0,155 < 0,199 < 0,247
Basse-Meuse	32	7,3 (3,4)	3,2	0,67	0,69	-0,027 < 0,032 < 0,095
Haute-Ourthe	32	5,8 (3,5)	2,7	0,65	0,68	0,110 < 0,154 < 0,201
Amblève	10	5,4 (2,6)	3,1	0,67	0,66	-0,108 < -0,025 < 0,030
Our	44	7,3 (3,4)	3,1	0,65	0,70	0,007 < 0,074 < 0,141
Chée	31	5,6 (2,7)	2,7	0,61	0,66	0,005 < 0,066 < 0,115
Allier	31	4,6 (2,1)	2,6	0,56	0,56	-0,050 < 0,006 < 0,057
Ardèche	31	5,3 (2,7)	2,7	0,60	0,63	0,020 < 0,055 < 0,084

L'analyse 2 à 2 de la variabilité inter-populationnelle, mesurée par les indices F_{ST} et G_{ST} , montre un faible niveau de différenciation génétique entre les différentes populations wallonnes (Tableau VI.3). Un indice compris entre 0,00 et 0,05 indique un faible niveau de différenciation, entre 0,05 et 0,15 une différenciation modérée, entre 0,15 et 0,25 une différenciation importante, et au-delà, très importante.

Les différences entre les populations provenant du bassin de la Meuse (Ton, Semois, basse-Meuse, haute-Ourthe et Amblève) sont très faibles. Les valeurs de F_{ST} , au niveau du bassin mosan sont inférieures à 0,02. La plupart sont même proches de 0. Les valeurs maximales (0,016) ont été observées entre la Semois d'une part, et la haute-Ourthe et l'Amblève d'autre part.

Une différenciation génétique faible mais cependant plus marquée apparaît entre l'Our et les rivières du bassin mosan. Les valeurs de F_{ST} sont supérieures à 0,02 et atteignent un maximum de 0,05 entre l'Our et la Semois. Les valeurs de G_{ST} suivent les mêmes tendances. Ces résultats appuient les différences de structure génétique décrites à la section VI.2.2.1 entre les hotus provenant du bassin mosan et ceux du bassin rhénan.

VI. Caractérisation génétique des populations wallonnes de hotus et barbeaux

Tableau VI.3. Paramètres de différenciation génétique des 9 populations de hotu échantillonnées en Wallonie (6) et en France (3). Au-dessus de la diagonale : G_{ST} ; en-dessous de la diagonale : F_{ST} (valeurs calculées par *diversity* sur 24 marqueurs microsatellites et intervalles de confiance à 95 %).

G_{ST} F_{ST}	Ton	Semois	Basse-Meuse	Haute-Ourthe	Ambliève	Our	Chée	Allier	Ardèche
Ton		0,010 (-0,025-0,100)	0,006 (-0,028-0,092)	0,002 (-0,033-0,089)	0,007 (-0,033-0,101)	0,025 (-0,008-0,119)	0,021 (-0,017-0,113)	0,054 (0,015-0,155)	0,034 (-0,003-0,124)
Semois	0,012 (-0,046-0,132)		0,004 (-0,001-0,010)	0,010 (0,002-0,020)	0,011 (-0,004-0,031)	0,029 (0,018-0,039)	0,009 (0,003-0,016)	0,036 (0,026-0,046)	0,023 (0,015-0,032)
Basse-Meuse	0,005 (-0,050-0,122)	0,005 (-0,006-0,019)		0,005 (-0,002-0,012)	0,000 (-0,011-0,017)	0,016 (0,011-0,023)	0,014 (0,005-0,025)	0,039 (0,030-0,050)	0,017 (0,010-0,026)
Haute-Ourthe	-0,003 (-0,061-0,117)	0,016 (-0,001-0,036)	0,008 (-0,004-0,023)		0,004 (-0,007-0,021)	0,018 (0,012-0,028)	0,011 (0,003-0,021)	0,042 (0,032-0,056)	0,022 (0,013-0,032)
Ambliève	0,012 (-0,060-0,144)	0,016 (-0,011-0,051)	-0,002 (-0,023-0,028)	0,006 (-0,015-0,037)		0,012 (0,000-0,030)	0,020 (0,004-0,040)	0,040 (0,026-0,060)	0,014 (0,000-0,033)
Our	0,040 (-0,013-0,155)	0,053 (0,033-0,072)	0,031 (0,020-0,045)	0,034 (0,021-0,052)	0,020 (0,000-0,051)		0,037 (0,024-0,051)	0,063 (0,053-0,076)	0,037 (0,027-0,050)
Chée	0,034 (-0,030-0,154)	0,015 (0,004-0,031)	0,025 (0,009-0,046)	0,019 (0,005-0,039)	0,037 (0,008-0,073)	0,069 (0,045-0,093)		0,043 (0,033-0,054)	0,024 (0,014-0,035)
Allier	0,111 (0,053-0,229)	0,067 (0,050-0,086)	0,075 (0,058-0,093)	0,081 (0,062-0,105)	0,081 (0,054-0,116)	0,116 (0,097-0,136)	0,082 (0,064-0,103)		0,021 (0,012-0,032)
Ardèche	0,063 (0,004-0,174)	0,043 (0,028-0,060)	0,033 (0,02-0,049)	0,041 (0,025-0,061)	0,026 (0,001-0,062)	0,069 (0,050-0,092)	0,045 (0,026-0,066)	0,041 (0,024-0,062)	

Les populations françaises montrent des degrés de différenciation génétique variables avec les populations wallonnes. Cette différenciation est relativement faible entre les populations appartenant au bassin de la Meuse et celle de la Chée (bassin de la Seine) (F_{ST} compris entre 0,015 et 0,037). Elle est plus marquée avec la population de l'Our ($F_{ST} = 0,69$), appartenant à un bassin hydrographique plus éloigné.

Les populations de l'Ardèche, et surtout de l'Allier sont génétiquement plus différenciées des populations wallonnes.

L'analyse AMOVA révèle qu'au sein des populations wallonnes, plus de 96 % de la variabilité génétique observée est d'origine intra-populationnelle (Tableau VI.4).

VI. Caractérisation génétique des populations wallonnes de hotus et barbeaux

Tableau VI.4. Analyse de la variance moléculaire sur 6 populations et 2 groupes de hotus échantillonnés en Wallonie (groupe 1 = Ton, Semois, basse-Meuse, haute-Outhe, Amblève ; groupe 2 = Our).

Source of variation	Sum of squares	Variance components	Percentage variation
Among groups	37.412	0.22093	2.77881
Among populations within groups	40.151	0.06300	0.79242
Within populations	2296.192	7.66669	96.42877
Total	2373.755	7.95062	

2.3. Résultats : le barbeau

2.3.1. Structure génétique des populations

2.3.1.1. Wallonie

Chez le barbeau, l'analyse STRUCTURE a révélé l'existence de 4 clusters génétiques (Figure VI.14) dans les populations wallonnes analysées. Globalement, les populations de barbeaux semblent génétiquement moins différenciées que celles de hotus (Figures VI.14 et VI.15). Une structuration génétique faible est observée dans les populations du Ton, de la haute- et basse-Meuse, la Lesse, la Sambre, la Meuhaine, la Haute-Ourthe et l'Amblève, avec un mélange important des lignées caractérisées par les 4 clusters. Seules les populations de la Semois et de l'Our sont mieux caractérisées, avec une appartenance plus forte aux clusters K2 (en orange dans la Figure VI.14) et K3 (en vert dans la Figure VI.14) respectivement.

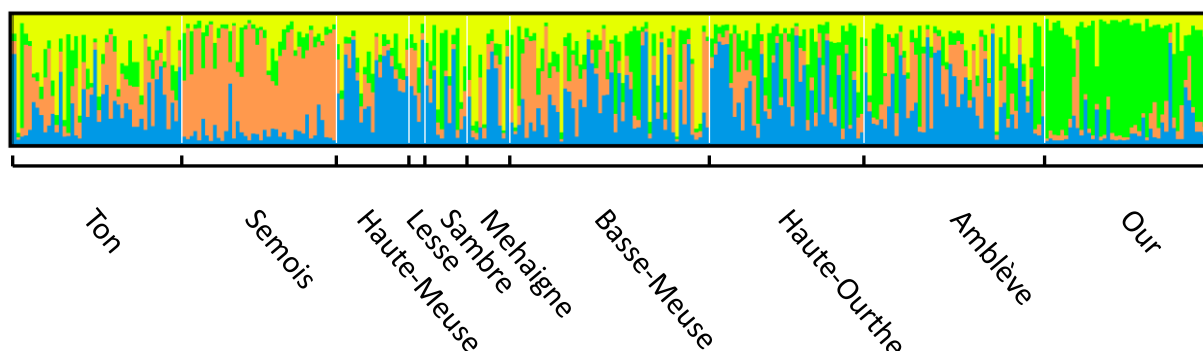


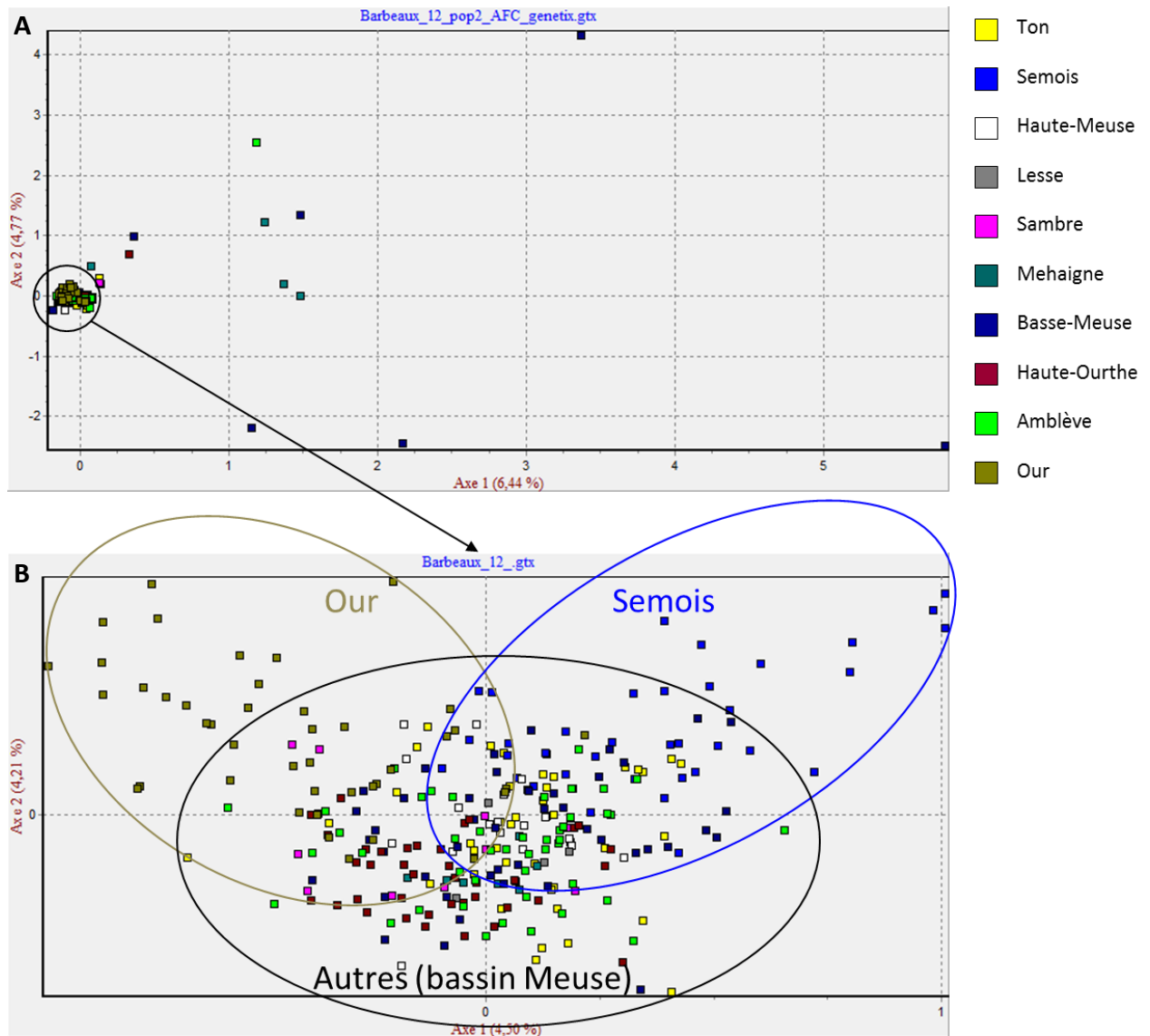
Figure VI.14. Clusters génétiques définis par l'analyse STRUCTURE chez le barbeau, après correction d'Evanno ($K = 4$; ■ K1, ■ K2, ■ K3, ■ K4 ; annexe 3.G). Les 311 individus analysés sont représentés. Les lignes verticales représentent l'appartenance de chaque individu aux clusters génétiques.

L'analyse factorielle des correspondances alléliques réalisées sur l'ensemble des échantillons montre une faible dispersion des caractéristiques génotypiques des différentes populations, à l'exception de 16 individus (provenant de la basse-Meuse, du Ton, de la Sambre, de la Meuhaine et de l'Amblève) qui semblent génétiquement plus distants (Figure VI.15.A).

Une analyse plus fine de la distribution des populations, représentant la majorité des échantillons, a été réalisée en retirant ces 16 individus du jeu de données (Figure VI.15.B). Ces résultats appuient les résultats de clustering, montrant une grande diversité et une apparente absence de différenciation au sein des populations du Ton, de la haute-Meuse, de la Lesse, de la Sambre, de la Meuhaine, de la

VI. Caractérisation génétique des populations wallonnes de hotus et barbeaux

basse-Meuse, de la haute-Ourthe et de l'Amblève ; et une certaine différenciation des poissons de la Semois et de l'Our.



2.3.1.2. Bassin de la Meuse

L'analyse plus détaillée par STRUCTURE des individus provenant du bassin mosan n'a pas mis en évidence de structuration génétique plus fine entre les populations étudiées (Figure VI.16). Le schéma obtenu comprend 3 clusters génétiques, et est très semblable à celui rapporté à la Figure VI.14 pour les rivières du bassin de la Meuse.

VI. Caractérisation génétique des populations wallonnes de hotus et barbeaux

Les populations du Ton, de la haute-Meuse, de la Lesse, de la Sambre, de la Mehaigne, de la basse-Meuse, de la haute-Ourthe et de l'Amblève montrent une structuration génétique semblable, comprenant un mélange des 3 clusters $K1$, $K2$ et $K3$ en proportions variables selon les individus. Tandis que la population de la Semois montre une assignation beaucoup plus importante au cluster $K2$.

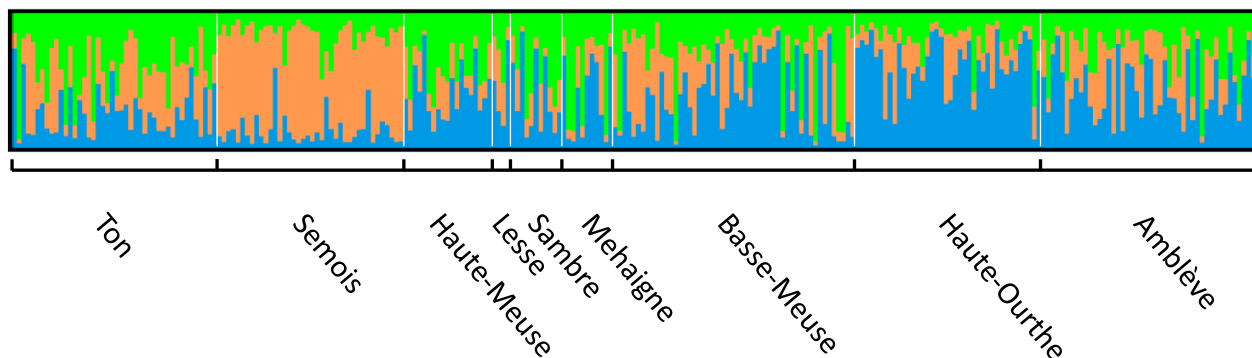


Figure VI.16. Clusters génétiques définis par l'analyse STRUCTURE chez le barbeau, après correction d'Evanno ($K = 3$; ■ $K1$, ■ $K2$, ■ $K3$; annexe 3.H) dans les populations provenant du bassin de la Meuse. Les lignes verticales représentent l'appartenance de chaque individu aux clusters génétiques.

Les résultats d'AFC sont également très semblables à ceux rapportés à la Figure VI.15. Si les 16 individus présentant des caractéristiques génétiques un peu divergentes (Figure VI.17.A) sont écartés, le schéma obtenu montre une dispersion importante et relativement homogène des populations provenant du bassin mosan, à l'exception de celle de la Semois, dont certains individus sont séparés par une certaine distance génétique des autres populations (Figure VI.17.B). Cette distance est cependant toute relative étant donné celle les séparant des 16 individus aux caractéristiques génotypiques plus particulières (Figure VI.17.A).

Afin de vérifier cette apparente homogénéité de structure génétique observée parmi les barbeaux du Ton, de la haute-Meuse, de la Lesse, de la Sambre, de la Mehaigne, de la basse-Meuse, de la haute-Ourthe et de l'Amblève, les populations provenant du bassin de la Meuse ont été à nouveau analysées, en excluant celle de la Semois qui possèdent certaines caractéristiques génétiques propres.

VI. Caractérisation génétique des populations wallonnes de hotus et barbeaux

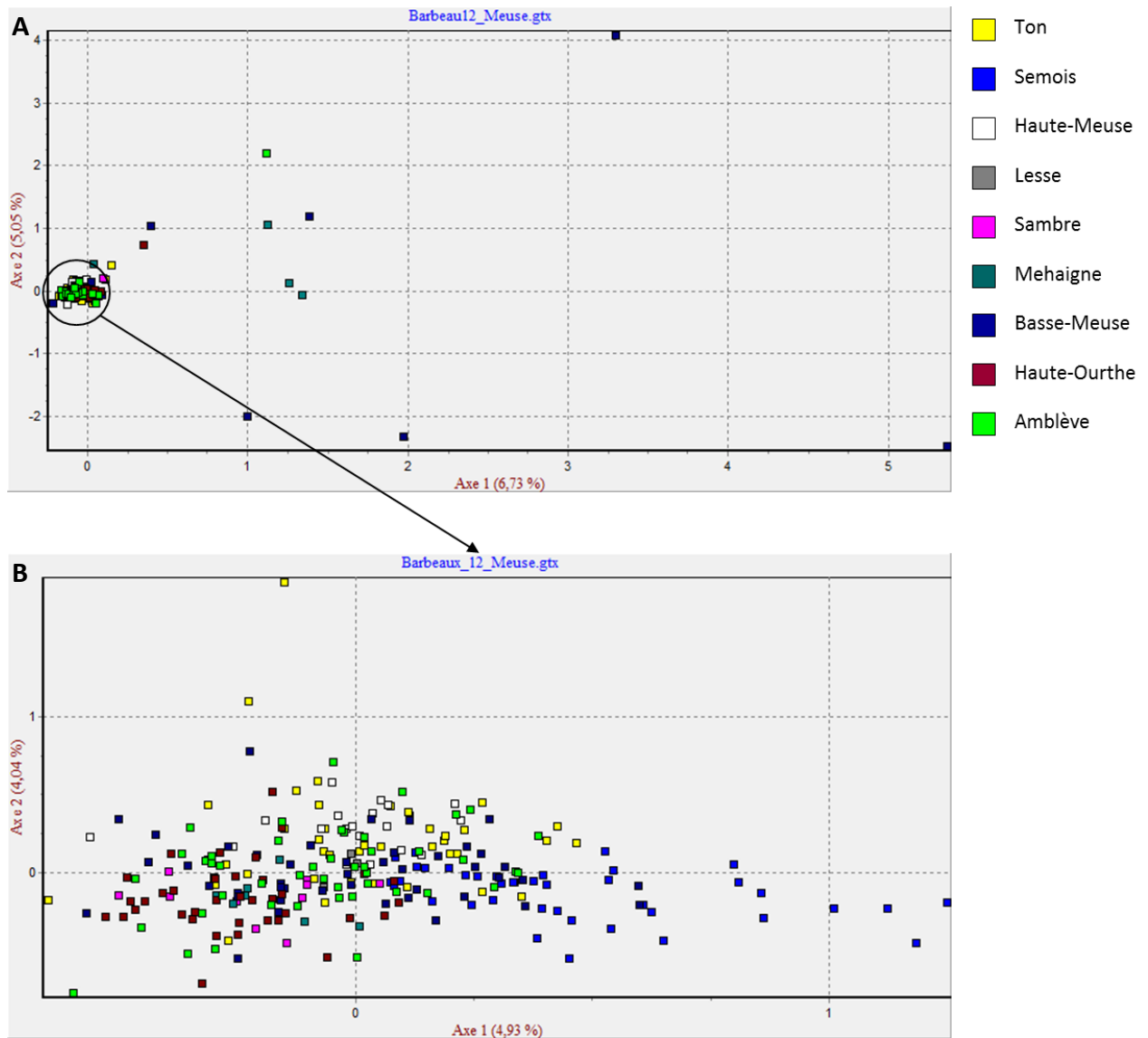


Figure VI.17. Résultats graphiques de l'analyse factorielle des correspondances alléliques chez les barbeaux échantillonnés dans les rivières du bassin de la Meuse. A : tous les individus (n = 268); B : détails de la distribution des individus encerclés en A (n = 252).

L'analyse STRUCURE a groupé tous ces individus dans le même groupe (Figure VI.18), confirmant cette homogénéité génétique, également visible à la Figure VI.19. Sur base des microsatellites et des techniques d'analyse utilisés, il n'a donc pas été possible de mettre en évidence une différenciation génétique des populations de barbeaux provenant du bassin mosan, à l'exception de la Semois.

VI. Caractérisation génétique des populations wallonnes de hotus et barbeaux

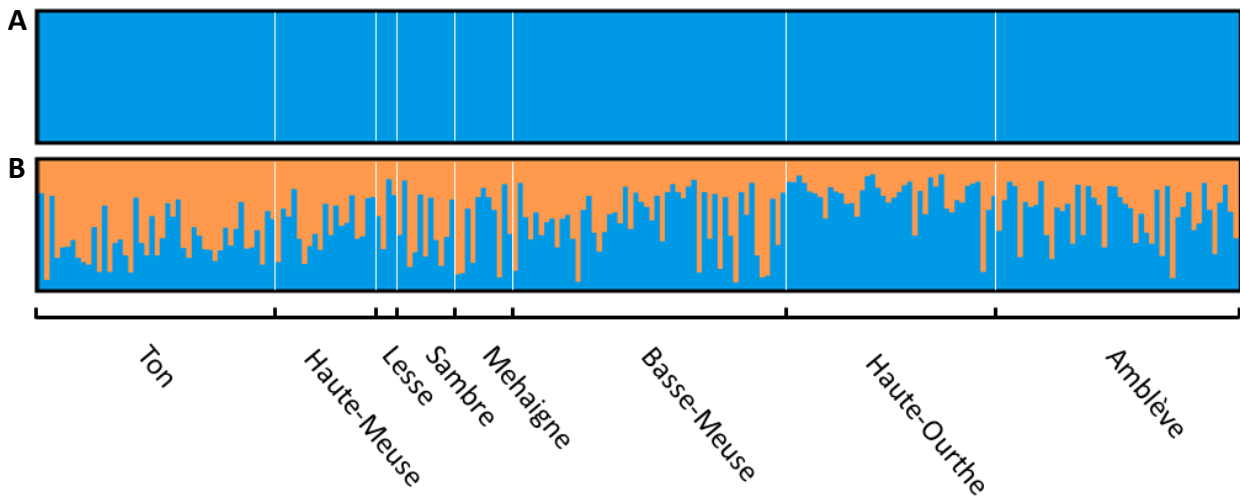


Figure VI.18. Clusters génétiques définis par l'analyse STRUCTURE chez le barbeau, après correction d'Evanno ($K = 1$; annexe 3.I) dans les populations provenant du bassin de la Meuse, excepté la Semois. (A) $K = 1$; (B) illustration d'un scénario avec $K = 2$ (■ $K1$, ■ $K2$). Les lignes verticales représentent l'appartenance de chaque individu aux clusters génétiques.

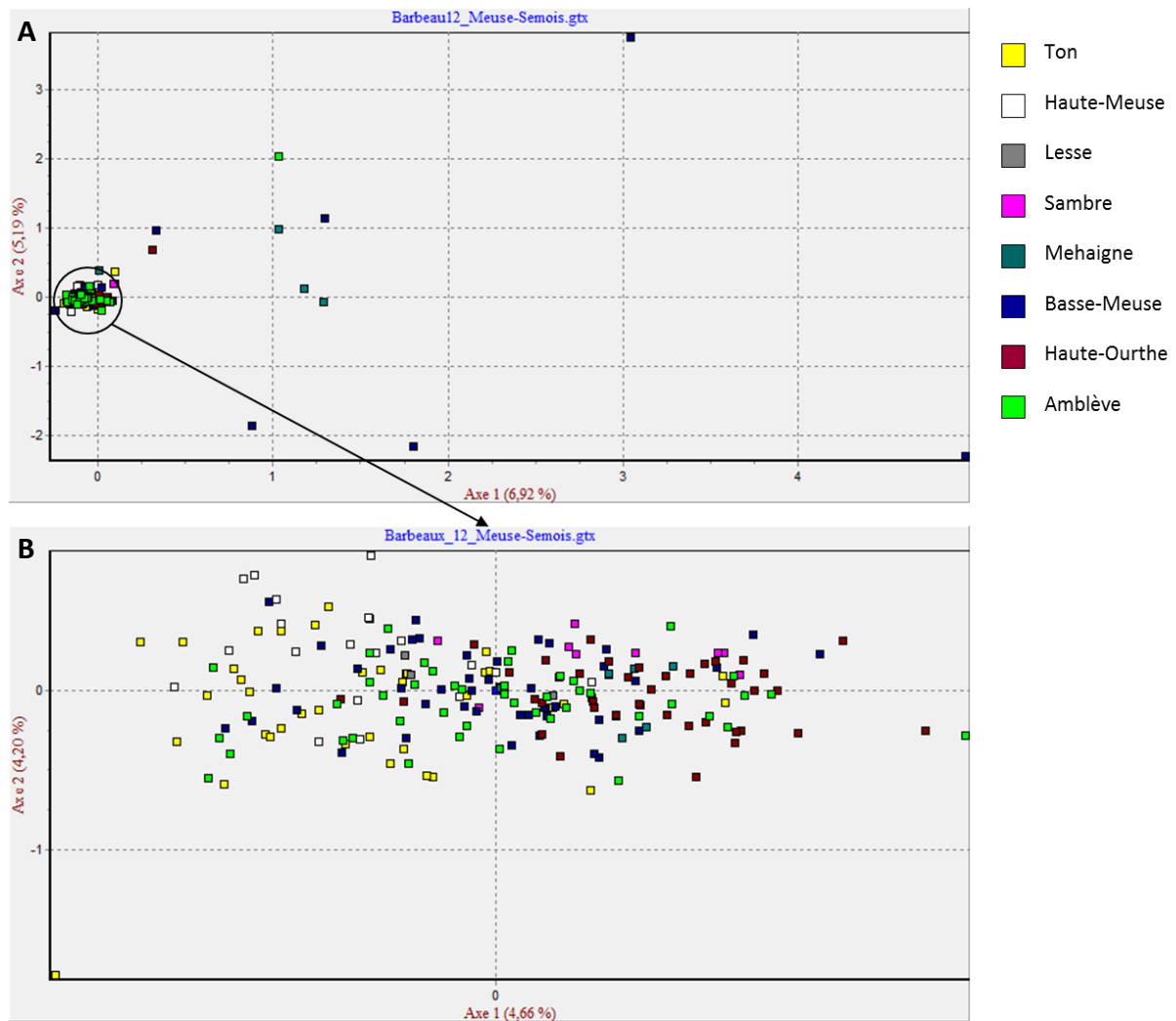


Figure VI.19. Résultats graphiques de l'analyse factorielle des correspondances alléliques chez les barbeaux échantillonnés dans les rivières du bassin de la Meuse. A : toutes les populations à l'exception de celle de la Semois ; B : détails de la distribution des individus encerclés en A.

2.3.2. Diversité et différenciation génétique

Sur l'ensemble des échantillons analysés, les 21 marqueurs microsatellites étaient polymorphiques, avec un nombre total d'allèles par locus compris entre 2 et 31. La richesse allélique était cependant légèrement plus faible que chez le hotu, avec des valeurs comprises entre 2,1 et 2,6 (Tableau VI.5).

Les valeurs les plus faibles d'hétérozygotie ($H_o = 0,44-0,46$) et de richesse allélique ($A_r = 2,1$) ont été calculées pour les populations de la Semois et de l'Our. Ailleurs, les valeurs d' H_o sont comprises entre 0,49 et 0,59.

Toutes les populations étudiées présentent un excès d'hétérozygotie, à l'exception de la population de la basse-Meuse qui semble à l'équilibre. Cela se traduit par des valeurs de coefficient de consanguinité négatives. Étonnamment, la valeur de F_{IS} est positive pour la population de la haute-Meuse. Cependant, ces valeurs sont à interpréter avec précaution étant donné l'importance des intervalles de confiance.

Tableau VI.5. Paramètres de diversité génétique des 10 populations de barbeau échantillonnées en Wallonie.

N : nombre d'échantillons ; N_a : nombre moyen d'allèles (écart-type) ; A_r : richesse allélique ; H_o : hétérozygotie observée ; H_e : hétérozygotie attendue ; F_{IS} : coefficient de consanguinité (valeurs calculées par diversity sur 12 marqueurs microsatellites disomiques et intervalles de confiance à 95 % pour les F_{IS}).

	N	N_a	A_r	H_o	H_e	F_{IS}
Ton	44	4,3 (4,5)	2,5	0,54	0,50	-0,162 < -0,094 < -0,027
Semois	40	3,3 (3,7)	2,1	0,46	0,44	-0,164 < -0,059 < 0,036
Haute-Meuse	19	3,0 (2,5)	2,2	0,53	0,49	-0,004 < 0,078 < 0,157
Lesse	4	2,4 (1,0)	2,2	0,50	0,44	-0,518 < -0,143 < 0,070
Sambre	11	3,0 (1,7)	2,4	0,55	0,46	-0,261 < -0,179 < -0,107
Mehaigne	11	3,6 (2,6)	2,6	0,59	0,52	-0,281 < -0,130 < -0,002
Basse-Meuse	52	5,4 (5,5)	2,5	0,53	0,53	-0,070 < -0,004 < 0,063
Haute-Ourthe	40	3,5 (2,1)	2,3	0,49	0,46	-0,135 < -0,065 < 0,008
Ambève	47	4,3 (4,0)	2,5	0,56	0,51	-0,182 < -0,106 < -0,028
Our	43	3,2 (2,7)	2,1	0,44	0,41	-0,236 < -0,090 < 0,083

VI. Caractérisation génétique des populations wallonnes de hotus et barbeaux

Les indices de différenciation génétique inter-populationnelle confirment les résultats de structuration génétique des populations décrits à la section VI.2.3.1, suggérant une différenciation modérée entre les populations de l'Our, de la Semois et les autres populations du bassin Mosan (Tableau VI.6).

Globalement, les valeurs de F_{ST} et G_{ST} sont relativement faibles. Sans tenir compte des comparaisons incluant la Lesse, qui ne compte que 4 individus, des indices de différenciation modérés ($F_{ST} > 0,10$ et $G_{ST} > 0,05$) sont observés entre la Semois et d'autres rivières du bassin mosan (haute-Meuse, Sambre et haute-Ourthe), ainsi qu'entre l'Our et : la Semois, la haute-Meuse et la Sambre.

Tableau VI.6. Paramètres de différenciation génétique des 10 populations de barbeau échantillonnées en Wallonie. Au-dessus de la diagonale : G_{ST} (valeurs calculées par ATetra sur 20 marqueurs microsatellites et intervalles de confiance à 95 %) ; en-dessous de la diagonale : F_{ST} (valeurs calculées par diveRcity sur 12 marqueurs microsatellites disomiques et intervalles de confiance à 95 %).

G_{ST} F_{ST}	Ton	Semois	Haute-Meuse	Lesse	Sambre	Mehaigne	Basse-Meuse	Haute-Ourthe	Ambième	Our
Ton		0,030 (0,030-0,031)	0,019 (0,019-0,020)	0,044 (0,042-0,045)	0,040 (0,039-0,040)	0,030 (0,029-0,030)	0,013 (0,013-0,013)	0,027 (0,027-0,028)	0,012 (0,012-0,012)	0,041 (0,041-0,042)
Semois	0,059 (0,023-0,102)		0,055 (0,055-0,056)	0,066 (0,065-0,068)	0,065 (0,064-0,066)	0,043 (0,042-0,044)	0,028 (0,027-0,028)	0,048 (0,047-0,049)	0,033 (0,032-0,033)	0,071 (0,070-0,072)
Haute-Meuse	0,022 (-0,003-0,057)	0,120 (0,077-0,169)		0,052 (0,051-0,053)	0,054 (0,054-0,055)	0,044 (0,043-0,045)	0,026 (0,025-0,026)	0,037 (0,037-0,038)	0,027 (0,027-0,027)	0,060 (0,060-0,061)
Lesse	0,008 (-0,047-0,108)	0,068 (0,009-0,168)	-0,016 (-0,081-0,077)		0,086 (0,084-0,087)	0,062 (0,060-0,063)	0,050 (0,049-0,051)	0,057 (0,056-0,058)	0,046 (0,044-0,047)	0,089 (0,087-0,090)
Sambre	0,043 (0,011-0,083)	0,114 (0,070-0,168)	0,060 (0,011-0,117)	0,072 (-0,019-0,184)		0,045 (0,044-0,046)	0,040 (0,039-0,041)	0,052 (0,051-0,052)	0,049 (0,048-0,050)	0,062 (0,061-0,063)
Mehaigne	0,022 (-0,012-0,083)	0,068 (0,021-0,134)	0,033 (-0,012-0,106)	0,022 (-0,056-0,131)	0,033 (-0,015-0,095)		0,019 (0,019-0,019)	0,028 (0,027-0,028)	0,024 (0,023-0,024)	0,050 (0,049-0,050)
Basse-Meuse	0,016 (0,002-0,034)	0,059 (0,026-0,106)	0,030 (0,007-0,060)	0,014 (-0,043-0,097)	0,028 (-0,001-0,066)	-0,007 (-0,029-0,030)		0,014 (0,014-0,014)	0,009 (0,009-0,010)	0,039 (0,039-0,039)
Haute-Ourthe	0,062 (0,038-0,088)	0,115 (0,069-0,166)	0,069 (0,038-0,108)	0,070 (0,010-0,159)	0,067 (0,029-0,114)	0,030 (-0,005-0,075)	0,015 (0,000-0,034)		0,019 (0,019-0,019)	0,031 (0,031-0,031)
Ambième	0,007 (-0,004-0,023)	0,053 (0,024-0,094)	0,035 (0,008-0,070)	0,009 (-0,043-0,088)	0,044 (0,011-0,082)	0,007 (-0,020-0,052)	0,004 (-0,007-0,018)	0,034 (0,013-0,058)		0,039 (0,039-0,040)
Our	0,061 (0,031-0,095)	0,134 (0,074-0,214)	0,101 (0,067-0,139)	0,116 (0,032-0,243)	0,063 (0,024-0,111)	0,052 (0,010-0,106)	0,037 (0,013-0,066)	0,037 (0,009-0,068)	0,044 (0,019-0,074)	

VI. Caractérisation génétique des populations wallonnes de hotus et barbeaux

L'analyse AMOVA révèle qu'au sein des populations wallonnes, plus de 93 % de la variabilité génétique observée est d'origine intra-populationnelle (Tableau VI.7).

Tableau VI.7. Analyse de la variance moléculaire sur 10 populations et 2 groupes de babeaux échantillonnés en Wallonie (groupe 1 = Ton, Semois, haute-Meuse, Lesse, Sambre, Mehaigne, basse-Meuse, haute-Outhe, Amblève ; groupe 2 = Our).

Source of variation	Sum of squares	Variance components	Percentage variation
Among groups	22.734	0.07637	2.68766
Among populations within groups	68.251	0.10413	3.66446
Within populations	1610.716	2.66115	93.64788
Total	1701.702	2.84165	

3. ETUDE DE L'ADN MITOCHONDRIAL DU BARBEAU

En complément à l'analyse de l'ADN nucléaire, l'étude génétique des populations de barbeau a été complétée par une analyse de l'ADN mitochondrial, plus adaptée pour comprendre les relations phylogénétiques entre groupes. Etant donné l'histoire récente des populations de barbeaux en Wallonie, ponctuée pas des introductions, notamment de génétiques allochtones (voir V.2), cette technique a été utilisée pour tenter d'identifier la ou les lignées génétiques natives des rivières wallonnes.

3.1. Introduction

La première étude phylogénétique du barbeau (*Barbus barbus*) à partir des variations de l'ADN mitochondrial (ADNmit) a été réalisée par Kotlik & Berrebi (2001). Elle se basait sur un séquençage d'une partie du cytochrome b (cytb), réalisé sur le produit d'amplification de l'ADN des barbeaux à partir des amorces L15267 et H15891 décrites dans Briolay et al. (1998).

87 individus provenant de 30 sites distincts ont ainsi été séquencés sur une partie du cytb comportant 594 pb. Cette étude porte sur des individus répartis sur une bonne partie de l'Europe, le bassin rhénan étant le plus proche étudié (Figure VI.20).

Les 594 nucléotides des 87 échantillons séquencés ont été alignés et comparés par Kotlik & Berrebi (2001). Différents haplotypes ont été identifiés (h1 à h11) et définis par les variations observées aux 15 positions nucléotidiques variables (Tableau VI.6).

La distribution des principaux haplotypes observés est visualisable sur la carte de l'Europe (Figure VI.20). L'ensemble des haplotypes observés, à l'exception de l'haplotype h4, lignage I, font partie du lignage II. Les deux lignages ne se chevauchent pas géographiquement. Le lignage I, avec son haplotype h4, étant observé près de la Mer noire, dans l'Est de la Bulgarie et le Nord de l'Anatolie.

Les haplotypes hS et hBM-57 (voir VI.3.3. Résultats), ainsi que leurs positions variables (287 et 327) n'étaient pas décrits dans cet article. Ces informations ont été intégrées au Tableau VI.6 pour illustrer les résultats obtenus sur les barbeaux wallons décrits dans la partie résultats de notre étude.

VI. Caractérisation génétique des populations wallonnes de hotus et barbeaux

Tableau VI.6. Haplotypes définis par les 15 positions nucléotidiques variables identifiées dans la séquence de 594 pb du gène mitochondrial du cyt b chez le barbeau. Les nombres attachés aux positions des nucléotides correspondent à la séquence complète du gène du cytb (GenBank AF112123 ; Tsigenopoulos & Berrebi, 2000), qui est identique sur les 594 pb analysées dans l'haplotype h1. La séquence de h1 est présentée pour tous les sites variables. Seules les bases différentes par rapport à h1 sont indiquées pour les autres haplotypes (Kotlik & Berrebi, 2001).

Haplotype	Position du nucléotide																
	43	48	102	115	159	198	201	243	287	309	324	327	405	459	501	507	588
h1	A	C	T	C	G	T	C	C	T	C	C	C	A	A	A	A	T
h2								T									
hS								C									
hBM-57												T					
h3					A								G				
h4			C			C	T						G	G			C
h5																	G
h6				T													G
h7															G	G	
h8									T								G
h9											T						G
h10		T															G
h11	T	T															G

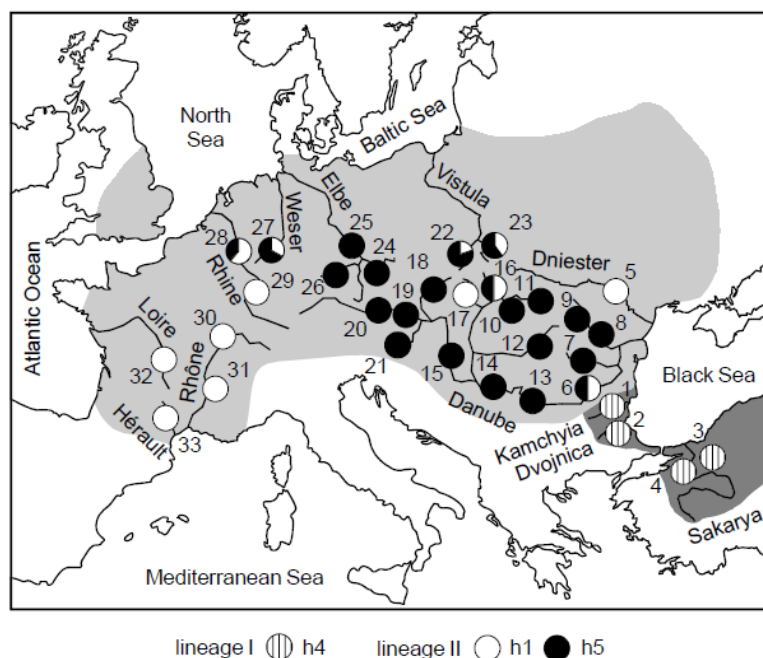


Figure VI.20. Carte illustrant la distribution et les fréquences relatives de l'haplotype h4, constituant le lignage I, et des 2 plus fréquents haplotypes du lignage II (h1 et h5) au sein de l'aire de répartition du barbeau (zone grisée). La distribution de l'haplotype h5 inclut également ses variants rares h9 et h11 (Kotlik & Berrebi, 2001).

VI. Caractérisation génétique des populations wallonnes de hotus et barbeaux

Les études postérieures de l'ADNmt du genre *Barbus* décrites dans la littérature se basent ensuite majoritairement sur un séquençage de l'entièreté du cytb, soit 1141 nucléotides. Leur objectif principal consiste à tracer les relations phylogéniques entre les diverses espèces de *Barbus* (Kotlík et al., 2004; Marková et al., 2010). Aucune autre étude sur la répartition géographique de l'espèce *Barbus barbus* au niveau européen n'a été publiée postérieurement à celle de Kotlík & Berrebi (2001).

3.2. Méthode

L'ADN total de barbeau (15 ng) a été amplifié à partir des amorces L15267: 5'-AATGAC-TTGAAGAACCACCGT et H16461: 5'-CTTCGGATTACAAGACC décrites dans (Briolay et al., 1998). Le fragment amplifié a été séquençé avec l'amorce externe L15267 et les deux amorces internes Int-F, forward primer (5'-TCTTCGCATTTCACTTC) et Int-R, reverse primer (5'- AAAATAGCATAGGCAAATA), décrites dans Marková et al. (2010). Les séquençages ont été réalisés par la firme Macrogen, Europe. La lecture et les assemblages des séquences des 1141pb du cytb ont été rendus possibles grâce au programme CLC Main Workbench6.

3.3. Résultats

Quatre-vingt individus ont donné une séquence claire sur les 1141 pb du cytb. De cet ensemble de séquences, 6 haplotypes distincts ont été identifiés (Tableau VI.7). La répartition des individus étudiés au sein des sites wallons échantillonnés est visualisable au Tableau VI.8 et à la Figure VI.21.

Quatre de ces haplotypes sont 100% identiques à des haplotypes décrits dans la littérature dont les numéros d'accèsion sont les suivants : AY331017, AY331019, AY331020 et KC465922 (Figure VI.22).

Deux haplotypes n'apparaissent pas dans la littérature et dans GenBank. Nous les avons nommés **hS** et **hBM-57** car retrouvés uniquement chez les barbeaux pêchés sur la Sambre ou le barbeau 57 de la Basse-Meuse.

Les deux haplotypes les plus fréquents en Wallonie sont AY331019 (Kotlík et al., 2004) et KC465922 (Meraner et al., 2013) qui se distinguent entre eux par une seule transition (A → G) en position 673. Ces deux haplotypes font partie de ce que nous appellerons le « groupe **h1** » décrit par Kotlík & Berrebi (2001). En effet, souvenons-nous que, dans cette étude, les haplotypes sont définis uniquement par les variations de séquence observées sur les 594 premiers nucléotides. Les variations

VI. Caractérisation génétique des populations wallonnes de hotus et barbeaux

intervenant sur les 547 nucléotides suivants constituent un « sous-haplotype ». Comme l'étude de 2001 est la seule réalisée à l'échelle européenne, nous continuons cependant à nous y référer.

Tableau VI.7. Haplotypes mitochondriaux identifiés sur les barbeaux pêchés en Wallonie. La séquence de l'haplotype AY331019 est indiquée aux 5 positions variables. Pour les haplotypes suivants, seuls sont indiqués les nucléotides distincts de celui de référence.

	Position du nucléotide				
	287	327	507	673	930
Haplotype h1					
AY331019	T	C	A	A	A
KC465922				G	
Haplotype h5					
AY331020			G		
AY331017			G		G
Haplotype hS	C				
Haplotype hBM-57		T			

La fréquence respective de ceux-ci varie selon le site d'échantillonnage. Par exemple, sur la Semois, nous trouvons 100% d'individus avec l'haplotype AY331019 et sur l'Amblève 80% avec l'haplotype KC465922 (Tableau VI.8, Figure VI.21).

Ensuite, ont été identifiés deux haplotypes déjà décrits dans la littérature, nommés AY331020 et AY331017 (Kotlík et al., 2004). Ils font partie du « groupe h5 » (Kotlík & Berrebi, 2001). **h1 et h5** se distinguent entre eux par une transition (A → G) en position 507.

L'haplotype AY331020 varie donc par une seule transition, en position 507, de l'haplotype AY331019, que nous avons pris comme référence au Tableau VI.7. L'haplotype AY331017 s'en distingue, lui, par deux transitions, en 507 et 930.

Les deux derniers haplotypes identifiés (**hS** et **hBM-57**) n'ont pas été retrouvés dans GenBank. Chacun d'eux ne diffère de l'haplotype AY331019 que par une seule transition (T → C) en position 287 pour le premier et (C → T), en position 327, pour le second.

D'après l'étude de Kotlík & Berrebi (2001), seul l'haplotype **h1** est mis en évidence dans les rivières de France (Rhône, Hérault et Loire). Nous n'avons pas de précision concernant le nucléotide présent en position 673. En ce qui concerne le Rhin, 5 des 6 barbeaux séquencés présentaient l'haplotype **h1**, le sixième individu montrait l'haplotype **h5**, bien plus fréquent sur l'Est de l'Europe (Figure VI.20).

Nous pouvons donc supposer que les barbeaux originaires de Wallonie possédaient l'haplotype **h1**, mais ne pouvons préciser s'il s'agissait d'AY331019 et/ou de KC465922.

VI. Caractérisation génétique des populations wallonnes de hotus et barbeaux

Tableau VI.8. Fréquences des différents haplotypes rencontrés dans les populations de barbeaux pêchés en Wallonie.

Haplotypes	Ton	Semois	Haute-Meuse	Lesse	Sambre	Mehaigne	Basse-Meuse	Haute-Ourthe	Ambève	Our	Tot
h1											
AY331019	6	8	5		2	6	5	1	1	3	29
KC465922	2		3	2	2	4	3	7	7	5	35
h5											
AY331020						1					1
AY331017							1		1		2
hS					4						4
hBM-57							1				1
n tot séquencés	8	8	8	2	8	11	10	8	9	8	80
n tot échantillonnés	44	40	19	4	11	11	52	40	47	43	311

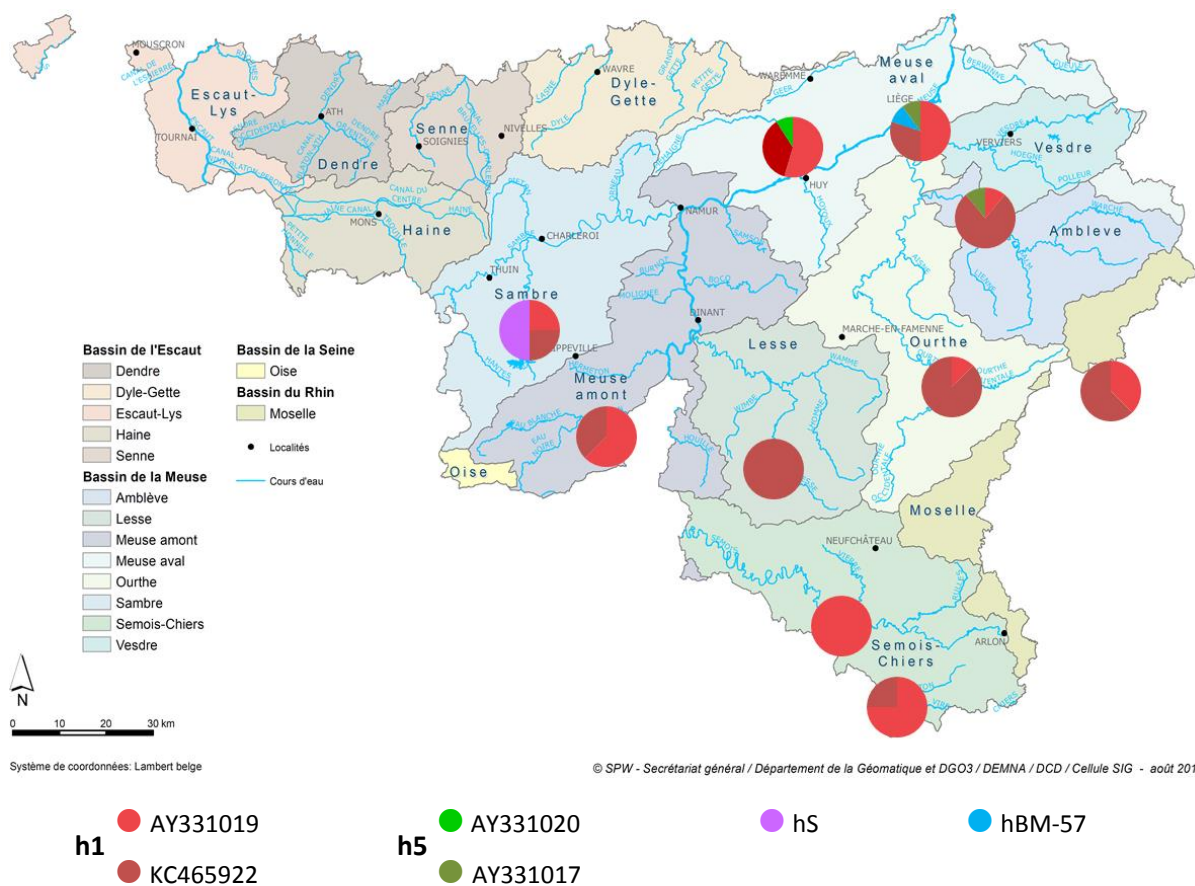


Figure VI.21. Carte illustrant la distribution et les fréquences des différents haplotypes rencontrés dans les populations de barbeaux pêchés en Wallonie.

4. DISCUSSION

Les deux espèces étudiées montrent une structuration génétique des populations à l'échelle du bassin hydrographique, avec une différenciation des populations du bassin mosan par rapport au bassin rhénan, même si celui-ci n'a été étudié que par une seule population (Our).

Chez le hotu, cette observation s'étend aux bassins hydrographiques français du Rhône et de la Loire, dont les populations de l'Ardèche et de l'Allier montrent un degré de différenciation génétique respectivement faible et modéré avec les populations du bassin mosan.

La biologie de ces cyprinidés rhéophiles est caractérisée par une grande mobilité tout au long de leur cycle vital. Les larves et jeunes juvéniles peuvent subir une dérive importante en cas de débit élevé, colonisant les secteurs avals des cours d'eau ; en fonction de leur croissance, les juvéniles vont également spontanément occuper différents secteurs de la rivière à la recherche d'un habitat approprié, et enfin, les adultes peuvent parcourir des dizaines de km lors des migrations de reproduction.

Ces comportements confèrent à ces espèces un pouvoir de colonisation important et facilitent les mélanges génétiques. Bien que de nombreuses barrières physiques naturelles, et surtout artificielles, à la libre circulation des poissons contribuent à isoler certaines populations et entravent ces flux génétiques, plusieurs études s'intéressant à ces espèces (utilisant différents marqueurs génétiques : AFLP, microsatellites, mitADN) ont mis en évidence une structuration et une différenciation génétique des populations sur une vaste échelle géographique, c.-à-d. entre bassins hydrographiques, voire entre sous-bassins, mais pas à une échelle locale (Livi et al., 2013; Hudson et al., 2014; Buonerba et al., 2015). Par exemple en Suisse, où le hotu est une espèce fortement menacée, Hudson et al. (2014) ont défini deux unités de conservation pour la mise en place de futures mesures de gestion des populations de hotu : la première regroupe les populations du bas Rhin, en aval du lac de Constance et des chutes du Rhin ; la seconde comprend les rivières du bassin du Rhin en amont du lac de Constance. Ces deux groupes sont génétiquement différenciés entre eux et des populations du bassin du Danube et du Rhône, mais montrent un faible degré de différenciation entre les populations les composant.

En Wallonie, excepté quelques individus étrangement isolés d'un point de vue génétique (présents dans la Meuse et l'Our), les populations de hotu étudiées se répartissent en deux groupes génétiques relativement homogènes : un groupe composé des populations issues des rivières du bassin mosan (Ton, Semois, Meuse, Ourthe, Amblève), et un groupe propre à l'Our (bassin du Rhin). Le degré de différenciation observé entre ces populations et les populations françaises semble être lié à la

VI. Caractérisation génétique des populations wallonnes de hotus et barbeaux

distance géographique et au degré de connectivité entre les réseaux fluviaux, plus développé entre les bassins de la Meuse, de la Seine, du Rhin et du Rhône, qu'avec la Loire (Voies Navigables de France, www.vnf.fr).

L'analyse des populations françaises est également intéressante car elle met en évidence une dérive génétique des populations très rapide, s'étant opérée sur environ 150 ans, depuis le début de la pénétration du hotu en France (Nelva, 1997). Cette dérive a également pu être favorisée par le déclin de certaines populations françaises, observé après la phase d'expansion, dû aux campagnes d'extermination opérées par les pêcheurs, considérant le hotu comme nuisible, et aboutissant à une fragmentation de son aire de distribution et à un isolement de certaines populations (Sinama, 2009).

Par ailleurs, les distances génétiques et la distribution des fréquences alléliques observées entre les individus des différents bassins hydrographiques étudiés, et en particulier la proximité génétique entre les populations du bassin de la Meuse et de la Chée, appuient l'hypothèse d'une colonisation du réseau hydrographique français à travers le bassin mosan plutôt que directement à partir du bassin du Rhin (Nelva, 1997).

Si les populations des différentes rivières du bassin mosan sont très peu différenciées et montrent une diversité génétique relativement élevée, la variabilité génétique intra-populationnelle est différente d'une station à l'autre. Les valeurs de F_{IS} sont proches de 0 dans la basse-Meuse et l'Amblève, et supérieures à 0,15 dans la haute-Ourthe et la Semois. Cette différence est peut-être due à la position des stations de prélèvement le long des cours d'eau. Les stations de la Semois et de l'Ourthe étaient situées sur le cours haut des rivières, dans des secteurs hydrographiques isolés où les populations ont subi un déclin de leurs effectifs. Si c'est le cas, une telle situation pourrait à terme conduire à une dérive et une différenciation génétique de ces populations, comme observé dans les populations sauvages de truite natives des parties amont de plusieurs rivières du bassin mosan (Van Houdt et al., 2005).

C'est peut-être également le cas pour le barbeau dont la population de la Semois montre un certain degré de différenciation par rapport aux autres populations du bassin mosan (F_{ST} compris entre 0,05 et 0,12).

Cependant, le profil génétique des populations wallonnes de barbeaux est plus compliqué et différent de celui des hotus, en raison des introductions et des opérations de repoissonnement réalisées par le passé (voir V.2).

Même si les indices de différenciation indiquent des différences plus marquées entre les populations de barbeau qu'entre les populations de hotu, la structuration complexe des populations de barbeau,

VI. Caractérisation génétique des populations wallonnes de hotus et barbeaux

probablement due aux mélanges importants déjà opérés suite aux rempoissonnements réalisés dans les années 80 et 90 ne justifie pas de considérer les populations wallonnes comme différenciées les unes des autres, excepté la Semois et l'Our. Les autres populations semblent être composées d'un mélange variable de différentes lignées génétiques.

Les barbeaux de la Meuse, bien qu'au nombre de 11 seulement, sont particulièrement intéressants puisqu'ils pourraient être les descendants des individus déversés dans les années 1980 afin de restaurer les populations de barbeaux disparues auparavant dans cette rivière (Philippart, 1990). Les souches utilisées pour ces opérations de repeuplement provenaient principalement de l'Ourthe, mais également de la Brouffe et de la Meuse.

Cependant, sur base des analyses génétiques réalisées, ces poissons ne peuvent être distingués des autres populations du bassin mosan (excepté la Semois). De même, la caractérisation des haplotypes sur base de l'ADN mitochondrial ne permet pas de les identifier. Par ailleurs, la Meuse avait également subi des déversements de barbeaux d'origine tchèque (provenant d'une pisciculture située à Tábor, sur la rivière Lužnice, affluent de la Moldau, bassin de l'Elbe), ce qui ne permet pas une interprétation claire de ces résultats.

L'excès d'hétérozygotie globalement observé dans les différentes populations wallonnes de barbeau (sauf la haute- et la basse-Meuse), pourrait également provenir des flux alléliques engendrés par ces déversements.

L'ensemble des résultats suggèrent donc que ces multiples introductions de poissons d'origines diverses ont certainement contribué à la diversification et au mélange des lignées génétiques observées chez le barbeau. Une tentative d'identification de la (ou des) souche(s) native(s) de barbeau a dès lors été entreprise grâce à l'étude de l'ADN mitochondrial (cytb).

Cette étude a permis d'identifier 6 haplotypes différents parmi les barbeaux wallons, 2 majeurs appartenant au groupe h1, 2 mineurs appartenant au groupe h5, et 2 autres mineurs non-décrits. Ces 6 haplotypes sont peu différenciés puisqu'ils ne sont séparés les uns des autres que par 1 étape mutationnelle, sauf l'haplotype mineur AY331017 qui en compte 2. Il est probable que les barbeaux natifs de Wallonie possèdent un des deux, ou les deux haplotypes majeurs AY331019 et KC465922.

Cependant, sans une étude plus globale de la phylogénie européenne du barbeau basée sur la séquence complète du cytb, il est difficile d'établir la répartition réelle des haplotypes identifiés. En effet, bien que les haplotypes du groupe h1 caractérisent principalement les populations d'Europe de l'Ouest, l'haplotype AY331019 a également été rapporté dans certains grands bassins est-européens :

VI. Caractérisation génétique des populations wallonnes de hotus et barbeaux

Danube, Vistule et Elbe (Kotlík et al., 2004; Buonerba et al., 2015, basé sur une séquence de 733 pb) où il cohabite avec le groupe h5.

Certains barbeaux introduits dans nos rivières dans les années 90 provenant du bassin de l'Elbe, la distribution des haplotypes majeurs observés en Wallonie n'est pas aisée, sur base des données disponibles. Par ailleurs, la présence de l'haplotype AY331019 dans certains bassins d'Europe centrale et de l'Est n'exclut pas son occurrence dans les populations natives de Wallonie. Kotlik & Berrebi (2001) explique en effet la distribution des haplotypes h1 et h5 par une dispersion européenne de l'espèce après la dernière glaciation (Pléistocène), à partir de 2 refuges, l'un situé en Europe de l'Ouest (France), et l'autre dans la région du Danube.

Par ailleurs, l'autre haplotype appartenant au groupe h1 identifié dans notre étude, KC465922, n'a jusqu'à présent été rapporté qu'en Italie (Pô) où *B. barbatus* est une espèce invasive, mais son origine est inconnue (Meraner et al., 2013).

VII. MISE AU POINT ET AMÉLIORATION DES TECHNIQUES D'ÉLEVAGE DU HOTU

Ce chapitre présente les résultats des expériences menées dans le cadre du projet visant à maîtriser l'ensemble des étapes du cycle de production du hotu. La compilation de l'ensemble de ces résultats, complétée par les données disponibles dans la littérature, fait l'objet d'un document technique consacré à l'élevage du hotu.

3. MATURATION SEXUELLE, REPRODUCTION ET INCUBATION

3.1. *Reproduction de géniteurs sauvages*

Les premières reproductions artificielles ont été réalisées en utilisant des géniteurs matures, capturés dans les zones de frai durant la période de reproduction. Ces reproductions ont fourni les larves et juvéniles nécessaires pour les essais zootechniques et la constitution de stocks de géniteurs captifs.

Le 5 avril 2012, 27 géniteurs (9 ♀, 18 ♂) ont été pêchés à l'électricité dans l'Ourthe ($t^{\circ} = 10,6^{\circ}\text{C}$), en aval du barrage de Méry. Huit femelles matures et 10 mâles spermiantes ont été ramenés au Cefra et maintenus dans des bassins de $4\text{ m}^2/1,6\text{ m}^3$ alimentés en eau de Meuse ($t^{\circ} = 11,6^{\circ}\text{C}$). Avant leur introduction en bassin, les femelles ont subi une injection intramusculaire d'Ovaprim à $0,5\text{ ml/kg}$ (Figure VII.1) afin d'induire la maturation finale et la ponte (Targońska et al., 2008; Żarski et al., 2008). Elles ont été contrôlées successivement 24 – 41 – 48 h après injection.



Figure VII.1. Injection intramusculaire d'hormones maturantes chez une femelle hotu.

VII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du hotu

Cinq pontes ont été obtenues 41 h post-injection et 1 sixième 48 h post-injection (Tableau VII.1). Trois femelles n'ont pas répondu. Les ovules ont été récoltés dans un bol par pression abdominale (stripping) et fécondés par la méthode sèche (Figure VII.2). Chaque ponte a été fécondée avec le sperme provenant d'un mâle. Celui-ci était strippé directement au-dessus des œufs. Il faut noter que le stress induit par le transport des poissons, leurs manipulations et leur transfert dans un environnement artificiel confiné a provoqué, en 48 h, une diminution nette de la quantité de sperme disponible. Dès l'ajout d'eau, les œufs de hotu sont moyennement collants. Afin de limiter leur caractère adhésif et d'éviter leur agglutination dans les systèmes d'incubation, il est nécessaire d'agiter les œufs légèrement, mais de façon continue, dès la fécondation.

Tableau VII.1. Poids des femelles, des pontes et fécondité.

Poids ♀ (g)	Poids ponte (g)	Fécondité (g.kg♀ ⁻¹)
1980	375	189
2420	606	250
2240	525	234
2060	235	114
2340	535	229
1980	397	201
Moyenne		203 ± 49

Les œufs fécondés ont été incubés en bouteilles de Zoug (1,5 l), en circuit fermé, dans 2 écloséries différentes. Une petite proportion a été incubée sur claies mais ce système d'incubation a été abandonné en raison des fortes mortalités qu'il induisait. Les paramètres physico-chimiques de l'eau pendant la période d'incubation étaient : éclosérie 1 : température = $14,3 \pm 0,2$ °C ; [O₂] = $7,7 \pm 0,4$ mg/l ; [N-NH₄] = $0,50 \pm 0,08$ mg/l ; [N-NO₂] = $0,13 \pm 0,07$ mg/l ; éclosérie 2 : température = $13,9 \pm 0,5$ °C ; [O₂] = $8,8 \pm 0,4$ mg/l ; [N-NH₄] = $0,39 \pm 0,08$ mg/l ; [N-NO₂] = $0,27 \pm 0,05$ mg/l.

Le pic d'éclosion a eu lieu 8 jours post-fécondation (jpf) (112 °C.j) et la résorption presque complète de la vésicule vitelline à 13 jpf. Ces 6 pontes ont permis de produire environ 130000 larves de hotus.

VII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du hotu



Figure VII.2. Illustration des différentes étapes de la reproduction artificielle et de l'incubation chez le hotu : (A) récolte du sperme, (B) récolte des ovules, (C) mélange du sperme et des ovules, (D) ajout d'eau pour activer les spermatozoïdes, (E) mélange durant la fécondation, (F) rinçage, (G) incubation des œufs en bouteille de Zoug, (H), larves après éclosion.

3.2. Cycle de maturation sexuelle chez le hotu en captivité : étude histologique et morphométrique du développement gonadique d'individus F1 âgés de deux ans

Chez de nombreuses espèces de poissons, la domestication et les conditions de captivité (abondance de nourriture, densité de peuplement élevée, température et/ou photopériode optimales, confinement) conduisent à des modifications de stratégies reproductives. Elles peuvent se manifester par une précocité de la première maturation sexuelle ainsi que par des pontes multiples étalées sur une plus longue période de reproduction. C'est le cas notamment chez le barbeau. En conditions naturelles, la première maturation sexuelle est observée à l'âge de 7 ans, la ponte est généralement unique (synchrone) au cours d'une saison et survient au mois de mai-juin. En captivité, les mâles et femelles sont sexuellement matures à 2 ans. Les femelles adoptent une stratégie de reproduction asynchrone, produisant des pontes multiples sur une période s'étalant de février à août (Poncin, 1988).

Le contrôle de l'ensemble du cycle de production du hotu nécessite encore la maîtrise de la reproduction artificielle à partir de géniteurs captifs. Jusqu'à présent, les alevins produits étaient issus de la reproduction artificielle de géniteurs matures pêchés dans le milieu naturel. Dans la nature, la maturité sexuelle est atteinte après 5 à 7 ans. Les premiers poissons captifs avaient été produits en 2012. Afin de vérifier une éventuelle précocité de la maturité sexuelle chez ces poissons âgés de 2 ans, un suivi de la maturation et du développement gonadique a été mis en place (en 2014), consistant en :

- un suivi de la production de gamètes par stripping ;
- une étude morphométrique pour déterminer l'évolution temporelle de la taille des gonades ;
- un suivi histologique des gonades afin de déterminer précisément les différents stades de maturation des gonades mâles et femelles.
- l'étude de l'influence de deux paramètres pouvant affecter la vitesse de maturation sexuelle : la teneur en lipide de l'aliment et le confinement.

3.2.1. Lots expérimentaux et conditions d'élevage

Les juvéniles étaient issus de 6 familles obtenues par reproduction artificielle de géniteurs matures pêchés dans l'Ourthe le 5 avril 2012. Le 11 mars 2014, 3 lots ont été constitués afin de suivre l'évolution de la maturité sexuelle (Tableau VII.2) : 2 lots étaient stockés en bassins de 1,6 m³, le

VII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du hotu

premier nourri avec un aliment pour carpes pauvre en lipides (Carpco excellent, 7 % lipides), le second nourri avec un aliment pour carpes plus riche en lipides (Skretting, 12 % lipides) ; le troisième lot, nourri avec l'aliment pauvre en lipides (Carpco excellent) était confiné en bassin de 0,8 m³.

Tableau VII.2. Caractéristiques des lots expérimentaux utilisés pour le suivi de la maturation sexuelle.

	Lot LC7L	Lot LC12L	Lot HC7L
Volume (m ³)/surface (m ²) bassin	1,6/4	1,6/4	0,8/1,5
n individus	322	341	100
Poids moyen initial (g)	82,2	78,0	80,5
Protéines/lipides (%) aliment	36/7	34/12	36/7

LC7L : faible confinement, aliment contenant 7 % lipides ; LC12L : faible confinement, aliment contenant 12 % lipides ; HC7L : confinement élevé, aliment 7 % lipides.

Les bassins faisaient partie d'un circuit recirculé maintenu à une température de 17 °C. Les poissons étaient soumis à la lumière naturelle, complétée par un éclairage artificiel d'appoint assurant une photopériode de 14 h jusqu'au 3 juin 2014, et 16 h par la suite. La ration alimentaire était maximale.

3.2.2. Echantillonnage et paramètres mesurés

Toutes les 2 semaines, 50 individus de chaque lot étaient anesthésiés, leur biomasse mesurée, et leur maturité sexuelle contrôlée par l'apparition de boutons de frai et l'émission de gamètes (sperme ou ovules) par pression abdominale (stripping).

Tous les mois, 6 individus des lots LC7L et LC12L étaient sacrifiés pour étudier le développement gonadique. Les poissons étaient pesés et mesurés, les gonades pesées et conservées dans du formol 10 % pour l'étude histologique.

Les paramètres évalués étaient :

- le coefficient de condition : $K = \text{Poids (g)} / \text{Longueur}^3 \text{ (cm)}$;
- l'indice gonado-somatique : $\text{IGS (\%)} = 100 \times \text{Poids gonades} / \text{Poids corporel}$;
- la fécondité totale des femelles a été estimée en comptant le nombre d'ovocytes contenus dans 1 g de gonade ;
- la distribution des stades ovocytaires ;
- les tailles ovocytaires.

VII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du hotu

Les coupes histologiques des gonades mâles et femelles, colorées à l'éosine-hématoxyline, ont été analysées grâce à la plateforme CYTOMINE (Marée et al., 2013). Cet outil a permis une analyse quantitative du développement ovarien. Sur chaque coupe, les ovocytes appartenant aux différents stades de maturation (Tableau VII.3, Figure VII.3) étaient dénombrés, et les surfaces des ovocytes dont les coupes passaient par le noyau étaient mesurées. Les coupes de testicules ont été analysées de manière qualitative.

Tableau VII.3. Description des stades de maturation ovocytaire.

Stade	Caractéristiques
Ovocyte 1 protoplasmique	Ovocyte de petite taille avec un gros noyau central et de nombreux nucléoles ; cytoplasme basophile ; membranes ovocytaires indifférenciées. Arrêt de la méiose en prophase I.
Ovocyte 2 vitellogénèse endogène	Des vésicules de vitellus apparaissent et les membranes folliculaires se différencient.
Ovocyte 3 vitellogénèse exogène	Accumulation centrifuge de globules de vitellus qui repoussent les vésicules en périphérie, formant les alvéoles corticales.
Ovocyte 4 maturation finale	Formation du micropyle par invagination des cellules folliculaires, migration du noyau vers le pôle animal et rupture de la membrane nucléaire. Reprise de la méiose jusqu'en métaphase II

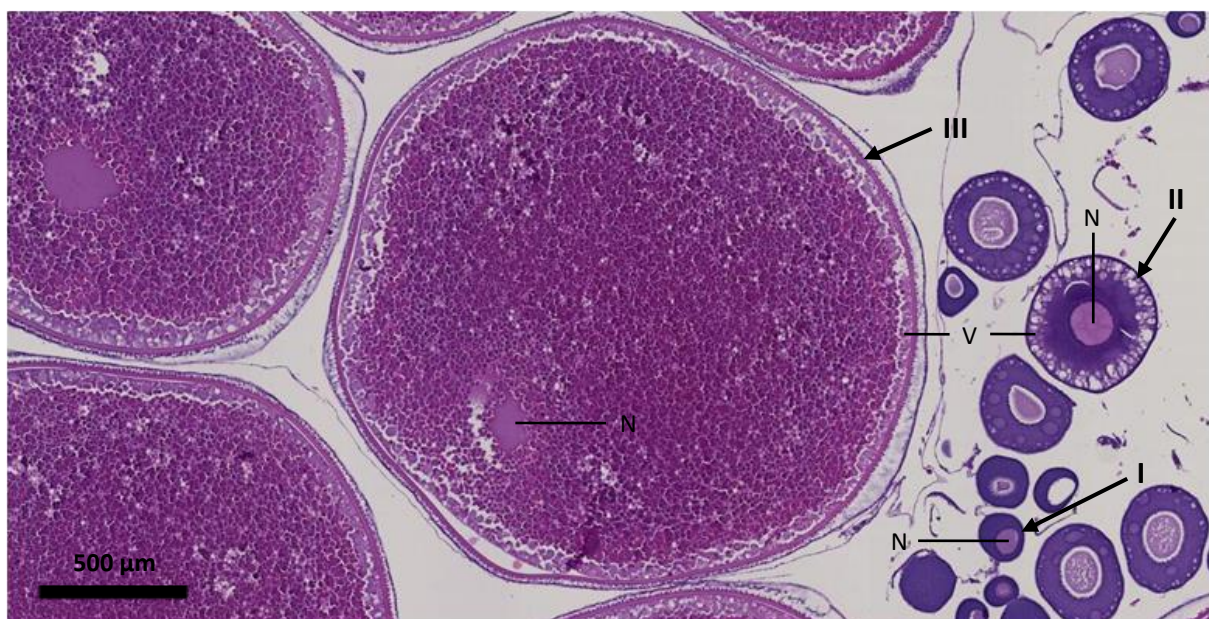


Figure VII.3. Coupe histologique d'un ovaire de hotu captif âgé de 26 mois élevé en conditions intensives. I : ovocyte 1, II : ovocyte 2, III : ovocyte 3, N : noyau, V : vésicules vitellines.

3.2.3. Croissance

La croissance a suivi une tendance linéaire durant la période expérimentale, semblable dans les deux lots recevant l'aliment pauvre en lipides, quel que soit le niveau de confinement (Figure VII.4). En effet, entre mars et juillet, les poids moyens ont augmenté de 79 à 100 g dans le lot LC7L et de 76 à 105 g dans le lot HC7L. Par contre, la croissance a été plus faible dans le lot nourri avec l'aliment riche en lipide (LC12L), le poids moyen ayant augmenté de 76 à 86 g.

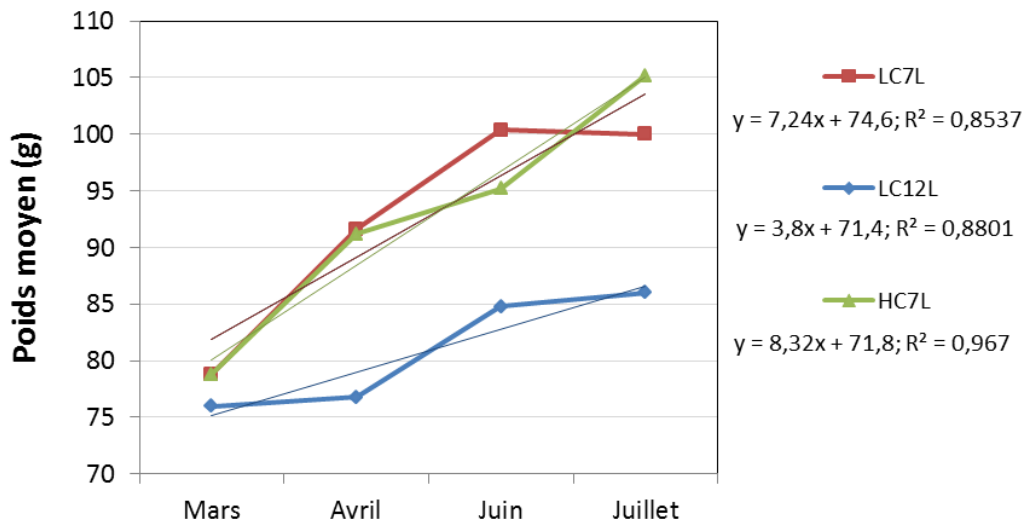


Figure VII.4. Courbe de croissance des 3 lots expérimentaux de hotus entre mars et juillet (LC7L : faible confinement, aliment 7 % lipides ; LC12L : faible confinement, aliment 12 % Lipides ; HC7L : confinement élevé, aliment 7% lipides).

Chez les mâles et les femelles, les valeurs moyennes de coefficient de condition K étaient comprises entre 1,0 et 1,2 de février à juin et ne semblaient pas être différentes entre les lots LC7L et LC12L (Figure VII.5). Une diminution marquée a ensuite été observée entre juin et juillet pour atteindre des valeurs comprises entre 0,84 et 0,94.

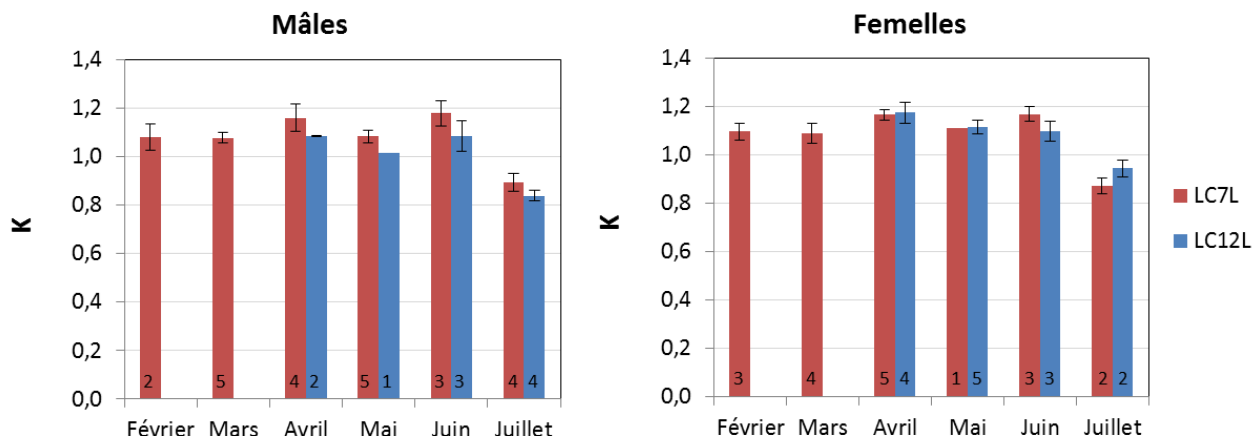


Figure VII.5. Evolution du coefficient de condition (moyenne \pm erreur-type) des hotus mâles et femelles entre février et juillet. Les nombres dans les barres d'histogramme indiquent les effectifs (LC7L : faible confinement, aliment 7 % lipides ; LC12L : faible confinement, aliment 12 % lipides).

3.2.4. Indicateurs externes de maturité sexuelle

Sur les 11 contrôles (n = 50/lot) réalisés entre février et juillet 2014, aucune femelle mature, émettant des ovules par stripping, n'a été observée. Un mâle échantillonné en juin était spermiant mais le sperme récolté était inactif.

Un des critères externes de maturité sexuelle chez le hotu est l'apparition de boutons de frai sur la tête des géniteurs. Les premiers boutons de frai ont été observés le 20 mai (Figure VII.6). Le pourcentage de poissons portant des boutons de frai a ensuite augmenté pour atteindre un maximum de 58 et 36 % dans les lots LC7L et HC7L respectivement le 17 juin. L'apparition de boutons de frai dans le lot LC12L était plus tardive, atteignant un maximum de 42 % des poissons au mois de juillet.

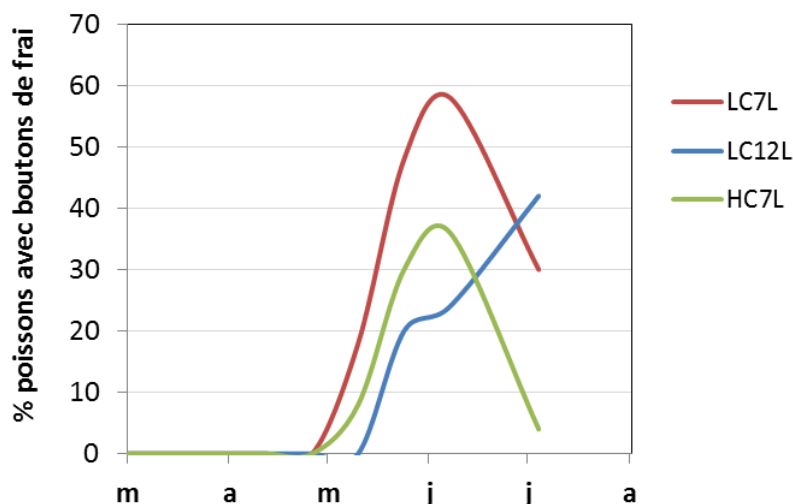


Figure VII.6. Evolution du pourcentage de poissons portant des boutons de frai (LC7L : faible confinement, aliment 7 % lipides ; LC12L : faible confinement, aliment 12 % lipides).

3.2.5. Indice gonado-somatique (IGS)

Globalement, les valeurs d'IGS ont augmenté au cours de la saison de suivi (Figure VII.7). Dans le lot LC7L, l'IGS maximal a été atteint au mois de juin, avec des moyennes respectives chez les mâles et les femelles de $4,33 \pm 0,42$ et $11,30 \pm 1,56$ %. Dans le lot LC12L, les valeurs maximales ont été observées en juillet, avec une moyenne de $3,01 \pm 0,65$ % chez les mâles, et $12,72 \pm 2,14$ % chez les femelles.

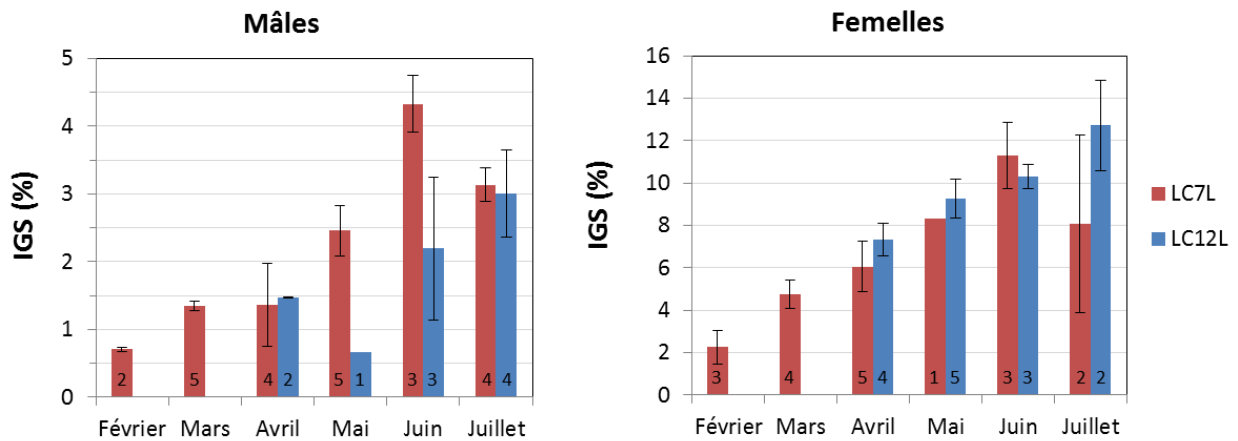


Figure VII.7. Evolution l'indice gonado-somatique (IGS moyen \pm erreur-type) des hotus mâles et femelles entre février et juillet. Les nombres dans les barres d'historgramme indiquent les effectifs (LC7L : faible confinement, aliment 7 % lipides ; LC12L : faible confinement, aliment 12 % lipides).

3.2.6. Fécondité

La fécondité relative moyenne des femelles était comprise entre 23000 et 40000 ovocytes / kg dans le lot LC7L (maximum en avril : 39932 ± 10720 ovocytes / kg ; fécondité totale = 3141 ± 722 ovocytes / femelle), et entre 35000 et 44000 ovocytes / kg dans le lot LC12L (maximum en mai : 43572 ± 4017 ovocytes / kg ; fécondité totale = 4533 ± 322 ovocytes / femelle) (Figure VII.8).

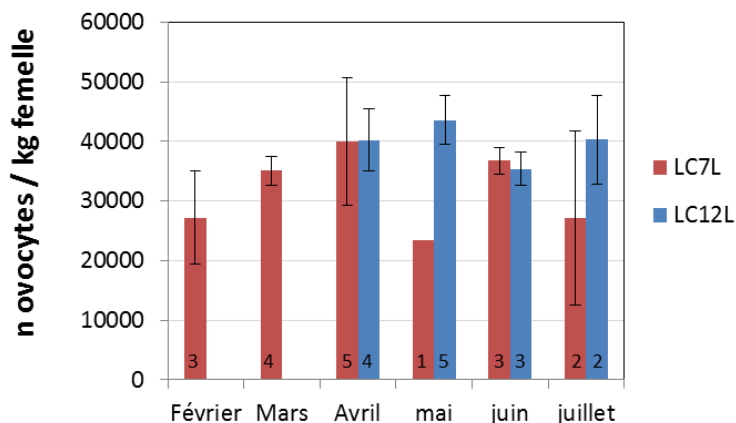


Figure VII.8. Evolution la fécondité relative (n ovocytes / kg femelle ; moyenne \pm erreur-type) des hotus femelles entre février et juillet. Les nombres dans les barres d'historgramme indiquent les effectifs (LC7L : faible confinement, aliment 7 % lipides ; LC12L : faible confinement, aliment 12 % lipides).

3.2.7. Etude histologique des ovaires

3.2.7.1. Avancement de l'ovogenèse

L'analyse histologique des ovaires de hotu a révélé la présence de 3 stades de développement ovocytaire différents chez les femelles âgées de 23 à 27 mois (Figure VII.3) : ovocytes I (surface moyenne \pm erreur-type: $54 \pm 5 \cdot 10^3 \mu\text{m}^2$), ovocytes II (surface moyenne \pm erreur-type: $182 \pm 12 \cdot 10^3 \mu\text{m}^2$) et ovocytes III (surface moyenne \pm erreur-type: $2091 \pm 38 \cdot 10^3 \mu\text{m}^2$). Cette observation met en évidence une évolution de la maturation ovocytaire puisqu'à 12 mois (avril 2013), les ovaires de la majorité de ces poissons ne contenaient que des ovocytes I (Figure VII.9) et certains quelques ovocytes II.

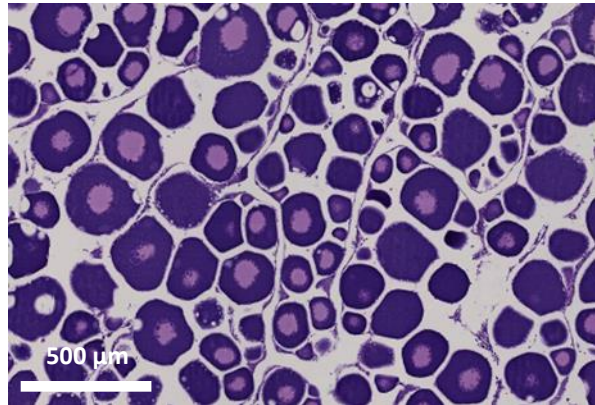


Figure VII.9. Coupe histologique d'un ovaire de hotu captif âgé de 12 mois élevé en conditions intensives.

3.2.7.2. *Distribution des classes ovocytaires*

La fréquence de distribution des ovocytes III, en vitellogenèse exogène, a augmenté de 17 % en février à 39 % en mai dans les lots LC7L et LC12L (Figure VII.10). Une légère diminution a ensuite été observée entre mai et juin. La proportion d'ovocytes II a également augmenté par rapport aux ovocytes I, passant d'un minimum de 4 % en mars à 10 % en mai dans les 2 lots.

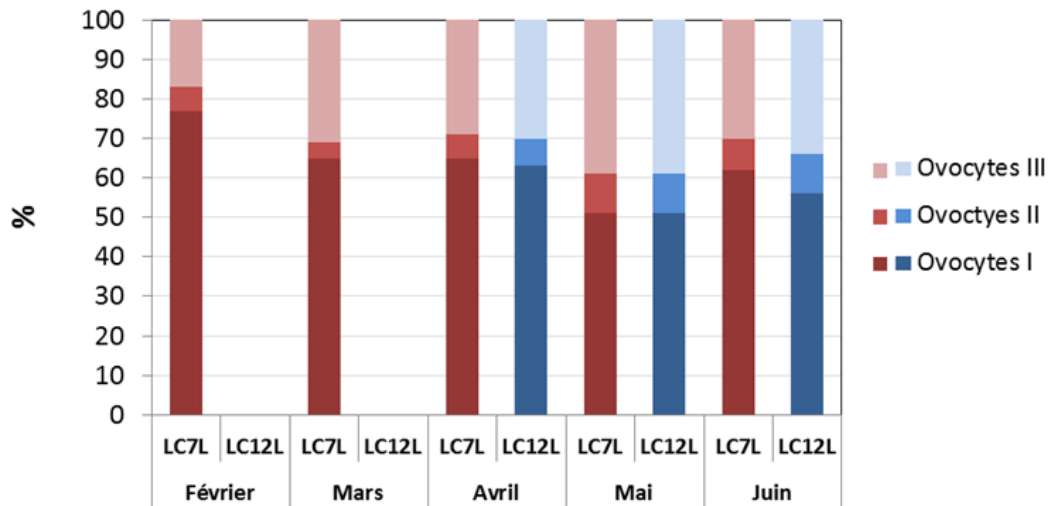


Figure VII.10. Evolution des fréquences de distribution des classes ovocytaires chez les hotus captifs entre février et juin (LC7L : faible confinement, aliment 7 % lipides ; LC12L : faible confinement, aliment 12 % lipides).

3.2.7.3. *Distribution de la taille des ovocytes*

La fréquence des ovocytes de grande taille (ovocytes III, surface $> 1000 \cdot 10^3 \mu\text{m}^2$, diamètre $> 1,1 \text{ mm}$) a augmenté entre février et avril (Figure VII.11). Les surfaces ovocytaires maximales ($> 3500 \cdot 10^3 \mu\text{m}^2$, diamètre $> 2,1 \text{ mm}$) ont été observées en avril, parallèlement à une diminution de la fréquence des ovocytes I de plus petite taille (surface $< 100 \cdot 10^3 \mu\text{m}^2$). La fréquence des ovocytes de grande taille est restée élevée en mai, mais les tailles maximales observées ne dépassaient plus $2100 \cdot 10^3 \mu\text{m}^2$. Elle a ensuite légèrement diminué en juin, concomitamment à l'augmentation de la fréquence d'ovocytes I. Il ne semble pas y avoir de différence marquée dans la distribution des tailles ovocytaires entre le lot LC7L et le lot LC12L au mois d'avril. Par contre, en mai et juin, les ovocytes de plus grande taille étaient observés dans le lot LC7L.

VII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du hotu

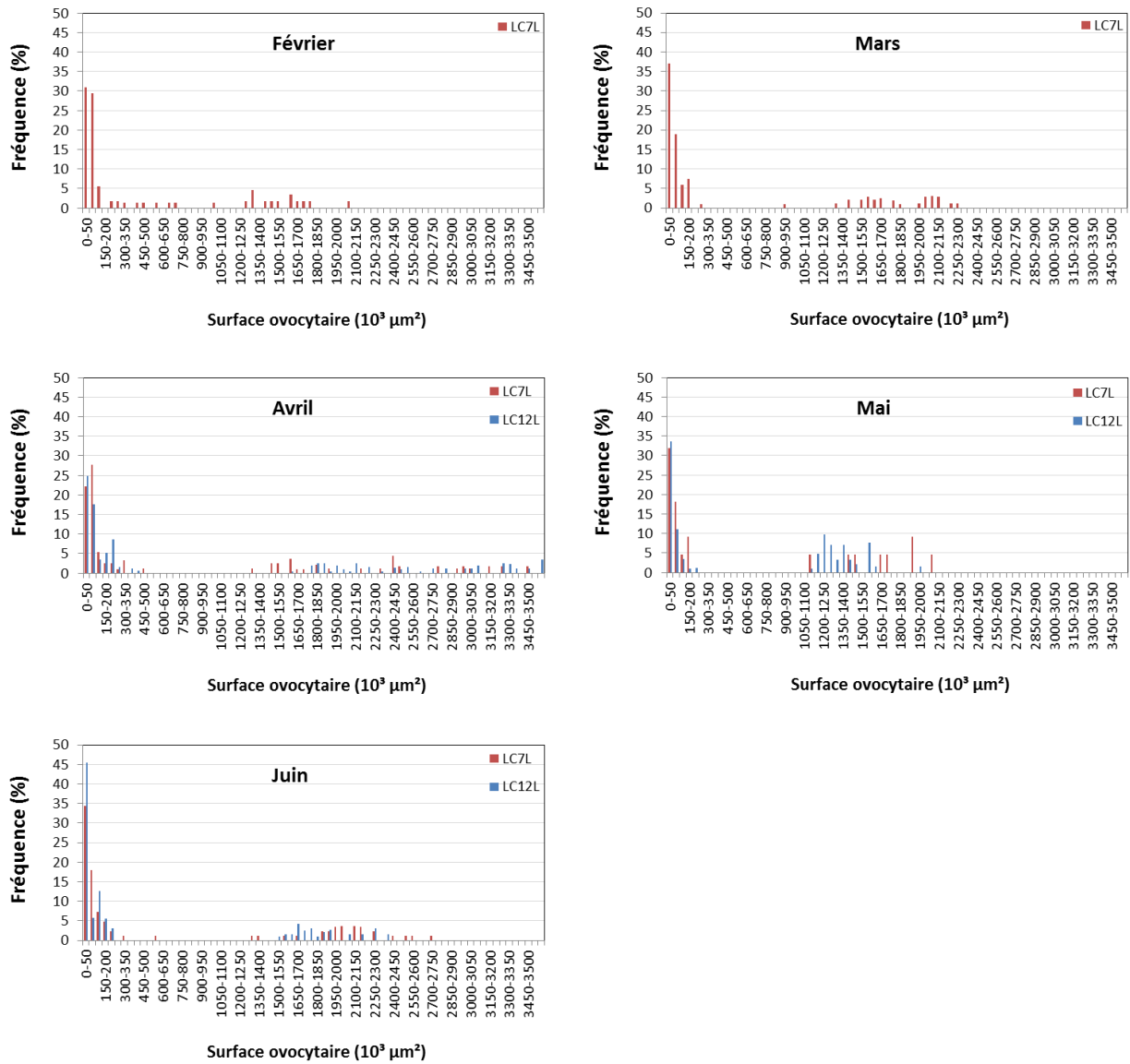


Figure VII.11. Evolution des fréquences de distribution des tailles ovocytaires (classes de surface de $50 \cdot 10^3 \mu\text{m}^2$) chez les hotus captifs entre février et juin (LC7L : faible confinement, aliment 7 % lipides ; LC12L : faible confinement, aliment 12 % lipides).

3.2.8. Etude histologique des testicules

Les testicules aux stades les plus avancés de la spermatogenèse ont été prélevés entre avril et juin et contenaient des spermatogonies, des spermatocytes (I et II) et des spermatides ; mais aucun spermatozoïde n'a été observé dans les lumières des tubules spermatiques (figure 19). Les spermatides sont le résultat de la 2^e division méiotique. Ces cellules devront encore entamer une phase de maturation pour se différencier en gamètes fonctionnels que sont les spermatozoïdes.

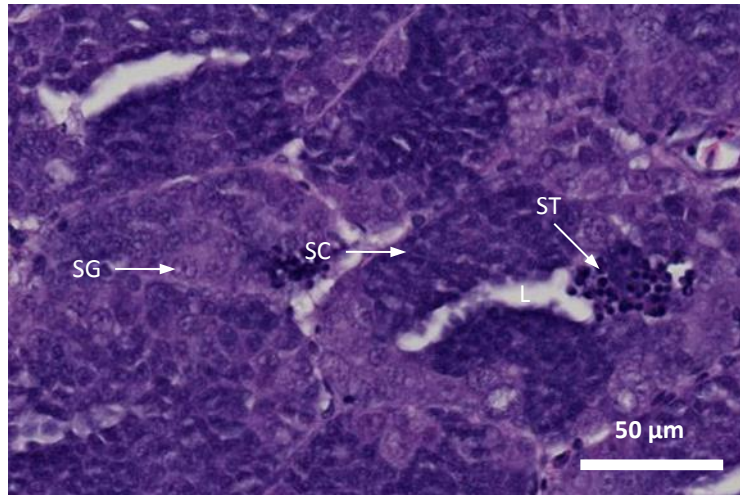


Figure VII.12. Coupe histologique d'un testicule de hotu captif âgé de 26 mois élevé en conditions intensives.
L : lumière d'un tubule spermatique ; SG : spermatogonie ; SC : spermatocyte ; ST : spermatide.

3.2.9. Discussion

Dans nos conditions d'élevage intensives (température : 17 °C, aliment artificiel, densité : 100-200 individus m⁻³), le hotu n'atteint pas la maturité sexuelle à 2 ans. Cependant, les indicateurs de maturité sexuelle évalués dans cette étude montrent, chez les mâles et les femelles, un état proche de la maturation finale et appuient l'hypothèse d'une précocité de la première maturité sexuelle chez les hotus en captivité.

La caractérisation de géniteurs sauvages en période de reproduction, réalisées par Poncin et al. (1990), nous permet de comparer les indicateurs de maturité relevés chez des poissons captifs de 2 ans avec ceux de poissons sauvages âgés de 4 à 11 ans et pesant de 400 à 1100 g (Tableau VII.4). Chez les mâles, nous notons que les coefficients de condition sont semblables chez nos futurs géniteurs captifs et des géniteurs sauvages. Par contre les femelles âgées de 2 ans présentent des K moyens (1,13) inférieurs à ceux de femelles sauvages qui sont en moyenne de 1,35. Certains individus captifs se distinguent toutefois et le K max observé en avril était de 1,26.

VII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du hotu

Bien que les valeurs d'IGS et de fécondité rapportées dans le Tableau VII.4 soient sous-estimées pour les géniteurs sauvages, car évaluées sur base des pontes ovulées et non d'un prélèvement ovarien, il est intéressant de noter que les IGS des femelles captives sont comparables à ceux de géniteurs sauvages. La fécondité relative estimée chez les femelles captives est supérieure à celle évaluée chez de femelles sauvages et le diamètre maximal des ovocytes relevé dans notre étude se situe dans la gamme de diamètre des ovules matures. D'après la relation établie par Philippart (1981) chez des géniteurs sauvages entre la fécondité absolue et la longueur corporelle $\text{Log } F_a = -6,282 + 4,180 \text{ Log } L$ (où F_a : fécondité absolue ; L : longueur corporelle), la fécondité absolue d'une femelle de 100 g mesurant 200 mm devrait être de 2170 ovocytes. Or, la valeur moyenne évaluée au mois de juin dans notre étude atteignait 3488 ovocytes.

Tableau VII.4. Comparaison des caractéristiques de hotus captifs âgés de 2 ans (valeurs moyennes de juin 2014) et de géniteurs sauvages (Poncin et al., 1990) pêchés dans l'Ourthe en avril 1990 (K : coefficient de condition ; IGS : indice gonado-somatique ; F_{rel} : fécondité relative ; F_a : fécondité absolue). L'IGS et la fécondité des géniteurs sauvages ont été estimés sur base du nombre et du poids d'ovules pondus.

	Mâles		Femelles	
	Cette étude	Poncin et al. (1990)	Cette étude	Poncin et al. (1990)
Age	2+	4+ - 11+	2+	5+ - 10+
Poids (g)	82 ± 23	594 ± 135	95 ± 24	751 ± 216
K	1,13 ± 0,10	1,15 ± 0,09	1,13 ± 0,06	1,35 ± 0,16
IGS (%)	3,3 ± 1,7	/	10,8 ± 1,9	8,6 ± 5,2
F_{rel} (n ovocytes / kg)			36038 ± 3968	15102 ± 8121
F_a (n ovocytes)			3488 ± 707	11912 ± 7416
Diamètre ovocytaire (mm)			max 2,14	2,03 à 2,49

Cette comparaison montre que, si les K des femelles captives semblent encore un peu faibles, les valeurs d'IGS, de fécondité et de diamètre ovocytaire sont comparables à celles de femelles matures âgées de plus de 5 ans. De plus, la présence de boutons de frai chez les mâles et les femelles, ainsi que l'observation d'ovocytes et de spermatozoïdes à un stade proche de la maturation finale suggèrent que ces poissons atteindront la maturité sexuelle précocement.

En rivière, la reproduction du hotu a lieu en mars-avril. Dans les conditions artificielles dans lesquelles étaient maintenus nos poissons, la stimulation de la maturation sexuelle est survenue plus

VII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du hotu

tard, entre avril et juin. La température et la photopériode sont 2 facteurs externes importants régulant la maturation sexuelle. Généralement, une température suffisante est nécessaire pour la reproduction (10 à 14 °C pour le hotu en conditions naturelles) et l'augmentation de la photopériode agit comme un stimulus déclencheur (Poncin, 1993b). Dans cette étude, la température était constante et largement supérieure au minimum nécessaire à la reproduction. La photopériode artificielle a été augmentée le 3 juin, ce qui a pu avoir un effet stimulant, comme illustré par l'augmentation de poissons portant des boutons de frai dans le lot LC12L à la mi-juin. Un contrôle total de la photopériode pourrait probablement permettre une maîtrise plus fine de la maturation sexuelle chez cette espèce.

Le confinement et l'alimentation plus riche semblent avoir eu peu d'effet sur la maturation sexuelle. Il est difficile de déterminer précisément le stade de maturité des poissons soumis à un confinement plus important (lot HC7L), puisque seuls des indicateurs externes ont été évalués chez ces poissons, mais aucun poisson mature n'a été observé dans ce lot et le nombre de poissons portant des boutons de frai étaient largement inférieur aux poissons moins confinés, suggérant que le confinement n'a pas eu d'effet positif sur la maturation sexuelle. Peu de différences ont également été observées entre les lots recevant des aliments différents (LC7L et LC12L). Cependant, les poissons recevant l'aliment le plus riche (LC12L) ont été affectés par une croissance plus faible et un retard dans l'évolution des indices de maturité sexuelle.

En conclusion, au regard de l'évolution favorable de la maturité sexuelle chez des poissons de 100 g âgés de 2 ans, nous pouvons émettre l'hypothèse que ces hotus seront totalement matures et prêts à être utilisés comme géniteurs dans un programme de reproduction dès leur 3^e année.

3.3. Cycle de maturation sexuelle chez le hotu en captivité : étude histologique et morphométrique du développement gonadique d'individus F1 âgés de trois ans et essai de contrôle photopériodique

Le suivi du développement gonadique réalisé en 2014 sur des hotus âgés de 2 ans (voir VII.1.2) avait mis en évidence, chez des poissons captifs, un cycle de maturation sexuelle s'étalant d'avril à juillet. La maturité sexuelle avait été évaluée au travers de différents indicateurs externes et internes : présence de boutons de frai, IGS, distribution ovocytaire et développement testiculaire.

Cependant, bien qu'un pic de maturité ait été atteint début juin et que les futurs géniteurs montraient des signes d'un avancement important de la maturation sexuelle (présence de spermatides dans les testicules et d'ovocytes en vitellogenèse exogène dans les ovaires), aucun individu mature émettant des gamètes (sauf un mâle spermiant) n'avaient été observé.

Par ailleurs, cette première étude avait mis en évidence un probable changement de stratégie reproductrice des géniteurs femelles en captivité, passant d'une maturation synchrone en milieu naturel à une maturation asynchrone en captivité, l'ovaire comportant des ovocytes à différents stades de développement.

Ces poissons n'ayant pas atteint la maturité sexuelle à 2 ans, un nouveau suivi a été mis en place 1 an plus tard afin d'obtenir des géniteurs matures et mettre au point les techniques de ponte du hotu en captivité.

De plus, différents régimes photopériodiques ont été utilisés afin de tester un possible effet stimulateur d'une augmentation de la photopériode sur la maturation sexuelle et la possibilité de contrôler les cycles de maturation.

Trois régimes photopériodiques ont été testés et le suivi des paramètres de maturité sexuelle a consisté en :

- un suivi de la production de gamètes par stripping ;
- une étude morphométrique pour déterminer l'évolution temporelle de la taille des gonades ;
- un suivi histologique des gonades afin de déterminer précisément les différents stades de maturation des gonades mâles et femelles.

De plus, des essais d'induction hormonale et de synchronisation de la ponte ont été réalisés sur les géniteurs montrant les signes de maturité les plus avancés. Par la suite, les pontes obtenues ont été fécondées et leur qualité caractérisée au cours de l'incubation et de l'élevage larvaire.

3.3.1. Lots expérimentaux et conditions d'élevage

Les poissons issus de l'étude de 2014 (voir VII.1.2.1) ont été utilisés pour la constitution des lots. Trois régimes photopériodiques (Figure VII.13) ont été testés en réplicas :

- Les lots 1 et 2 étaient soumis à une photopériode naturelle (groupe PN). Celle-ci était ajustée tous les vendredis suivant les éphémérides.
- Les lots 3 et 4, sous photopériode artificielle, ont subi un brusque changement de photopériode, de 8h à 16 h de lumière, le 1^{er} février 2015 (groupe P16F).
- Les lots 5 et 6, sous photopériode artificielle, ont subi un brusque changement de photopériode, de 8h à 16 h de lumière, le 1^{er} mars 2015 (groupe P16M).

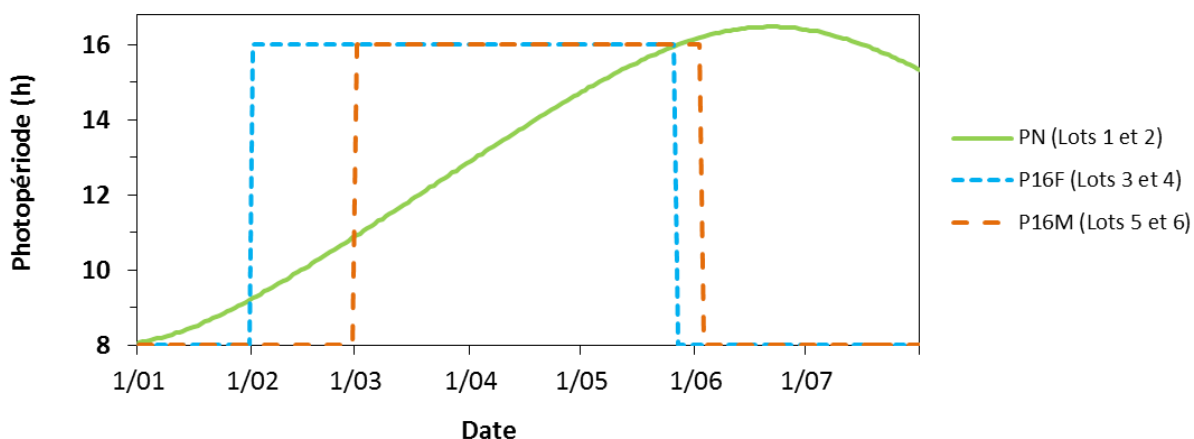


Figure VII.13. Régimes photopériodiques appliqués aux hotus entrant dans leur premier cycle de maturation sexuelle en captivité (PN : photopériode naturelle ; P16F : passage de 8 à 16 h de lumière le 1^{er} février 2015 ; P16M : passage de 8 à 16 h de lumière le 1^{er} mars 2015).

En début d'expérience (21/01/2015), les poissons étaient âgés de 34 mois et pesaient en moyenne 144 g. Chaque lot comptait 130 individus (sexe-ratio supposé 1:1) pour une biomasse totale de 18,7 kg/bassin. Ils étaient maintenus en bassins d'1 m³ dans un circuit recirculé à une température de 16 °C. Les bassins étaient munis d'un couvercle avec un éclairage individuel (tube fluorescent 18 W) réglé par minuterie. Les poissons étaient nourris quotidiennement à la ration maximale, à l'aide d'un

nourrisseur automatique, avec de l'aliment CarpCo Excellent (36 % protéines, 7 % lipides ; Coppens, Pays-Bas).

3.3.2. Echantillonnage et paramètres mesurés

Toutes les 2 semaines, 50 individus de chaque lot étaient anesthésiés, leur biomasse mesurée, et la maturité sexuelle de 30 d'entre eux contrôlée par l'apparition de boutons de frai et l'émission de gamètes (sperme ou ovules) par pression abdominale (stripping).

Tous les mois, 6 individus étaient sacrifiés (euthanasie par surdose de benzocaïne) dans chaque lot pour étudier le développement gonadique. Les poissons étaient pesés et mesurés, les gonades pesées et conservées dans du formol 10 % pour l'étude histologique.

Les paramètres évalués étaient :

- le coefficient de condition : $K = \text{Poids (g)} / \text{Longueur}^3 \text{ (cm)}$;
- l'indice gonado-somatique : $\text{IGS (\%)} = 100 \times \text{Poids gonades} / \text{Poids corporel}$;
- la fécondité totale des femelles a été estimée en comptant le nombre d'ovocytes contenus dans 1 g de gonade ;
- la distribution des stades ovocytaires ;

Les coupes histologiques des gonades mâles et femelles, colorées à l'éosine-hématoxyline, ont été analysées grâce à la plateforme CYTOMINE (Marée et al., 2013). Cet outil a permis une analyse quantitative du développement ovarien. Sur chaque coupe, les ovocytes appartenant aux différents stades de maturation (Tableau VII.3, Figure VII.3) étaient dénombrés. Par rapport à l'étude menée sur des poissons de 2 ans (voir VII.1.2.2, Figure VII.3), des ovocytes en maturation finale (ovocytes 4) et des follicules atrétiques (ovocytes 5) ont pu être observés (Figure VII.14 ; voir résultats, VII.1.3.8).

Les coupes de testicules ont été analysées de manière qualitative, le critère final de maturité étant la présence de spermatozoïdes dans les lumières de tubules spermatiques.

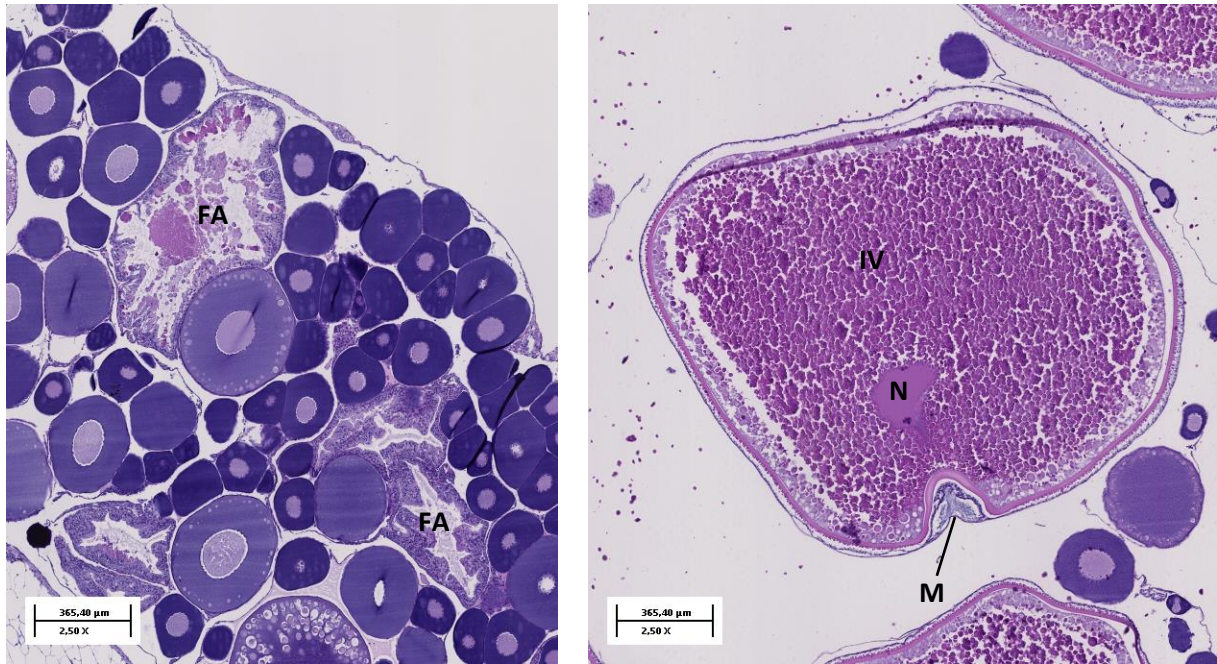


Figure VII.14. Coupes histologique d'ovaires de hotus captifs âgés de 36 mois élevés en conditions intensives. IV : ovocyte en maturation finale (ovocyte 4) ; FA : follicule en atresie ; M : micropyle ; N : noyau.

3.3.3. Croissance

Au cours de l'étude réalisée en 2014 (voir VII.1.2.3), les hotus, alors âgés de 2 ans, et pesant 80 g en début d'expérience, avaient atteint un poids moyen de 100 à 105 g à la fin de la période de suivi. Grâce au maintien en conditions constantes et optimales durant l'hiver, les hotus avaient atteint un poids moyen de 144 g au début de la période de suivi 2015. La croissance s'est poursuivie dans les 6 lots pour atteindre des poids moyens de 180 g, 205 g et 179 g dans les groupes PN, P16F et P16M respectivement (Figure VII.15).

Les variations de poids moyens observées entre les groupes au cours de la période expérimentale résultent principalement de l'échantillonnage réalisé pour la pesée. Une mesure de biomasse totale de chaque lot n'a pas été réalisée afin de ne pas augmenter le stress induit lors de chaque manipulation.

VII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du hotu

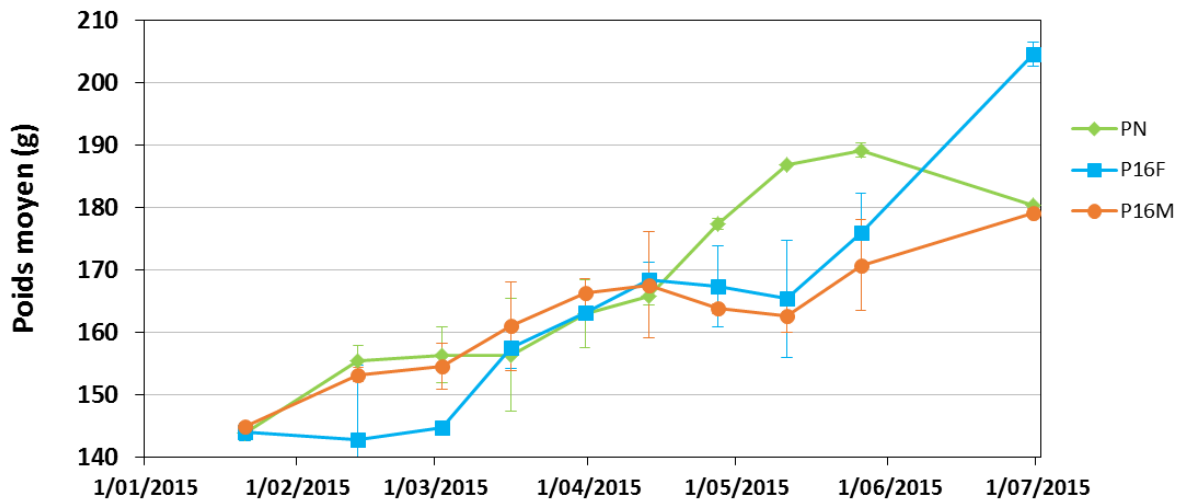


Figure VII.15. Evolution du poids moyen des 3 groupes expérimentaux de hotus durant la période d'étude (PN : photopériode naturelle ; P16F : passage de 8 à 16 h de lumière le 1/02/2015 ; P16M : passage de 8 à 16 h de lumière le 1/03/2015).

Les coefficients de condition moyens étaient légèrement supérieurs à ceux observés en 2014, atteignant $1,21 \pm 0,13$ chez les femelles et $1,16 \pm 0,10$ chez les mâles. Dans les 3 groupes, les valeurs de K chez les femelles étaient relativement stables au cours de la période expérimentale (Figure VII.16). Chez les mâles, le K moyen a augmenté au début de la période expérimentale, pour ensuite varier entre 1,10 et 1,25 (Figure VII.17). Aucune influence du régime photopériodique n'a été observée sur ce paramètre.

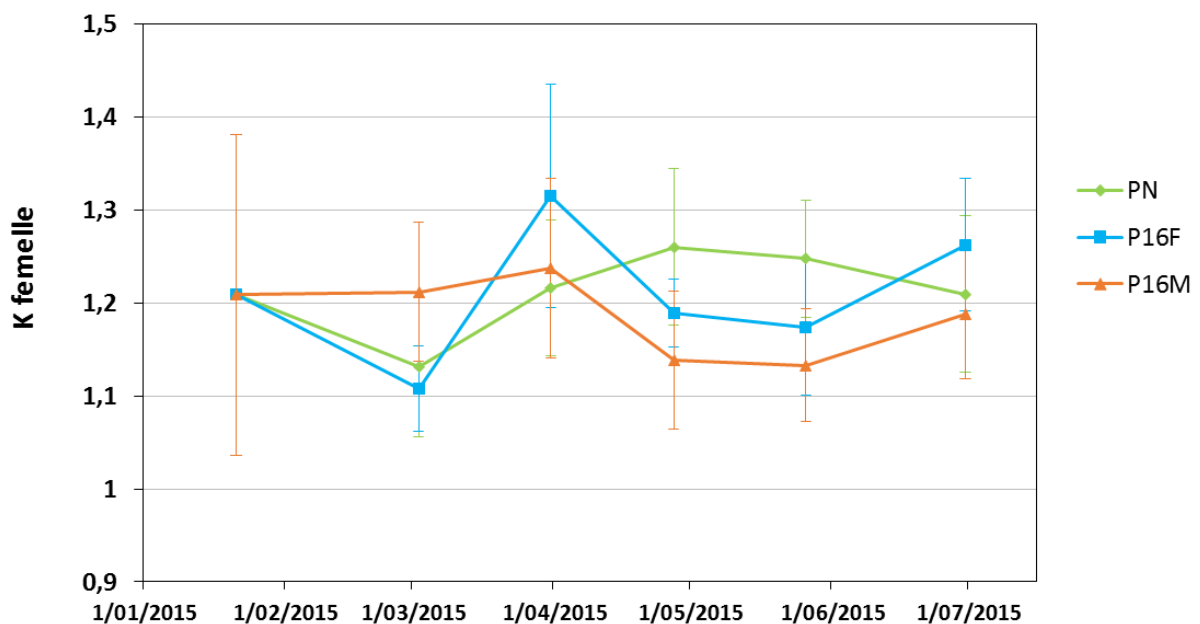


Figure VII.16. Evolution du coefficient de condition moyen femelle en fonction du temps dans les 3 groupes expérimentaux (PN : photopériode naturelle ; P16F : passage de 8 à 16 h de lumière le 1/02/2015 ; P16M : passage de 8 à 16 h de lumière le 1/03/2015).

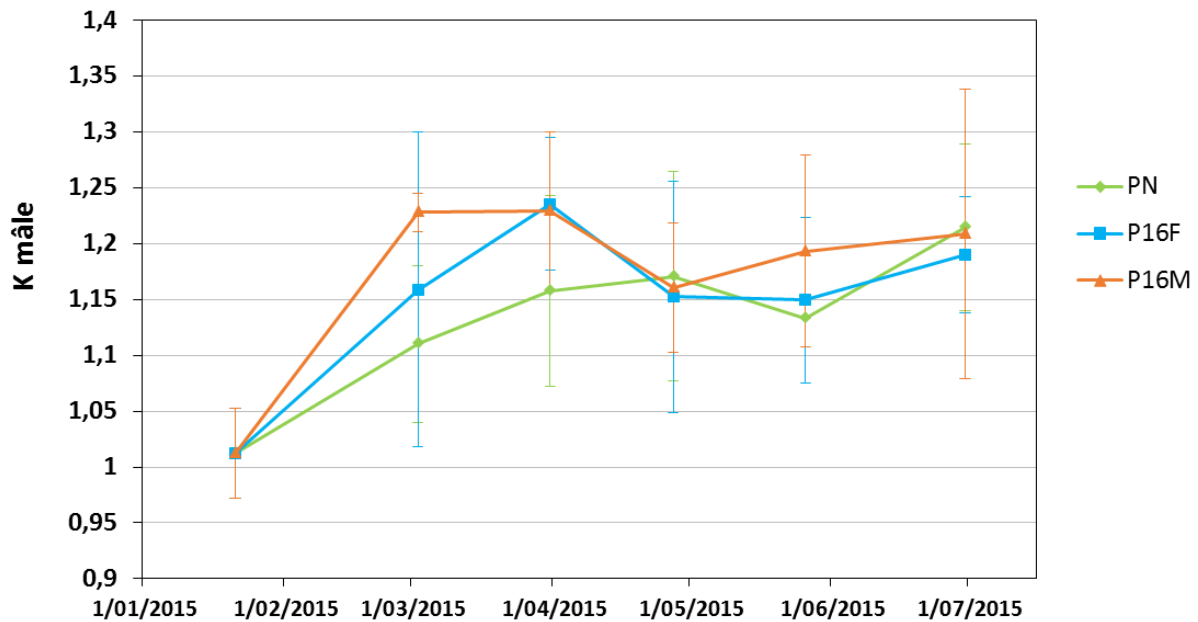


Figure VII.17. Evolution du coefficient de condition moyen mâle en fonction du temps dans les 3 groupes expérimentaux (PN : photopériode naturelle ; P16F : passage de 8 à 16 h de lumière le 1/02/2015 ; P16M : passage de 8 à 16 h de lumière le 1/03/2015).

3.3.4. Pourcentage d'individus sexuellement matures

Au cours de ce suivi, un certain nombre de poissons ont atteint la maturité sexuelle. Celle-ci était mesurée par l'émission spontanée de gamètes par stripping. Les premières femelles matures ont été observées dans les groupes P16F et PN le 16/03/2015, soit 1,5 mois après l'augmentation de photopériode (Figure VII.18). Un mois plus tard, un pic de maturité était observé dans le groupe P16F avec 15 % de femelles matures. Environ 2 semaines plus tard (fin avril-début mai), un pic plus important a été observé dans le groupe P16M, allant jusqu'à 40 % de femelles matures, soit 2 mois après le changement photopériodique. Une augmentation semblable du nombre de femelles matures s'est produite dans les lots en photopériode naturelle (PN) début juin, lorsque la photopériode a presque atteint son maximum.

VII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du hotu

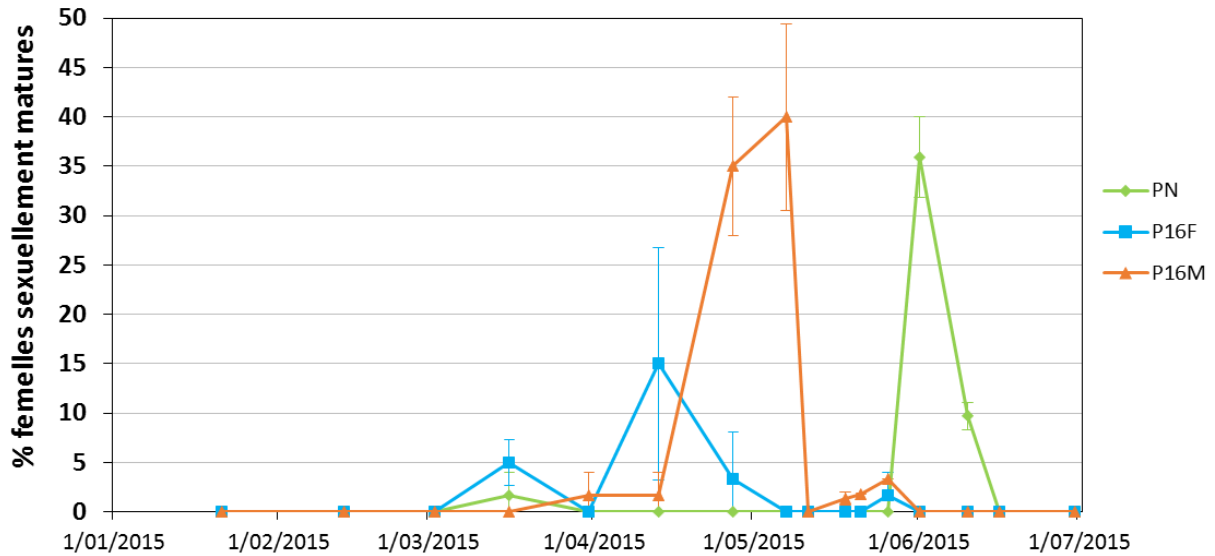


Figure VII.18. Pourcentage de femelles sexuellement matures en fonction du temps dans les 3 groupes expérimentaux (PN : photopériode naturelle ; P16F : passage de 8 à 16 h de lumière le 1/02/2015 ; P16M : passage de 8 à 16 h de lumière le 1/03/2015).

Il est important de noter que toutes les femelles matures observées ovulaient spontanément, mais les ovules récoltés par stripping étaient tous surmatures, donc de mauvaise qualité et infécondables.

L'augmentation de la fréquence de contrôle des lots 1 et 2 (PN) à un rythme hebdomadaire a été testée durant une période, mais n'a pas permis de récolter une ponte fécondable.

Le profil du nombre de mâles matures était semblable à celui des femelles. Cependant, la proportion de mâles spermants était environ 10 x inférieure à celle de femelles ovulantes (Figure VII.19), ne dépassant pas 3 à 5 % dans les groupes PN et P16M respectivement. Dans le groupe P16F, où le nombre de femelles matures était inférieur aux autres groupes, aucun mâle spermant n'a été observé.

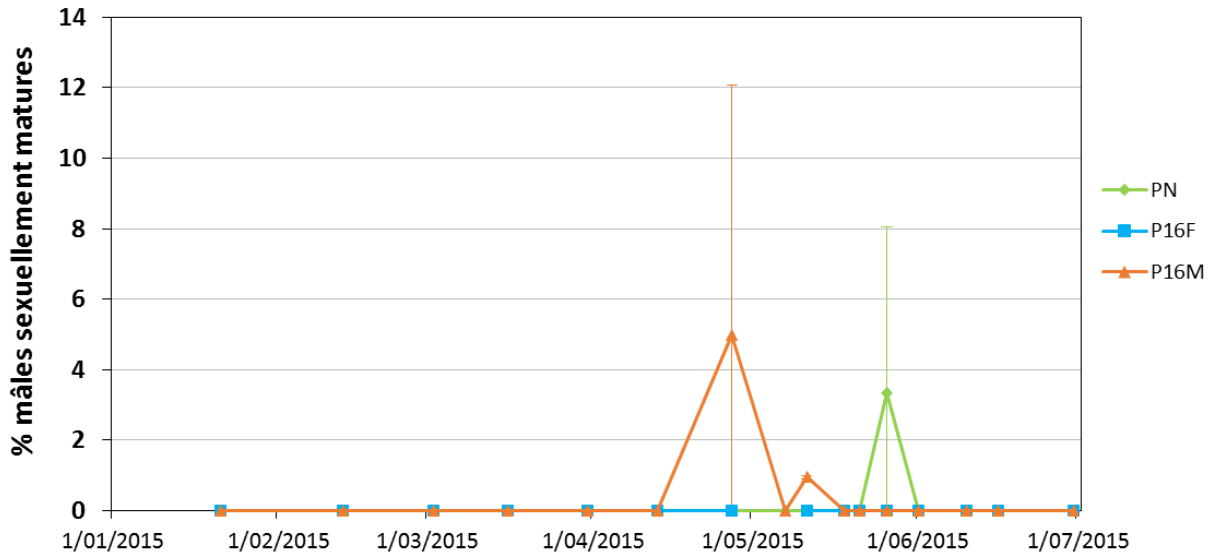


Figure VII.19. Pourcentage de mâles sexuellement matures en fonction du temps dans les 3 groupes expérimentaux (PN : photopériode naturelle ; P16F : passage de 8 à 16 h de lumière le 1/02/2015 ; P16M : passage de 8 à 16 h de lumière le 1/03/2015).

3.3.5. Boutons de frai

Les premiers boutons de frai ont été observés en février. Par la suite, la proportion de poissons portant des boutons de frai a augmenté, de manières décalées dans les 3 groupes, en suivant le même profil que la proportion d'individus mature. Un pic a ainsi été observé mi-mars dans le groupe P16F, fin avril dans le groupe P16 M et fin mai-début juin dans le groupe PN, avec des valeurs moyennes maximales respectives de $52 \pm 17 \%$, $50 \pm 5 \%$ et $40 \pm 5 \%$ (Figure VII.20). Par la suite, les valeurs moyennes diminuaient dans les 3 groupes jusqu'à 0 environ un mois après le maximum observé.

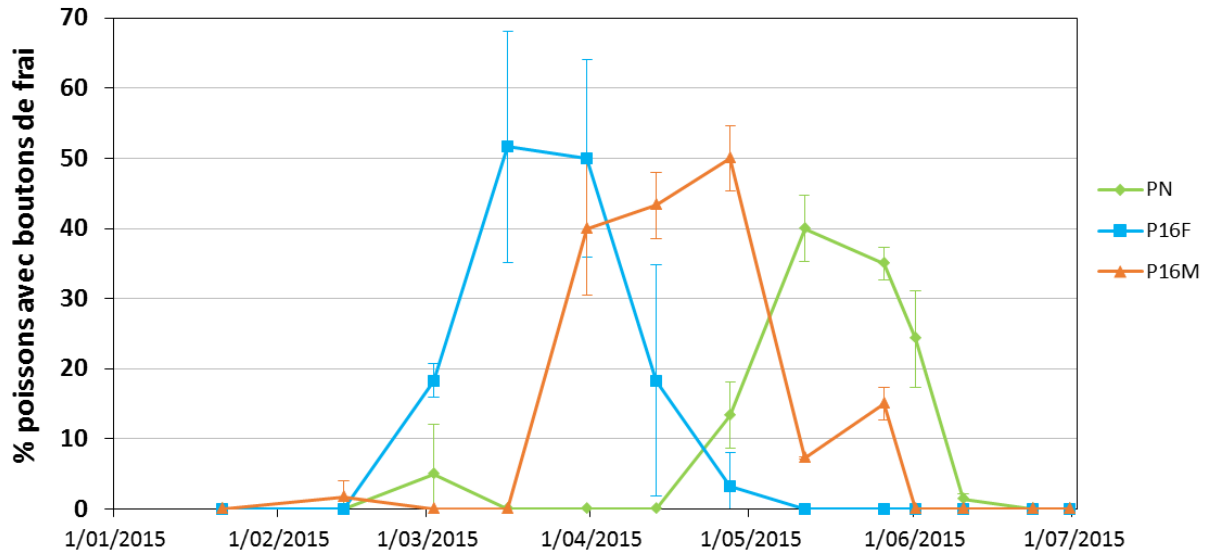


Figure VII.20. Evolution du pourcentage de poissons portant des boutons de frai dans les 3 groupes expérimentaux (PN : photopériode naturelle ; P16F : passage de 8 à 16 h de lumière le 1/02/2015 ; P16M : passage de 8 à 16 h de lumière le 1/03/2015).

3.3.6. Indice gonado-somatique (IGS)

A partir du mois de janvier, les IGS ont augmenté chez les mâles et les femelles pour atteindre des valeurs moyennes maximales supérieures à celles enregistrées en 2014.

La dynamique temporelle de ce paramètre n'est pas claire chez les femelles (Figure VII.21). Un maximum a été atteint dans les 3 groupes fin mars, avec des valeurs moyennes comprises entre $10,2 \pm 1,8 \%$ (P16M) et $14,3 \pm 3,6 \%$ (P16F). Dans les groupes en photopériode artificielle, les IGS de femelles ont ensuite diminué pour revenir à des valeurs moyennes de repos (entre 2 et 5 %) à partir du mois de mai. Dans le groupe PN, des valeurs élevées proches de 10 % se sont maintenues jusque fin juin.

VII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du hotu

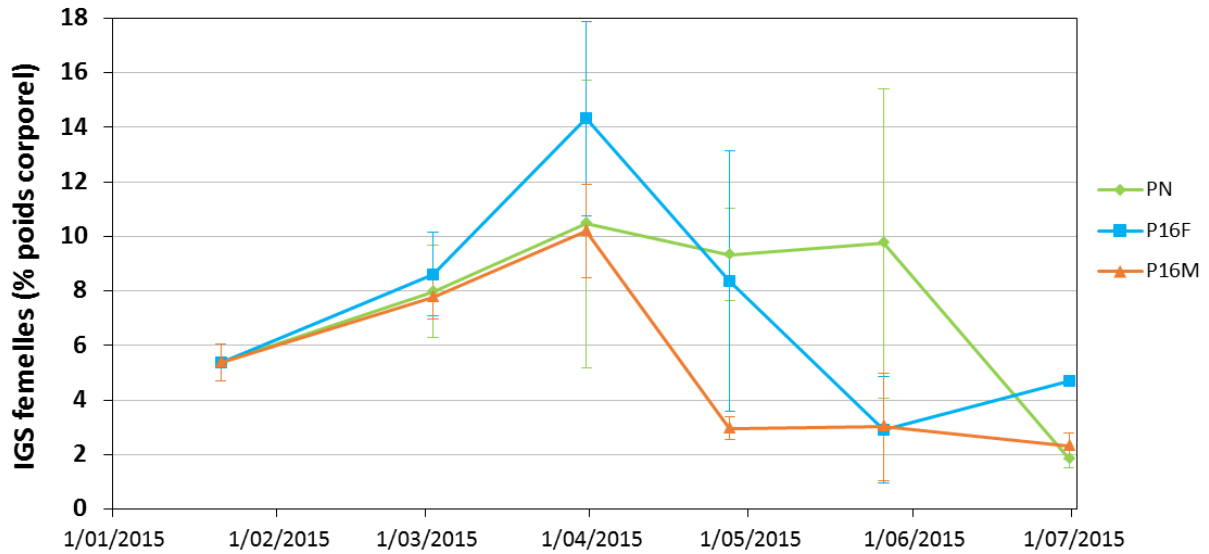


Figure VII.21. Evolution de l'indice gonado-somatique des hotus femelles dans les 3 groupes expérimentaux (PN : photopériode naturelle ; P16F : passage de 8 à 16 h de lumière le 1/02/2015 ; P16M : passage de 8 à 16 h de lumière le 1/03/2015).

Chez les mâles, l'IGS suit une évolution semblable aux précédents indicateurs de maturité (proportion d'individus sexuellement matures et portant des boutons de frai), avec des valeurs maximales observées de manière décalée et successive dans le temps dans les groupes P16F, P16M et PN (Figure VII.22). Les valeurs moyennes maximales observées étaient de $3,6 \pm 0,8$ %, $4,3 \pm 0,8$ % et $4,9$ % dans les groupes P16F, P16M et PN respectivement.

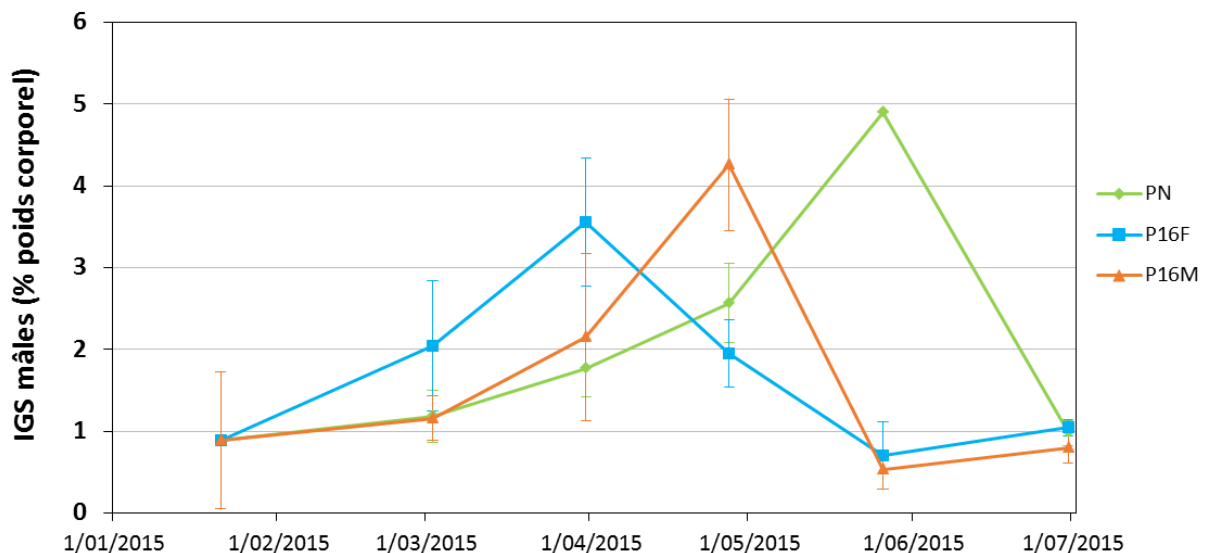


Figure VII.22. Evolution de l'indice gonado-somatique des hotus mâles dans les 3 groupes expérimentaux (PN : photopériode naturelle ; P16F : passage de 8 à 16 h de lumière le 1/02/2015 ; P16M : passage de 8 à 16 h de lumière le 1/03/2015).

3.3.7. Fécondité

La fécondité n'a pas subi de variation importante au cours du cycle de maturation. Les valeurs moyennes étaient comprises entre 20000 et 30000 ovocytes/kg femelle dans les 3 groupes (Figure VII.23).

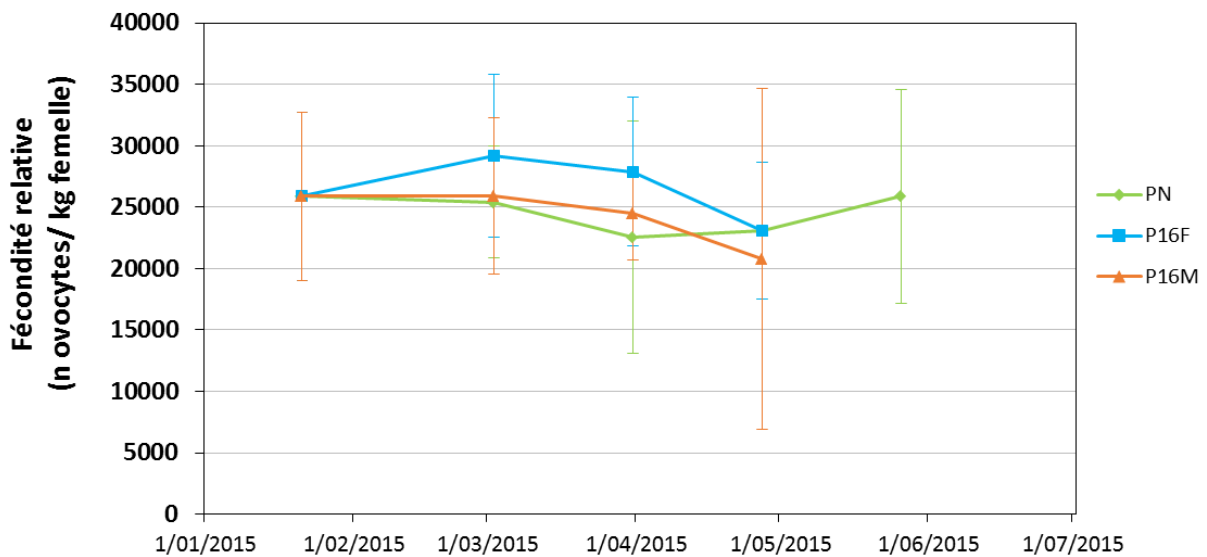


Figure VII.22. Evolution de la fécondité relative des hotus femelles dans les 3 groupes expérimentaux (PN : photopériode naturelle ; P16F : passage de 8 à 16 h de lumière le 1/02/2015 ; P16M : passage de 8 à 16 h de lumière le 1/03/2015).

3.3.8. Distribution des classes ovocytaires

A tout moment du cycle de maturation, les ovaires de hotus captifs contiennent des ovocytes à différents stades de développement (Figure VII.23). Fin janvier, avant l'augmentation de photopériode, les ovaires des 3 groupes contiennent des ovocytes 1, 2 et 3. Par la suite des ovocytes matures (4) apparaissent, au mois de mars dans les groupes en photopériode artificielle (P16F et P16M), et principalement fin mai dans le groupe en photopériode naturelle (PN). La dynamique d'évolution des ovocytes est semblable à celle observée pour les IGS. Après les pics de maturité, les ovocytes 4 laissent la place à des follicules atrétiques.

VII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du hotu

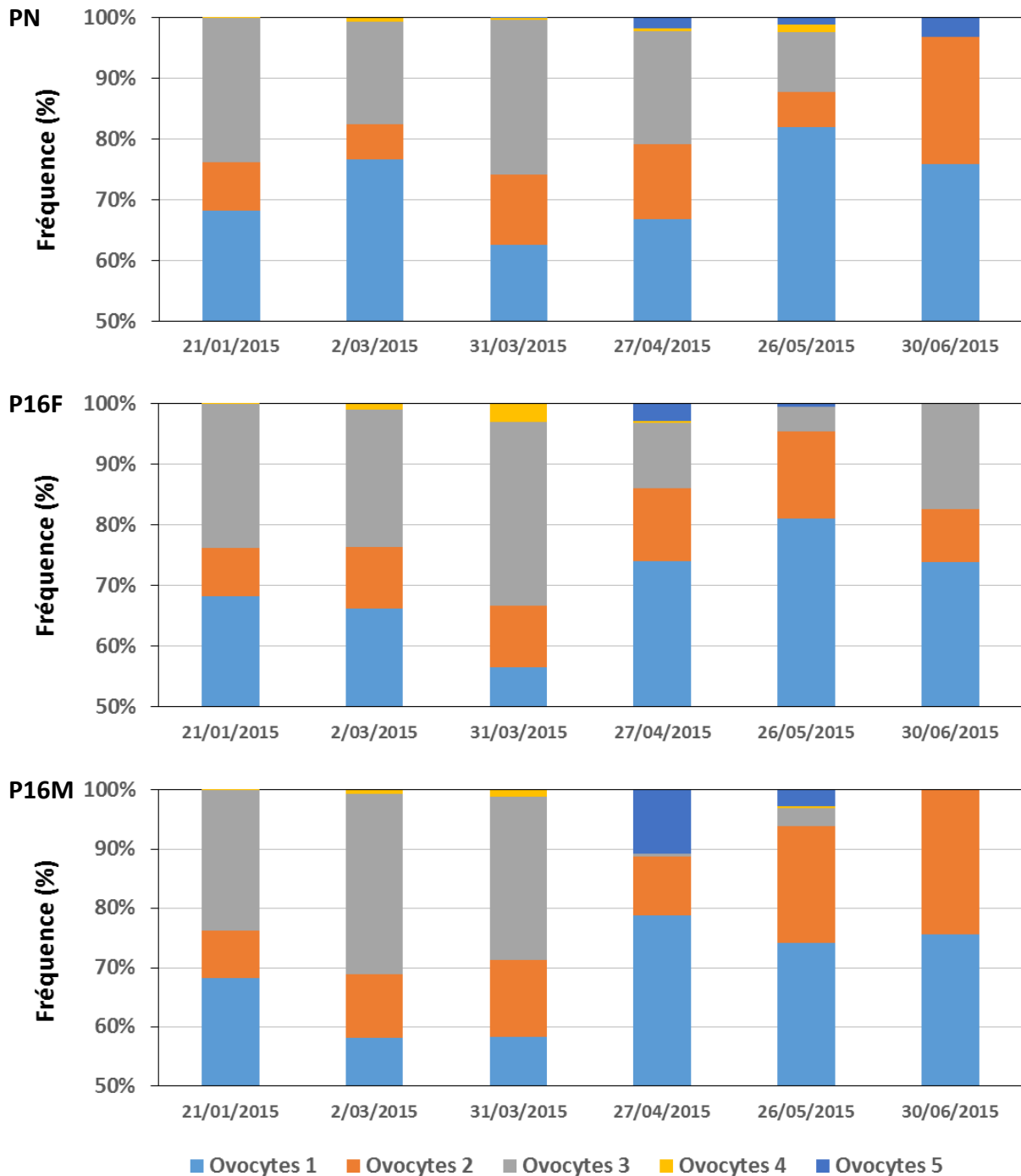


Figure VII.23. Evolution des fréquences de distribution des classes ovocytaires dans les ovaires des hotus captifs appartenant aux 3 groupes expérimentaux (PN : photopériode naturelle ; P16F : passage de 8 à 16 h de lumière le 1/02/2015 ; P16M : passage de 8 à 16 h de lumière le 1/03/2015 ; ovocyte 1 : protoplasmique ; ovocyte 2 : en vitellogenèse endogène ; ovocyte 3 : en vitellogenèse exogène ; ovocyte 4 : en maturation finale ; ovocyte 5 : en atresie).

3.3.9. Discussion

Comme suggéré sur base de l'étude 2014 (VII.1.2), les hotus captifs maintenus en conditions constantes et contrôlées ont atteint la maturité sexuelle au cours du cycle de leur 3^e année. A l'instar du barbeau, la maturité sexuelle est donc plus précoce chez le hotu en captivité que dans la nature.

C'est surtout vrai chez les femelles, qui atteignent la maturité à l'état sauvage après plus de 5 ans, à une taille supérieure à 34 cm (Philippart, 1981). Dans notre étude, des femelles de 180 g, d'une longueur de 24 cm, ont atteint la maturité sexuelle à 3 ans.

Par contre, paradoxalement à ce qui est observé chez d'autres espèces captives, et chez le hotu dans la nature, la maturation des femelles semble plus précoce que celle des mâles chez le hotu en captivité. Le pourcentage moyen de mâles matures n'a en effet pas dépassé 5 %, alors que la proportion de femelles matures a atteint 40 % dans certains lots. Avec des géniteurs aussi jeunes, la disponibilité de mâles spermiantes pourrait donc être un facteur limitant pour la reproduction.

Les indicateurs de maturité mesurés (IGS, K, fécondité) n'ont pas fortement évolué par rapport aux valeurs de 2014, excepté le K femelle qui a augmenté de $1,13 \pm 0,06$ à $1,21 \pm 0,13$. Le poids moyen des individus était évidemment beaucoup plus élevé puisqu'il avait doublé au cours de l'année.

En photopériode naturelle, le pic de maturité a été atteint à la même période en 2014 et 2015 (fin mai – début juin) et semble bien dépendant de la photopériode. Sur base des variations des indicateurs de maturité observés tels que l'IGS, la structure histologique des ovaires, la proportion des individus matures et portants des boutons de frai, l'application d'un régime photopériodique artificiel comprenant une augmentation brusque de la durée d'éclairage semble efficace pour contrôler le cycle de maturité de ces géniteurs. Suite au passage de 8 à 16 h d'éclairage, un pic de maturité a été observé environ 2 mois après ce changement. Ce contrôle a surtout été efficace dans les lots ayant subi l'augmentation de photopériode le 01/03/2015, où le nombre d'individus matures et portants des boutons de frai était plus élevés que dans les lots en photopériode naturelle.

Ces résultats de contrôle photopériodique sont encourageants et suggèrent la possibilité de décaler les cycles de maturation dans le temps afin de produire des œufs à n'importe quel moment de l'année, voire d'induire plusieurs cycles de maturation compressés sur une année comme c'est le cas chez le barbeau (Poncin & Castelli, 1990). La possibilité de multiplier les cycles de maturation est également appuyée par le changement de stratégie de maturation observée, d'un mode synchrone à asynchrone. Malheureusement, aucune reproduction artificielle n'a pu être menée à bien sur les lots

VII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du hotu

en photopériode artificielle (faute de timing de l'induction hormonale, voir VII.1.4), permettant d'appuyer ces hypothèses.

Cette étude a également montré que, si les conditions d'élevage intensif pratiquées durant 3 ans ont permis de constituer un stock de géniteurs sexuellement matures en captivité, contrairement au barbeau, le contrôle régulier des femelles ne permet pas d'obtenir des ovules fécondables. Pour obtenir des pontes de qualité, la maturation finale et la ponte doivent être induites et synchronisées par administration d'hormones maturantes (VII.1.4).

3.4. Production contrôlée du hotu : reproduction de géniteurs F1 et incubation d'individus F2

Le suivi des paramètres de maturité sexuelle (boutons de frai, IGS, histologie) réalisés en 2015 sur des poissons captifs F1 (voir VII.1.3) a permis de suivre l'évolution de la maturation et de déterminer le meilleur moment (maximum de maturité) pour réaliser des essais de reproduction. Etant donné que tous les œufs ovulés spontanément étaient surmatures, des essais d'induction de la ponte par stimulation hormonale ont donc été entrepris.

3.4.1. Induction hormonale de la ponte

Aucune tentative d'induction hormonale sur le groupe P16F (passage de 8 à 16 h de lumière le 1/02/2015) n'a été entreprise car les signes de maturité ont été distingués trop tard. Ce groupe a en effet été le premier à montrer des signes de maturité sexuelle. Or, une vue d'ensemble de l'évolution des signes de maturité a été nécessaire pour apprécier le meilleur moment pour réaliser des essais d'induction hormonale dans les autres groupes.

Les 2^e groupe à entrer en maturation a été le groupe P16M (passage de 8 à 16 h de lumière le 1/03/2015). Dans le courant du mois de mai, des essais d'induction ont été réalisés sur un total de 14 mâles et 11 femelles supposés appartenant à ce groupe (2 mâles le 07/05/2015 ; 6 mâles et 5 femelles le 11/05/2015 ; 6 mâles et 6 femelles le 18/05/2015). Les individus étaient sélectionnés sur base de la présence de boutons de frai, de la distension de l'abdomen chez les femelles et de la coloration plus foncées chez les mâles. Comme chez les géniteurs sauvages (VII.1.1), l'induction hormonale a été réalisée par une injection intramusculaire d'Ovaprim à 0,5 ml/kg afin d'induire la maturation finale et la ponte (Targońska et al., 2008; Źarski et al., 2008).

Seul l'essai du 11/05/2015 a permis d'obtenir une réponse chez 3 mâles. Sur les 6 mâles injectés ce jour-là, 3 sont devenus spermants 17 à 20 h après l'injection (270 à 320 °C h). Aucune femelle n'a répondu à ces injections.

Sur base des indicateurs de maturité observés (VII.1.3), il est probable que les poissons du groupe P16M aient atteint leur maximum de maturité sexuelle fin avril – début mai. Ces essais étaient dès lors un peu tardifs car pratiqués sur des individus dont les gonades étaient en phase de régression, ce qui explique probablement cette absence de réponse.

Dans le groupe soumis à une photopériode naturelle (PN), tous les paramètres de maturité mesurés indiquaient une augmentation du nombre d'individus sexuellement matures atteignant un pic fin

VII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du hotu

mai. Le 27 mai 2015, 30 mâles et 30 femelles ont été sélectionnés pour un essai d'induction hormonale. Après l'injection, les poissons ont été placés dans un bassin d'1 m³ et contrôlés à 24, 28 et 32 h post-injection.

Sur les 30 femelles injectées, 23 ont pondu de manière synchronisée entre 24 et 32 h post-injection (384-512 °C h). 12 ont répondu après 24 h, 9 après 28 h et 2 après 32 h. Durant cette période, 5 mâles spermiantes ont été trouvés. Les caractéristiques des femelles et des pontes sont reprises dans la Tableau VII.5.

Les femelles qui ont pondu avaient un poids moyen de 231 ± 30 g, pour une longueur moyenne (à la fourche) de $25,8 \pm 1,3$ cm. Leur coefficient de condition moyen était de $1,34 \pm 0,12$. Le poids moyen des pontes était de $17,7 \pm 8,8$ g, ce qui représentait en moyenne $7,6 \pm 3,5$ % de la masse corporelle des femelles. La fécondité absolue était de 3780 ± 1897 ovules par femelle.

Le temps de mobilité des spermatozoïdes a été évalué chez 2 mâles (mesures répétées) et était de $4'40'' \pm 7''$ et $7'00'' \pm 25''$.

VII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du hotu

Tableau VII.5. Induction hormonale, reproduction artificielle et incubation : caractéristiques des femelles F1 et des pontes F2 de hotu.

Caractéristiques des femelles					Caractéristiques des pontes					
Femelle	Réponse (h post-injection)	Poids (g)	Longueur f (cm)	K	Poids (g)	Poids ponte/ poids total (%)	N œufs	Taux de fécondation (%)	Taux d'éclosion (%)	Taux de malformation (%)
1	24	252	26,6	1,34	11,1	4,4	2193	93	28	17
2	24	268	27,0	1,36	30,8	11,5	6095	98	67	21
3	24	233	25,9	1,34	18,3	7,9	3630	97	66	14
4	24	252	26,3	1,39	22,5	8,9	4487	96	36	11
5	24	198	25,4	1,21	7,0	3,5	1394	79	/	11
6	24	181	24,4	1,25	25,2	13,9	5678	96	20	4
7	24	187	23,8	1,39	14,5	7,8	3141	94	56	15
8	24	251	25,7	1,48	23,1	9,2	5772	91	66	22
9	24	253	27,0	1,29	30,4	12,0	6822	86	29	5
10	24	226	26,3	1,24	19,5	8,6	4257	98	88	18
11	24	222	25,7	1,31	24,6	11,1	5294	95	75	15
12	24	238	26,1	1,34	37,7	15,8	7922	77	25	6
13	28	247	25,1	1,56	9,1	3,7	1792			
14	28	276	30,0	1,02	28,6	10,4	5861			
15	28	200	25,4	1,22	6,6	3,3	1428			
16	28	231	26,1	1,30	14,4	6,2	3205			
17	28	253	25,0	1,62	19,9	7,9	4069			
18	28	238	25,5	1,44	10,4	4,4	1949			
19	28	261	26,5	1,40	13,6	5,2	3014			
20	28	187	24,3	0,89	8,3	6,6	2042			
21	28	197	25,0	1,26	11,9	6,0	2753			
22	32	272	26,5	1,46	10,9	4,0	2282			
23	32	187	24,2	1,32	9,4	5,0	1861			
Moyenne		231	25,8	1,34	17,7	7,6	3780	92	51	14
Ecart-type		30	1,3	0,12	8,8	3,5	1897	7	24	6

3.4.2. Reproduction artificielle et incubation

Les 12 premières pontes obtenues dans le groupe PN suite à l'induction hormonale du 27 mai 2015 (VII.1.4.1) ont été fécondées et incubées pour suivre la qualité des œufs et des larves issues de pontes F2.

Disposant de 5 mâles spermiantes, la laitance de chaque mâle a été utilisée pour féconder 2-3 pontes. Avant la fécondation, la ponte était pesée et un échantillon d'1 g était prélevé afin de dénombrer les œufs et évaluer la fécondité. La reproduction artificielle a été réalisée par la méthode sèche, comme décrite pour les géniteurs sauvages (VII.1.1). Les pontes ont été incubées en bouteille de Zoug (1,5 l) (1 ponte/bouteille) à une température moyenne de $17,2 \pm 1,3$ °C.

Le 29/05/2015, le taux de fécondation a été évalué par comptage des œufs embryonnés dans un échantillon de 100 œufs. Le 08/06/2015, après l'éclosion, les taux d'éclosion et de malformation ont été estimés en comptant toutes les larves normales et les larves malformées ou les œufs non éclos.

Sur les 12 pontes fécondées et incubées, les taux de fécondation élevés étaient compris entre 77 et 98 % (Tableau VII.5). Par contre, les taux d'éclosion (51 ± 24 %) et de malformation (14 ± 6 %) rapportés dénotent une qualité globale des pontes assez moyenne. Ces 12 pontes ont permis de produire 26870 larves en fin de résorption, prêtes à recevoir leur première alimentation exogène.

Parmi les pontes 1 à 12, 4 ont été sélectionnées (femelles n°2-8-10-11) pour poursuivre le suivi de la qualité des individus F2 au cours de l'élevage larvaire (voir VII.2.2).

3.4.3. Discussion

Les résultats obtenus montrent qu'il est possible de reproduire des géniteurs captifs de hotu et qu'une application des techniques utilisées (grossissement des géniteurs, suivi de la maturation, contrôle de la ponte et reproduction artificielle) est envisageable dans un contexte de production.

Le succès de l'induction hormonale réduira même les manipulations et facilitera l'organisation de la production puisqu'elle permet une synchronisation d'un grand nombre de géniteurs. Malgré des taux d'éclosion relativement faibles et des taux de malformation relativement élevés dans certaines pontes – qui pourraient être imputés au jeune âge des géniteurs et une mauvaise qualité de première ponte ; à vérifier avec des géniteurs plus âgés – les résultats obtenus permettent d'envisager, sur base d'un stock de 200 géniteurs, la production de 47000 larves à vésicule résorbée.

VII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du hotu

Par ailleurs, les résultats de reproduction permettent de valider le suivi des géniteurs mis en place et les critères de maturité utilisés pour sélectionner les géniteurs. Même si le poids des femelles ayant pondu était variable (compris entre 181 et 276 g), les K de ces femelles ($1,34 \pm 0,12$) étaient supérieurs à la moyenne ($1,21 \pm 0,13$) et comparables aux valeurs rapportées chez des géniteurs sauvages plus âgés ($1,35 \pm 0,16$) (Poncin et al., 1990). Les valeurs moyennes d'IGS des femelles étaient d'environ à 10 %.

Si la corpulence, appréciée par le K et la distension abdominale, est un bon indice de maturité chez les femelles. L'indicateur externe le plus facilement contrôlable et donnant les meilleures indications quant à l'état d'avancement général du stock de géniteurs dans le cycle de maturité sexuelle, est l'apparition des boutons de frai. Ce paramètre montre en effet une dynamique bien marquée correspondant aux nombre d'individus matures.

4. ELEVAGE LARVAIRE

4.1. *Evaluation des performances zootechniques des larves F1 de hotu à différents niveaux d'intensification des conditions d'élevage*

4.1.1. Conditions d'élevage

L'élevage larvaire du hotu a été étudié en conditions extensives, semi-intensives et intensives. Il a duré 40 jours à partir du premier jour de nourrissage. Les principaux paramètres variables étaient le volume et la structure d'élevage, le type d'aliment et le schéma de sevrage alimentaire, la température et la densité d'élevage. Chaque condition a été testée en réplicas.



Figure VII.24. Bassins d'élevage intensif (A), semi-intensif (B) et extensif (C).

Les élevages extensifs et semi-intensifs ont été menés dans des bassins extérieurs en bétons de 5 m³ alimentés en circuit ouvert par de l'eau de puits (Figure VII.24). Au moins 6 jours avant la mise en charge des larves, ces bassins sont préalablement remplis d'eau de Meuse et fertilisés avec de la fiente de poulet (à 25 °C) afin de produire du plancton qui servira de premier aliment aux larves. Les conditions d'élevage extensives simulent les conditions d'un étang de pisciculture. Les conditions d'élevage intensives sont reproduites sous serre, dans des bassins de 100 L, en circuit fermé équipé d'un filtre mécanique et biologique et d'un UV.

Les caractéristiques principales des différents systèmes d'élevage sont reprises au Tableau VII.6.

Tableau VII.6. Conditions d'élevage intensives, semi-intensives et extensives appliquées à l'élevage larvaire du hotu.

	Intensif	Semi-intensif	Extensif
Type circuit	Fermé	Ouvert	Ouvert
Volume bassin	0,1 m ³	5,0 m ³	5,0 m ³
Nombre de bassins	12	4	2
Fertilisation	Non	Oui (<i>mésocosme</i>)	Oui (<i>mésocosme</i>)
Type aliment	Aliment sec et/ou <i>Artemia</i>	Plancton, <i>Artemia</i> et aliment sec	Plancton et aliment sec
Densité	10 (FD) – 50 (HD) larves.L ⁻¹	2 (FD) – 8 (HD) larves.L ⁻¹	0,4 larves.L ⁻¹
Débit	7 à 36 L.min ⁻¹	18 L.min ⁻¹	3,6 L.min ⁻¹
Renouvellement	1 à 4 h ⁻¹	0,2 h ⁻¹	0,04 h ⁻¹
Température	23 - 26 °C (constante)	16 °C (± constante)	15 °C (variable)
O₂, NO₂⁻, NH₄⁺, pH, lumière	Constants	± constants	Variables

4.1.2. Schémas expérimentaux

En conditions extensives et semi-intensives, un seul schéma de sevrage alimentaire a été testé. Deux densités différentes ont été comparées en conditions semi-intensives : faible densité (FD) = 2 larves/L ; haute densité (HD) = 8 larves/L (Figure VII.25). En élevage intensif, 4 schémas alimentaires différents, 2 densités (FD = 10 larves/L ; HD = 50 larves/L) et 2 températures (23 et 26 °C) ont été testés (Figure VII.26).

En élevage extensif et semi-intensif, un suivi journalier qualitatif et quantitatif des communautés zooplanctoniques a été réalisé durant les premiers jours d'élevage afin d'adapter au mieux le début de l'alimentation artificielle. Ces résultats ne sont pas présentés dans ce rapport.

En élevage extensif, les larves se nourrissent d'aliment vivant naturel pendant 10 jours, puis sont nourries avec un aliment artificiel. En conditions semi-intensives, les densités sont plus élevées. Les larves reçoivent des nauplii d'*Artemia* en plus du zooplancton naturel dès le premier jour. L'alimentation passe ensuite par une phase de co-feeding *Artemia*-aliment sec avant le sevrage total avec un aliment sec artificiel.

VII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du hotu

Extensif						Semi-intensif					
E Lot 1 0,4 larves/l 15°C		E Lot 2 0,4 larves/l 15°C		S-I FD Lot 1 2 larves/l 16°C		S-I FD Lot 2 2 larves/l 16°C		S-I HD Lot 1 8 larves/l 16°C		S-I HD Lot 2 8 larves/l 16°C	

14 jpf																	Schéma
Jours de nourrissage																	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16 à 25	25 à 40	
Zooplancton										Gemma-μ						Skretting Nutra HP 0.3	E
Zooplancton + <i>Artemia</i>										co-feeding <i>Artemia</i> + Lucky star				Skretting Nutra HP 0.3			S-I

Figure VII.25. Elevage larvaire du hotu : schémas expérimentaux extensif et semi-intensifs.

Intensif											
I1 FD Lot 1 10 larves/l 23°C		I2 FD Lot 1 10 larves/l 23°C		I3 FD Lot 1 10 larves/l 23°C		I3 HD Lot 1 50 larves/l 23°C		I4 FD Lot 1 10 larves/l 23°C		I3 T26 FD Lot 1 10 larves/l 26°C	
I1 FD Lot 2 10 larves/l 23°C		I2 FD Lot 2 10 larves/l 23°C		I3 FD Lot 2 10 larves/l 23°C		I3 HD Lot 2 50 larves/l 23°C		I4 FD Lot 2 10 larves/l 23°C		I3 T26 FD Lot 2 10 larves/l 26°C	

14 JPF													Schéma
Jours de nourrissage													
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11 à 25	26 à 40		
<i>Artemia</i>							co-feeding <i>Artemia</i> + Lucky star			Skretting Nutra HP 0.3		Aquabio 00	I1
<i>Artemia</i>		co-feeding <i>Artemia</i> + Lucky star		Skretting Nutra HP 0.3						Aquabio 00		I2	
Gemma-μ										Aquabio 00		I3	
Lucky Star										Aquabio 00		I4	

Figure VII.26. Elevage larvaire du hotu : schémas expérimentaux intensifs.

VII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du hotu

Les 2 premiers régimes en conditions intensives (I1 et I2) débutent avec un nourrissage exclusif aux nauplii d'*Artemia*, suivi d'un co-feeding avec de l'aliment sec avant le sevrage total ; celui-ci étant plus rapide dans le régime I2 (5 j) que dans le régime I1 (10 j). Les régimes I3 et I4 ne passent pas par une phase d'aliment vivant ; les larves reçoivent un aliment artificiel dès le 1^{er} jour de nourrissage.

Le Gemma-μ (Nutreco) et l'aliment produit par Lucky Star ont des tailles de particules de 150 à 300 μm mais diffèrent en qualité. L'aliment Nutra HP (Skretting) a une granulométrie de 300 μm et l'aliment Aquabio 00 (miettes pour alevins) de 500 à 800 μm. Les propriétés des aliments artificiels utilisés sont résumées dans le Tableau VII.7.

Tableau VII.7. Caractéristiques des aliments artificiels distribués durant l'élevage larvaire du hotu et du barbeau.

Teneurs analytiques (%)	Gemma Micro	Lucky Star	Nutra HP 0.3	Aquabio 00	Carpco
Protéines	59	56	57	58	45
Lipides	14	8	12	12	10
Fibres	0,2	1,4	0,7	0,7	1,9
Cendres	13	13	10,5	10,5	8,2
Phosphore total	2		1,4	1,4	1,2
Calcium	1,5		1,7	1,3	
Sodium	0,7		1,1	0,4	
Additifs					
Vitamines	UI/kg				
Vitamine A (UI/kg)			7500	22500	14000
Vitamine C (mg/kg)	23000			300	315
Vitamine E (mg/kg)	2800			200	280
Vitamine D3 (UI/kg)			1125	3000	1790
Oligoéléments (mg/kg)	mg/kg				
Fer (sulfate ferreux monohydraté)	100		62	100	
Cuivre (sulfate de cuivre pentahydraté)	10		8	2,5	
Manganèse (sulfate de manganèse monohydraté)	36		23	15	
Zinc (sulfate de zinc monohydraté)	130		160	50	
Sélénium (sélénite de sodium)	0,25 – 0,03		0,05	0,25	

Du 1^{er} au 32^e jour de nourrissage, l'aliment est distribué manuellement 6 fois par jour entre 9 h et 17 h. A partir du 33^e jour, la distribution se fait en continu par des nourrisseurs automatiques. Les larves sont nourries au maximum. Les rations sont adaptées quotidiennement en fonction des observations de l'expérimentateur.

4.1.3. Mesures

Les paramètres permettant de comparer les performances des différents traitements expérimentaux sont :

1. Taux de Conversion Alimentaire (FCR)

$$FCR = R_d \times (B_f - B_i)^{-1}$$

2. Taux de croissance spécifique (SGR)

$$SGR(\%.j^{-1}) = 100 \times (\ln P_f - \ln P_i) \times \Delta t^{-1}$$

3. Taux de survie (S)

$$S(\%) = 100 \times N_f / N_i$$

4. Coefficient de variation du poids (Cv)

$$Cv(\%) = 100 \times (\text{écart type} / \text{poids moyen})$$

Où R_d = Ration distribuée (g d'aliment)

B_f = Biomasse finale (g)

B_i = Biomasse initiale (g)

Δt = durée de l'expérience en jours

P_f = Poids final (mg)

P_i = poids initial (mg)

N_i = Nombre d'individus initial

N_f = Nombre d'individus final

La croissance était contrôlée tous les 7 jours sur 30 individus/lot. Le contrôle final a été réalisé sur 50 individus/lot.

Les poids moyens finaux ont été comparés statistiquement par un test non paramétrique de Kruskal-Wallis avec comparaisons multiples par paires ($p = 0,05$).

4.1.4. Résultats

En circuit ouvert (élevage extensif et semi-intensif), les taux moyens d' O_2 étaient compris entre $9,2 \pm 1,1$ et $11 \pm 0,8$ mg/L (94 ± 9 et 111 ± 8 % saturation). Les valeurs moyennes maximales en NO_2^- et NH_4^+ ont été mesurées en conditions semi-intensives et étaient respectivement de $0,53 \pm 0,26$ mg/L et $0,75 \pm 0,34$ mg/L.

VII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du hotu

Dans les circuits fermés à 23 et 26 °C, les valeurs moyennes d'O₂, de NO₂⁻ et NH₄⁺ étaient respectivement de 7,8 ± 1,8 et 7,6 ± 3,1 mg/L ; 0,08 ± 0,08 et 0,45 ± 0,23 mg/L ; 0,41 ± 0,17 et 0,72 ± 0,23 mg/L.

Les paramètres de croissance, survie et malformation mesurés après 40 jours de nourrissage sont synthétisés dans le Tableau VII.8. L'évolution du poids moyen des larves de hotu dans les différentes conditions d'élevage est représentée aux Figures VII.27 et VII.28.

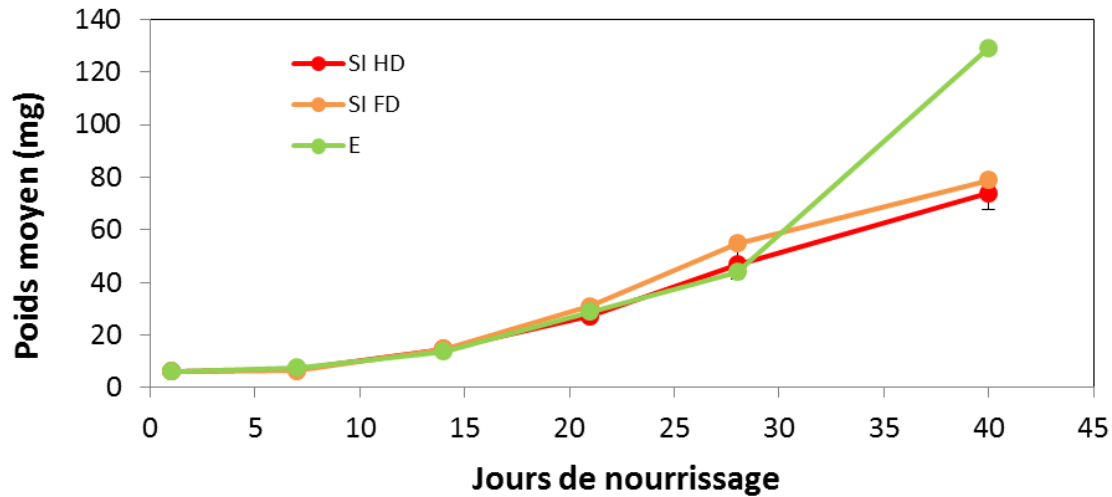


Figure VII.27. Evolution du poids moyen des larves de hotu élevées en conditions extensives (E) et semi-intensives (SI ; FD = faible densité ; HD = haute densité).

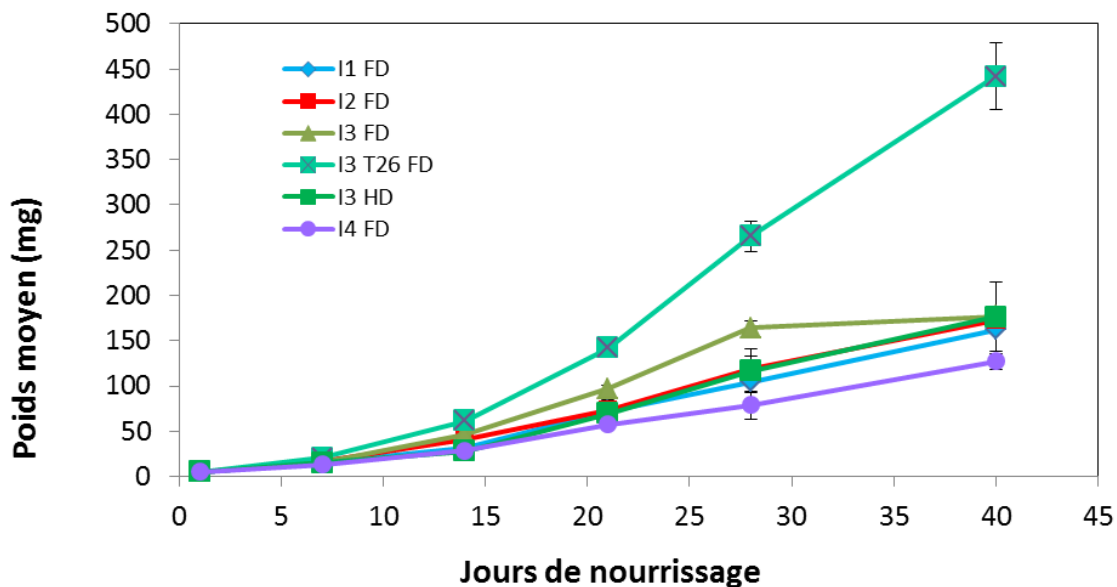


Figure VII.28. Evolution du poids moyen des larves de hotu élevées en conditions intensives suivant 4 schémas alimentaires différents (I1 à I4 ; FD = faible densité ; HD = haute densité ; T26 = température d'élevage de 26 °C).

VII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du hotu

Tableau VII.8. Paramètres de croissance, survie et malformation mesurés dans les différentes conditions d'élevage larvaire du hotu.

	Extensif		Semi-intensif				Intensif											
	E		SI FD		SI HD		I1 FD		I2 FD		I3 FD		I3 HD		I4 FD		I3 T26 FD	
	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2
Pm_i (mg)	6,2	6,2	6,2	6,2	6,2	6,2	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5
Pm_f (mg)	130,5	127,8	64,9	83,1	76,9	80,7	164,7	159,2	175,5	170,7	192,6	160,7	229,9	122,5	139,7	114,9	494,0	389,4
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	20,7	30,5	27,5	25,5	22,6	23,4	71,7	65,3	107,1	148,0	87,5	80,4	51,6	54,7	92,2	95,2	47,2	61,1
	c	c	a	b	ab	b	c	bc	c	c	cd	abc	d	ab	abc	a	f	e
Cv Pm_i (%)	16,13	16,1	16,1	16,1	16,1	16,1	10,9	10,9	10,9	10,9	10,9	10,9	10,9	10,9	10,9	10,9	10,9	10,9
Cv Pm_f (%)	15,9	23,8	42,4	30,7	29,4	29,1	43,6	41,0	61,1	86,7	45,4	50,0	22,4	44,7	66,0	82,9	9,6	15,7
SGR (%·j⁻¹)	7,4	7,4	5,7	6,3	6,1	6,3	8,5	8,4	8,7	8,6	9,1	8,7	9,6	8,0	8,1	7,6	11,5	10,9
FCR	N/A	N/A	2,1	1,3	1,7	1,5	3,3	2,6	2,5	3,6	2,9	3,5	1,2	1,8	4,6	5,2	1,2	1,6
Survie (%)	N/A	N/A	57,0	66,8	82,2	86,9	86,7	95,5	89,9	82,1	94,8	97,2	99,4	83,0	75,8	81,9	99,3	96,5
Malformation (%)	0	0	0	0	0	0	5	3	1	2	4	4	2	4	1	5	0	0

Pm_i : Poids moyen initial ; Pm_f : Poids moyen final ; Cv : coefficient de variation ; SGR : taux de croissance spécifique ; FCR : taux de conversion alimentaire.

VII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du hotu

Après 40 jours de nourrissage, la croissance la plus élevée a été observée dans les lots élevés en conditions intensives à 26 °C, à faible densité et nourris au Gemma Micro (I3 T26 FD). Dans ces conditions, les larves ont atteint un poids moyen compris entre $389,4 \pm 61,1$ mg et $494,0 \pm 47,2$ mg, significativement plus élevés que les poids mesurés dans les autres conditions. Les taux de croissance spécifique (SGR) étaient compris entre 10,9 et 11,5 et les taux de conversion alimentaire entre 1,2 et 1,6.

Dans les lots élevés en conditions intensives à 23 °C, avec différents schémas alimentaires, la croissance a été plus faible (SGR compris entre 7,6 et 9,1). Les poids moyens atteints en fin d'expérience étaient 2 à 3 fois inférieurs à ceux observés à 26 °C, même dans les lots nourris au Gemma Micro, et compris entre $114,9 \pm 95,2$ mg et $229,9 \pm 51,6$ mg. Les performances de conversion alimentaire étaient relativement bonnes dans les lots I3 HD (FCR = 1,2 - 1,8) nourris au Gemma Micro. Dans les autres lots, les FCR étaient compris 2,5 et 5,2.

En conditions extensives, la croissance était comparable aux plus faibles performances observées en élevage intensif (SGR = 7,4). Le poids moyen de ces larves en fin d'expérience était $127,8 \pm 30,5$ mg à $130,5 \pm 20,7$ mg.

L'élevage semi-intensif a fourni les moins bonnes conditions pour les premières phases de croissance larvaire. Les poids moyens atteints en fin d'expérience ne dépassaient pas $83,1 \pm 25,5$ mg.

La survie a également été plus faible en conditions semi-intensives, en particulier dans les lots à faible densité (SI FD : 57,0-66,8 % survie), en raison d'une contamination parasitaire de *Chilodonella* sp. (protiste cilié) (Figure VII.29).

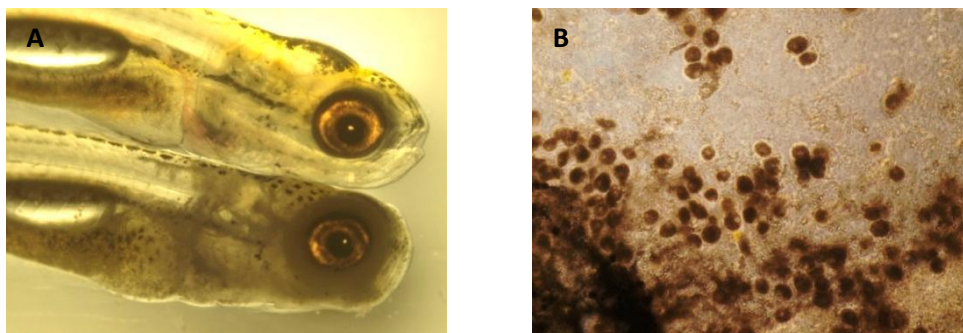


Figure VII.29. Infestation parasitaire (*Chilodonella* sp.) observée dans les lots SI FD. (A) : au-dessus, larve de hotu saine ; en-dessous, le parasite a colonisé les tissus de la tête et du tube digestif de la larve. (B) Vue de *Chilodonella* sp. à la loupe binoculaire.

VII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du hotu

Des taux de survie plus faibles (75,8-81,9 %) ont également été rapportés dans les lots nourris au Lucky Star (14 FD). Dans toutes les autres conditions, les taux de survie étaient compris entre 82,1 et 99,4 % et les valeurs les plus élevées ont été observées dans les lots nourris au Gemma Micro.

Les taux de malformations sont restés faibles ($\leq 5\%$) et aucun individu malformé n'a été rapporté dans les lots élevés à 26 °C, ainsi qu'en conditions extensives et semi-intensives.

Ces résultats permettent de caractériser les performances zootechniques des larves de hotu élevées dans différentes conditions et montrent, qu'en conditions intensives, le schéma à privilégier est un élevage à haute température (26 °C) et une alimentation basée sur un aliment sec de haute qualité (Gemma Micro), qui permet d'atteindre les meilleures performances en termes de croissance et survie, tout en évitant une phase de démarrage à base de proies vivantes.

4.2. Performances zootechniques des larves F2 en conditions intensives

Suite à l'étude du cycle de maturation sexuelle chez des hotus captifs âgés de 3 ans (VII.1.3), des pontes issues de ces nouveaux géniteurs ont été obtenues, après synchronisation de la maturation finale et de la ponte par injection hormonale. Sur les 23 pontes obtenues, 12 ont été fécondées, produisant près de 27000 larves en fin de résorption (VII.1.4).

Quatre pontes ont été échantillonnées pour suivre les performances de croissance et de survie des larves durant la 1^e phase d'élevage.

L'élevage larvaire a été mené en aquarium de 50 l à une densité de 10 larves/l (1 ponte/aquarium). La mise en charge a été réalisée le 09/06/2015. Sur bases des résultats obtenus dans les expériences précédentes (VII.2.1), les larves étaient nourries 8 x/j avec du Gemma Micro 150 (Skretting), à la ration maximale telle que déterminée dans la section VII.3.3.4.5. Les valeurs moyennes de température et de concentration en oxygène dissous au cours de la période expérimentale étaient respectivement de $21,9 \pm 1,1$ °C et $8,4 \pm 0,5$ mg/l.

Dans chaque aquarium, le poids moyen était évalué tous les 8 jours sur un échantillon de 100 individus. Le contrôle final a été réalisé après 24 jours d'élevage. Les poissons ont été dénombrés, la biomasse totale a été pesée et des poids individuels mesurés sur 30 individus de chaque lot.

Sur l'ensemble des pontes, les larves, qui avaient un poids moyen initial de 5 mg, ont atteint au 24^e jour d'élevage un poids moyen de 97 ± 29 mg (Figure VII.30). Des différences ont été observées entre les pontes, puisque leurs poids moyens finaux étaient compris entre 70 et 120 mg, la ponte 8 présentant une croissance significativement inférieure (ANOVA, $p < 0,05$) aux autres.

Les taux de survie étaient proches de 90 % (Tableau VII.9), sauf dans la ponte 8 où il était de 78 % (moyenne : $87,7 \pm 6,6$ %).

Les taux de croissance et de survie plus faibles observés pour la ponte 8 résultent d'une pathologie ayant affecté ce lot à partir du 26/06/2015. L'agent pathogène n'a pas été identifié, mais était probablement d'origine bactérienne puisque un traitement antibiotique (oxytétracycline) du lot a permis de stopper les symptômes cliniques et les mortalités.

Les performances des autres familles étaient très semblables à celle observées précédemment chez des poissons F1 (VII.2.1.4). Dans les précédents essais, dans les mêmes conditions de densité et alimentaires, les poissons (F1) avaient atteint un poids moyen de 125 mg après 25 jours d'élevage et

VII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du hotu

la survie moyenne était de 96 %. La température était cependant 1 °C plus élevée (23 °C), ce qui peut expliquer une croissance légèrement supérieure.

Les différences de croissance observées entre familles pourraient également résulter de la qualité initiale des œufs et des larves. Parmi les 4 familles étudiées, les pontes 8 et 11, qui présentaient les poids moyens finaux respectivement les plus faibles et les plus élevés, étaient également celles caractérisées par les taux de malformation respectivement les plus élevés et les plus bas lors de la mise en charge.

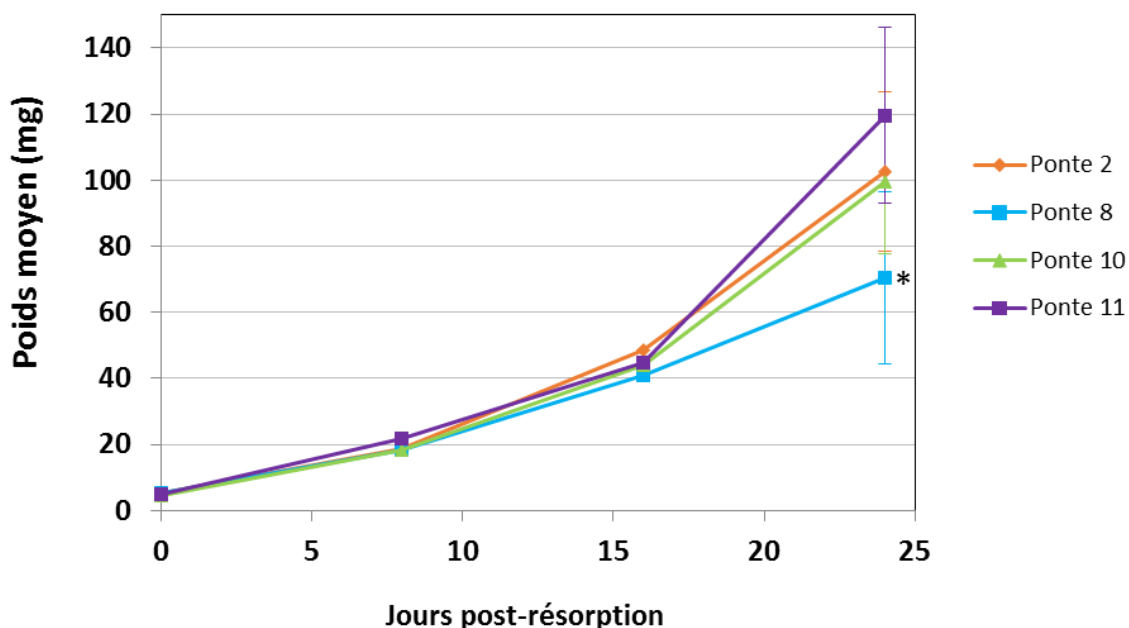


Figure VII.30. Evolution du poids moyen des larves de hotu F2 élevées en conditions intensives.

Tableau VII.9. Taux de survie des larves de hotu F2 après 24 jours d'élevage en conditions intensives.

	Ponte 2	Ponte 8	Ponte 10	Ponte 11	Moyenne
Survie (%)	88,4	78,2	92,8	91,4	87,7 ± 6,6

5. ELEVAGE DES JUVÉNILES

5.1. Evaluation des performances zootechniques des juvéniles F1 de hotu à différents niveaux d'intensification des conditions d'élevage

Les conditions d'élevage larvaire extensives et intensives ont été prolongées pour l'élevage des juvéniles. Les bassins dédiés à l'élevage extensif sont restés dans les mêmes conditions (Figure VII.31). Les lots I FD1, I HD1 et I T27 FD ont été constitués à partir des lots ayant montré la meilleure croissance lors de l'élevage larvaire : I3 FD, I3 HD et I3 T26 FD respectivement. Les lots I FD2 et I HD2 sont issus des conditions larvaires semi-intensives SI FD et SI HD.

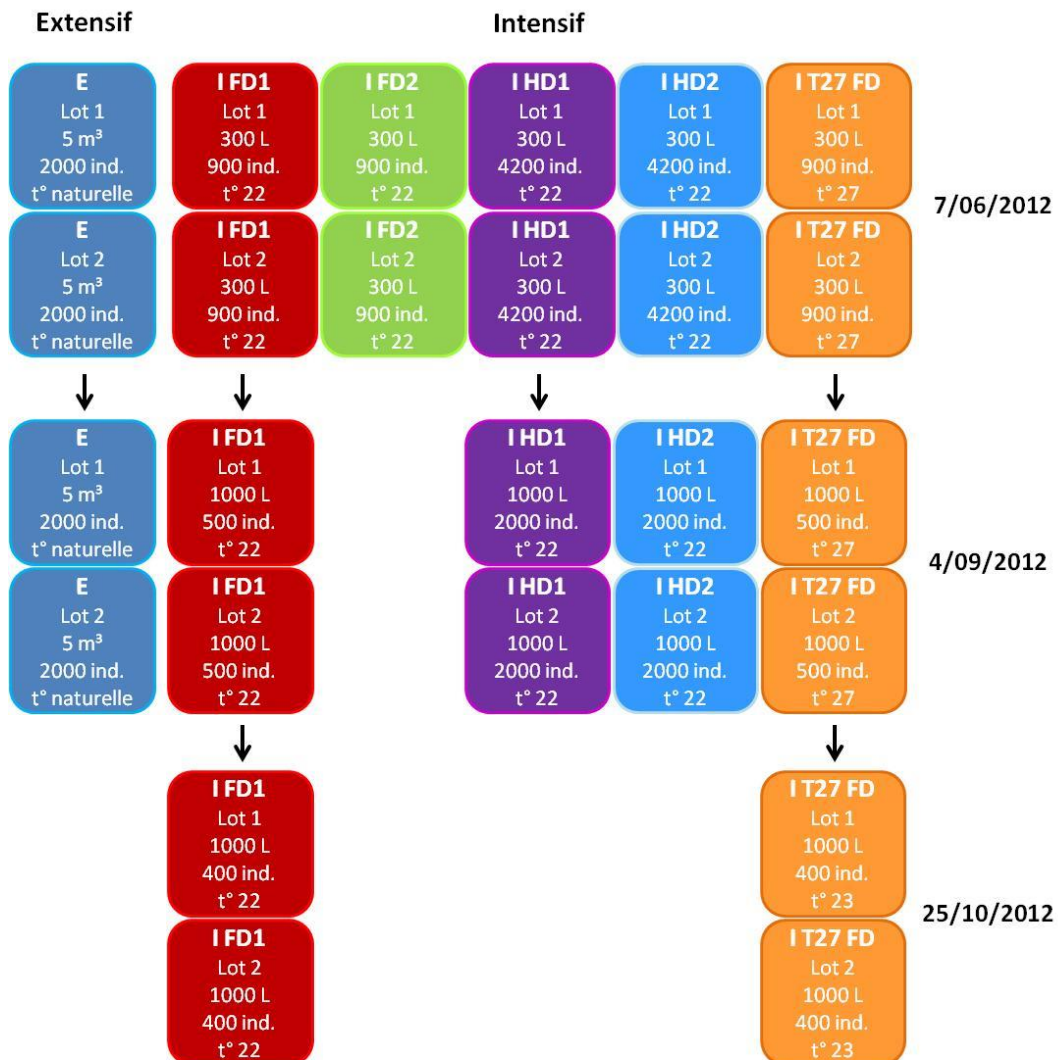


Figure VII.31. Elevage des juvéniles de hotu : schéma expérimentaux.

VII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du hotu

L'expérience a été menée du 7/06/2012 au 21/03/2013 (du 47^e au 334^e jour d'élevage). Des contrôles de biomasse et poids moyen (n = 100) étaient réalisés toutes les 2 semaines. Deux bilans intermédiaires et un bilan final comportant un comptage total et une mesure individuelle de poids et longueur (n = 50 – 100) ont été réalisés le 29/08/2012, le 22/10/2012 et le 21/03/2013.

Les paramètres de croissance, survie et malformation mesurés sont synthétisés dans le Tableau VII.10. L'évolution du poids moyen est représentée à la Figure VII.32.

L'élevage des lots I FD2 a été stoppé le 29/08/2012 car les performances de croissance et de survie de ces 2 lots étaient médiocres. Un bilan final des lots E, I FD1, I HD1 et I HD2 a été dressé le 22/10/2012 avant leur transfert en conditions d'hivernage en eau de Meuse (bassins de 500 L, t° naturelle).

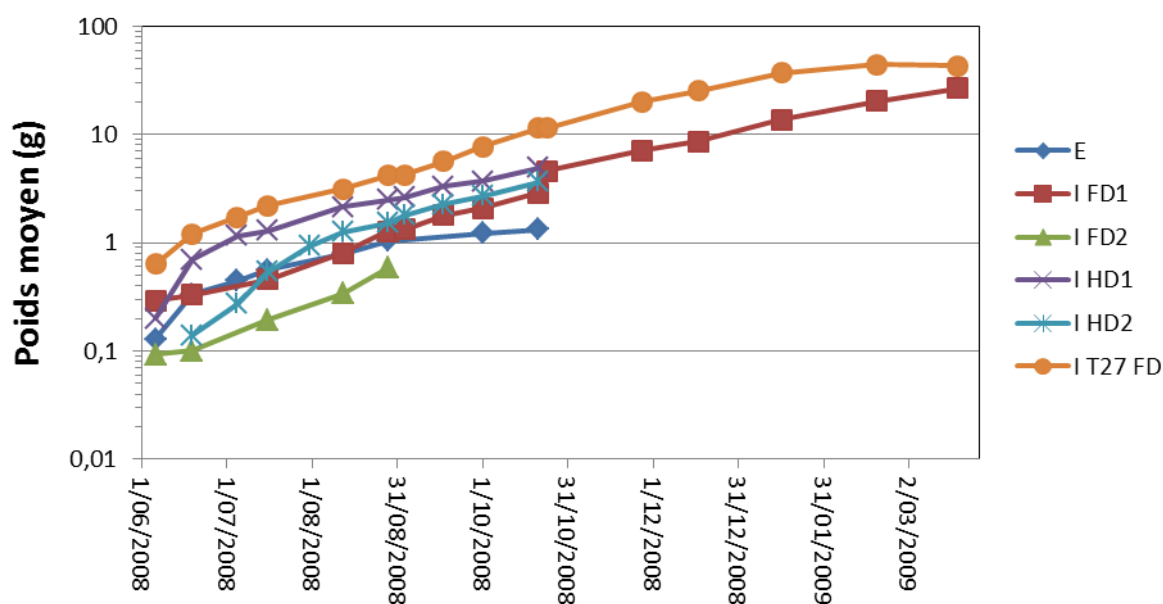


Figure VII.32. Evolution du poids moyen (échelle logarithmique) des juvéniles de hotu.

A ce moment, les hotus élevés en conditions extensives ont atteint en poids moyen de $1,2 \pm 0,2$ g à $1,4 \pm 0,3$ g. En élevage intensif à 23°C, les lots élevés à faible densité ont un poids moyen de $2,9 \pm 1,0$ g, et à haute densité un poids plus élevé compris entre $3,7 \pm 2,1$ g et $5,7 \pm 2,8$ g. La croissance a cependant été beaucoup plus rapide à 27 °C (SGR = 2,1), avec des poissons pesant plus de 10 g (poids moyens : $10,8 \pm 3,7$ g à $11,5 \pm 3,4$ g) à la même période.

En conditions intensives, les taux de survie ont été variables durant la première phase d'élevage (de 20,9 à 91,5%). A partir de septembre, presque toutes les valeurs étaient > 95 %.

VII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du hotu

Après le 22/10/2012, l'expérience a été poursuivie avec les lots I T27 FD et 2 nouveaux lots I FD, reconstitués à partir des poissons issus de lots HD.

Au mois de mars 2013, les poissons élevés à 23 °C avaient atteint un poids moyen de $25,1 \pm 13,4$ g à $33,9 \pm 12,9$; et ceux élevés à 27 °C, $41,1 \pm 15,5$ à $48,4 \pm 13,6$ g.

Dans le courant du mois de février 2013, une infection bactérienne (*Flavobacterium*) a atteint les lots I T27 FD (Figure VII.33), causant d'importantes mortalités. Cette pathologie explique les taux de survie et la croissance faibles (voire nulle) de ces lots au cours des 2 derniers mois d'expérience. Dans les autres lots, la survie était > 95 % durant cette phase d'élevage.

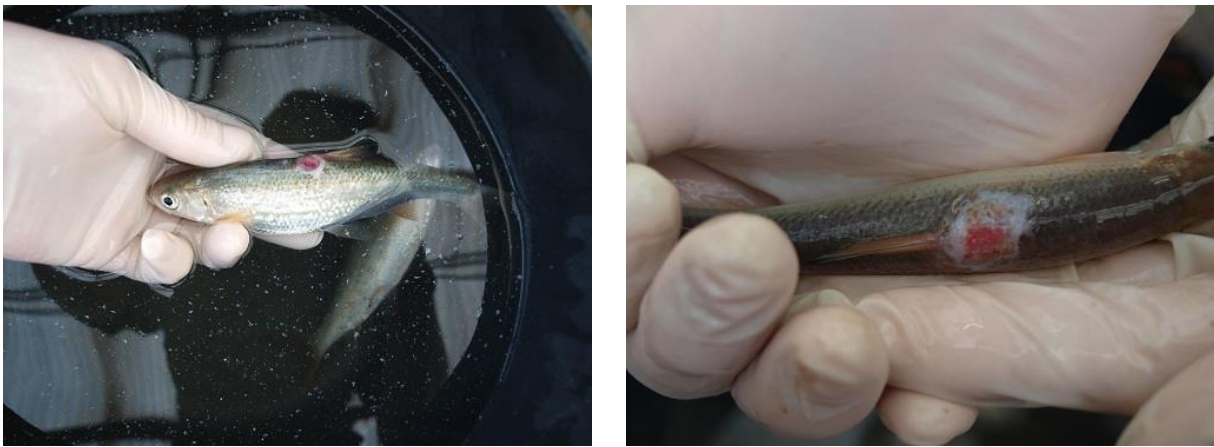


Figure VII.33. Infection bactérienne (*Flavobacterium*) affectant des juvéniles de hotu (âge : 280 j) élevés à 27 °C.

VII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du hotu

Tableau VII.10. Paramètres de croissance, survie et malformation mesurés dans les conditions d'élevage extensive et intensives des juvéniles de hotu.

	Extensif		Intensif									
29/08/2012	E		I FD1		I FD2		I HD1		I HD2		I T27 FD	
	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2
Pm _i (g)	0,13	0,13	0,28	0,30	0,09	0,09	0,20	0,20	0,14	0,14	0,64	0,64
Pm _f (g)	0,96 ± 0,27	1,12 ± 0,27	1,22 ± 0,41	1,09 ± 0,39	0,53 ± 0,28	0,50 ± 0,29	2,58 ± 1,51	2,20 ± 0,97	1,52 ± 0,84	1,55 ± 0,97	3,61 ± 1,18	4,42 ± 1,88
Cv P _f (%)	28,1	23,8	33,7	35,8	52,6	57,8	58,5	44,2	55,4	62,7	32,7	42,6
L _f (mm)	52 ± 4	54 ± 4	54 ± 6	52 ± 7	41 ± 7	41 ± 7	66 ± 14	63 ± 10	56 ± 11	55 ± 12	75 ± 9	80 ± 11
SGR (%·j ⁻¹)	2,4	2,6	1,9	1,7	2,3	2,1	3,1	2,9	3,5	3,3	2,1	2,4
Survie (%)	N/A	N/A	72,6	79,2	21,7	20,9	58,6	39,3	86,5	91,5	74,9	59,1
Malformation _f (%)	N/A	N/A	2,1	2,0	0,0	0,0	1,2	1,0	1,1	1,0	0,4	0,6
22/10/2012	E		I FD				I HD1		I HD2		I T27 FD	
	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2			Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2
Pm _i (g)	1,0	1,1	1,3	1,3			2,6	2,6	1,8	1,8	4,1	4,3
Pm _f (g)	1,2 ± 0,2	1,4 ± 0,3	2,9 ± 1,2	2,9 ± 1,0			5,7 ± 2,8	4,7 ± 2,8	3,7 ± 2,1	4,2 ± 2,3	10,8 ± 3,7	11,5 ± 3,4
Cv P _f (%)	18,7	23,5	42,0	35,5			49,4	60,6	57,7	54,4	33,7	29,8
L _f (mm)	58 ± 4	61 ± 4	70 ± 9	70 ± 8			86 ± 15	81 ± 15	74 ± 13	78 ± 14	105 ± 11	108 ± 11
SGR (%·j ⁻¹)	0,5	0,5	1,7	1,6			1,5	1,1	1,5	1,5	2,1	2,1
Survie (%)	N/A	N/A	97,6	98			97,2	69,8	95,3	97,6	97,4	95
Malformation _f (%)	0,1	0,1	3,3	2,4			2,0	3,2	1,6	1,5	0,0	0,2
21/03/2013			I FD								I T27 FD	
			Lot 1	Lot 2							Lot 1	Lot 2
Pm _i (g)			4,6	4,6							11,4	11,4
Pm _f (g)			25,1 ± 13,4	33,9 ± 12,9							48,4 ± 13,6	41,1 ± 15,5
Cv P _f (%)			53,3	38,1							28,1	37,7
L _f (mm)			122 ± 22	136 ± 17							156 ± 13	147 ± 14
SGR (%·j ⁻¹)			1,2	1,2							0,9	0,9
Survie (%)			96,0	98,8							68,8	54,8
Malformation _f (%)			0	0							0	0

5.2. Hivernage

En 2012, des hotus F1 avaient été produits au CEFRA et élevés dans différentes conditions extensives et intensives afin de définir les performances zootechniques de ces poissons dans différents systèmes d'élevage. L'élevage a été mené durant tout l'été jusqu'au mois d'octobre. Les conditions extensives simulaient une production en étang. Les conditions intensives variaient principalement en fonction de la densité et de la température d'élevage. Trois systèmes intensifs avaient été définis : faible densité 23 °C, haute densité 23 °C, faible densité 27 °C (voir VII.3.1). Une partie de ces poissons avaient été maintenus en circuit fermé et conditions constantes durant tout l'hiver jusqu'en mars 2013 : des lots issus des conditions faible densité à 23 et 27 °C.

Afin de simuler de manière réaliste les conditions d'élevage rencontrées en production piscicole, les autres poissons élevés durant la période estivale dans les conditions décrites ci-dessus ont été maintenus tout l'hiver (du 24/10/2012 au 17/04/2013) dans des conditions thermiques naturelles.

Le maintien des poissons durant la période hivernale s'est fait en bassin de 500 L alimentés en eau de Meuse en circuit ouvert. La photopériode était naturelle et la température comprise entre 2,6 et 13,7 °C. Trois conditions différentes ont été testées en duplicat pour chaque espèce, en fonction des histoires de vie différentes des lots de poissons utilisés : lots à faible densité et haute densité issus du système intensif ; lots à faible densité issus du système extensif (Figure VII.34). Les poissons étaient nourris 2 x / jour à une ration ne dépassant pas 1 % de la biomasse. La ration était adaptée en fonction du comportement des poissons.

Des poids et longueurs individuels ont été mesurés sur 50 individus de chaque lot en début et fin d'hivernage. Ces données ont permis de calculer le coefficient de condition des poissons en début et fin d'expérience. Le coefficient de condition est calculé grâce à la formule :

$$K = 10^5 \times \frac{\text{Poids moyen (g)}}{\text{Longueur moyenne (mm)}^3}$$

De plus, à la fin de la période expérimentale, les poissons étaient dénombrés et des indicateurs qualitatifs mesurés : érosion de la nageoire caudale et charge parasitaire.

L'érosion de la nageoire caudale était évaluée sur 20 individus grâce aux indices allant de 0 (nageoire intacte, pas d'érosion) à 4 (érosion de plus de 50 % de la nageoire) définis par Person-Le Ruyet & Le Bayon (2009) chez le bar (Figure VII.35).

VII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du hotu

La charge parasitaire était évaluée par frottis. Pour chaque lot, le mucus de 5 individus étaient raclé sur 1 flanc du poisson puis observé entre lame et lamelle au microscope afin d'identifier et dénombrer les parasites.

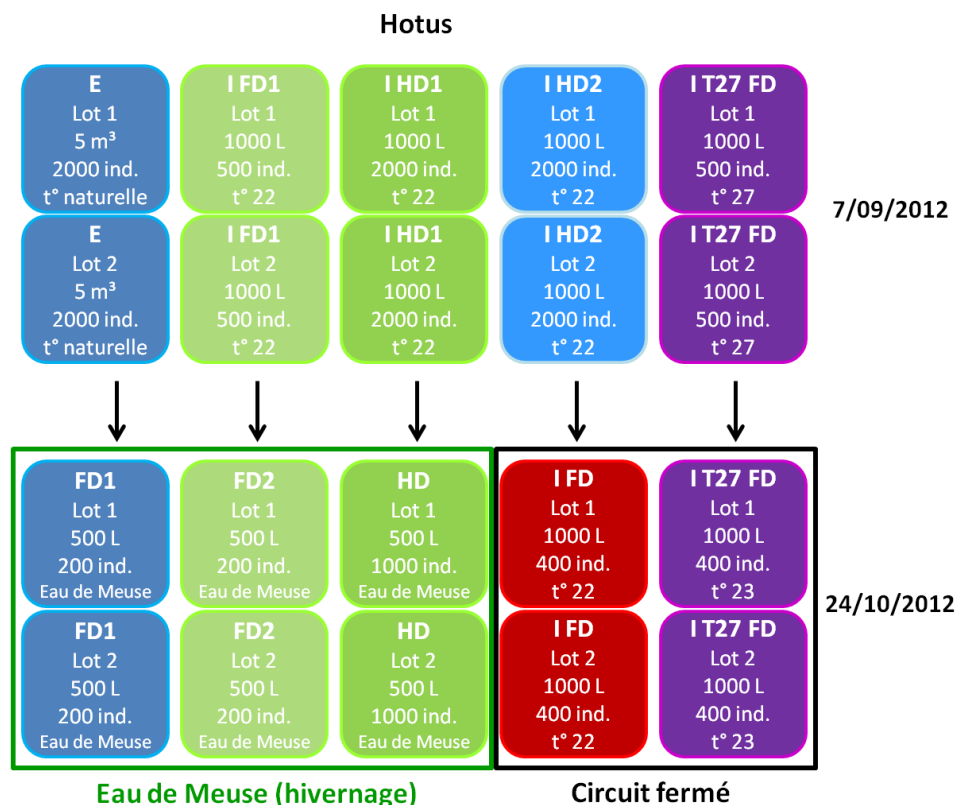


Figure VII.34. Schémas expérimentaux d'élevage des juvéniles de hotu durant la période hivernale (I = intensif ; E = extensif ; FD = faible densité ; HD = haute densité).

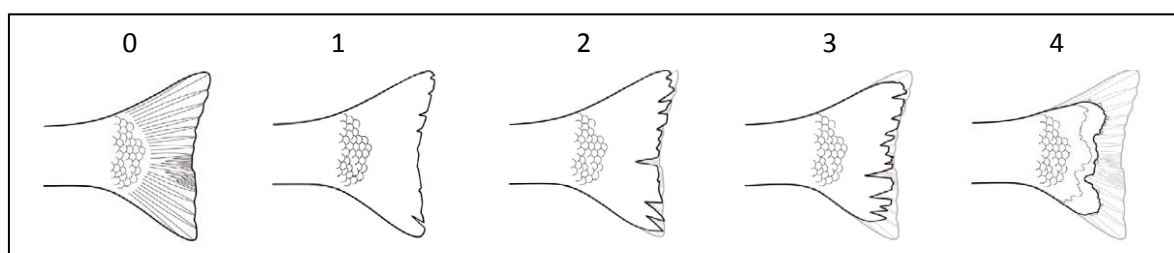


Figure VII.35. Modifications du profil de la nageoire caudale utilisées pour identifier les 5 niveaux d'érosion définis par Person-Le Ruyet & Le Bayon (2009).

Les poids moyens et les coefficients de conditions sont restés très semblables entre le début et la fin de l'hivernage (Tableau VII.11). Les coefficients de condition de tous les lots étaient proches de 1, excepté les hotus originaires du système intensif qui avaient un coefficient de 0,8, indiquant la plus

VII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du hotu

faible capacité d'accumulation de réserves énergétiques de ces poissons en étang. La survie a été supérieure à 93 % dans tous les lots. Les coefficients moyens d'érosion de la nageoire caudale étaient très bas en fin d'expérience. Les charges parasitaires étaient très variables d'un lot à l'autre. Les communautés parasitaires observées étaient composées presque exclusivement de trichodines ; parasites de petite taille qui affectent peu l'état de santé général du poisson et la survie.

Globalement, la résistance des hotus dans ces conditions d'hivernage a été très bonne, tant en terme de survie que de qualité. Même si la croissance est nulle durant toute cette période, ces résultats montrent que le maintien des poissons en conditions thermiques naturelles est envisageable si les conditions d'élevage ne permettent pas un maintien à haute température, assurant la poursuite de la croissance durant l'hiver.

Tableau VII.11. Paramètres de croissance, survie et qualité des juvéniles de hotu maintenus durant la période hivernale en eau de Meuse (Pm_i = poids moyen initial ; Pm_f = poids moyen final ; K_i = coefficient de condition initial ; K_f = coefficient de condition final).

	FD1	FD2	HD
Origine	Extensif	Intensif	Intensif
Pm_i (g)	1,3 ± 0,3	2,9 ± 1,1	5,2 ± 2,9
Pm_f (g)	1,3 ± 0,3	3,3 ± 1,4	5,1 ± 2,7
K_i	0,80 ± 0,04	1,04 ± 0,12	1,05 ± 0,08
K_f	0,78 ± 0,10	0,94 ± 0,08	0,96 ± 0,07
Survie (%)	98	93,5	98,9
Erosion caudale *	0,3 ± 0,8	0,0	0,0
n parasites	40 ± 79	145 ± 136	9 ± 10

5.3. Détermination de la ration alimentaire chez des larves et juvéniles de hotu en conditions intensives

5.3.1. Introduction

Le but de cette partie du travail était de déterminer les rations alimentaires minimale, optimale et maximale chez des larves et juvéniles de hotu à différents stades de développement en conditions d'élevage intensif. A partir des résultats obtenus, un modèle de rationnement permettant de calculer la ration alimentaire durant l'élevage larvaire et le prégrossissement des juvéniles a été établi.

Lors d'une précédente expérience, différents schémas de sevrage et d'alimentation des larves et jeunes juvéniles de hotu avaient été testés, permettant de définir un schéma d'alimentation optimisant les performances de l'espèce dans nos conditions d'élevage. Le schéma alimentaire qualitativement optimal (après 40 j d'alimentation : SGR = 8,9 % j⁻¹ ; survie = 96 %) était basé sur l'utilisation d'un aliment artificiel complet (Gemma Micro, 59 % de protéines et 14 % de lipides) dès le début de l'alimentation exogène. La formulation de cet aliment de démarrage permet d'éviter l'utilisation de proies vivantes (*Artemia*) lors de la première phase d'alimentation.

Afin d'optimiser l'élevage d'une espèce, il est également important de définir les besoins alimentaires quantitatifs. Une ration alimentaire optimale permet de minimiser les pertes d'aliment, de réduire la pollution de l'eau et de diminuer les coûts de production de l'élevage. L'estimation du taux d'alimentation optimal est affectée par la taille des poissons, la température de l'eau, la stratégie d'alimentation et les conditions d'élevage (Du et al., 2005). Le taux d'alimentation est particulièrement important pour les larves qui sont plus sensibles à la qualité de l'eau, celle-ci diminuant avec la dégradation de l'aliment provenant du sur-nourrissage. Ne disposant pas de réserves, les larves sont également plus vulnérables au sous-nourrissage.

De manière générale, la croissance du poisson augmente lorsqu'il consomme plus de nourriture jusqu'à atteindre une valeur maximale correspondant au maximum de nourriture qu'il peut consommer. La relation entre la croissance et la ration est curviligne et est présentée de manière théorique dans la Figure VII.36.

Lorsque les poissons ne sont pas alimentés, ils perdent du poids. La ration de maintenance, correspondant à une croissance nulle, permet le maintien des fonctions vitales du poisson. Lorsque la ration augmente, la courbe s'infléchit progressivement pour atteindre un plateau en un point qui équivaut à la ration maximale et la croissance maximale. Le point de contact entre la tangente à l'origine et la courbe représente la valeur pour laquelle le ratio croissance - aliment ingéré est

maximum. Dans ce cas, la croissance par unité de nourriture ingérée est maximale (l'efficacité de conversion = Taux de croissance (G)/Ration est maximale, et le coefficient de conversion = Ration/G est minimum) ; cette ration est appelée ration optimale. La croissance maximale et l'efficacité de conversion maximale ne sont donc pas atteintes pour les mêmes rations (Brett & Groves, 1979).

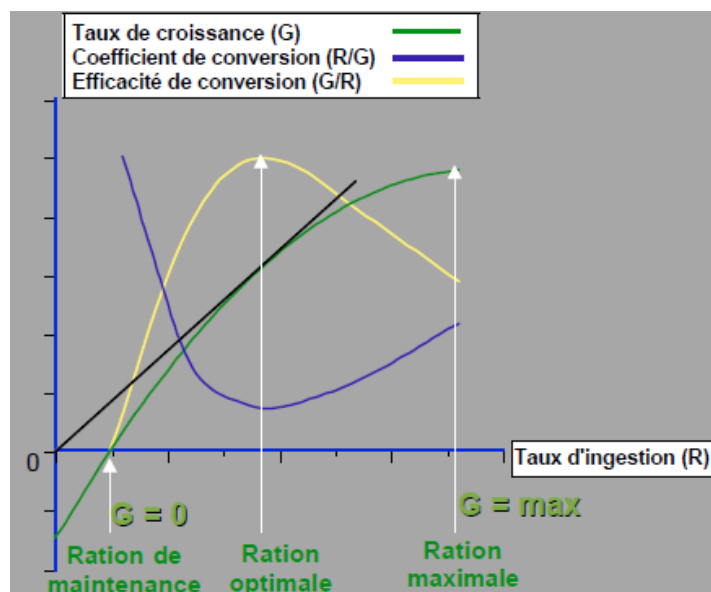


Figure VII.36. Relations générales entre le taux d'ingestion, la croissance et le coefficient conversion de l'aliment chez les poissons (d'après Brett & Groves, 1979).

5.3.2. Productions de larves, conditions d'élevage et schémas expérimentaux

Une reproduction artificielle réalisée avec des géniteurs capturés par pêche électrique dans l'Amblève le 23 avril 2013 a permis la production de ± 5000 larves de hotu. Les œufs ont été incubés à 17 °C et les larves transférées en aquariums dès la fin de la résorption vitelline et le début de l'alimentation exogène.

L'élevage a été mené en conditions intensives, à 23 °C. Les volumes d'élevage ont été adaptés au cours de la croissance des poissons (Tableau VII.12). Ils ont ainsi été maintenus successivement en aquariums de 50 L, aquariums de 250 L et bassins de 300 L. Seule la dernière phase d'élevage juvénile, réalisée avec des poissons de 50 g en bassins de 300 L a été conduite à 20 °C, afin de garantir un état sanitaire correct des poissons.

Cinq taux de nourrissage ont été testés en duplicat pour chaque phase d'élevage. La ration distribuée a été calculée en fonction de la biomasse initiale de mise en charge des aquariums ou bassins en se basant sur un modèle théorique s'appuyant sur des données préliminaires obtenues pour le hotu et réajustées journallement en fonction du sur-nourrissage éventuellement observé au cours de la

VII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du hotu

journée. Un léger sur-nourrissage des lots recevant la ration la plus élevée était admis durant les phases d'élevage, permettant d'estimer que cette ration correspondait à une ration légèrement supérieure à la ration maximale. En fonction de ces observations, chaque ration était incrémentée proportionnellement au taux de celle-ci afin de grader des intervalles équivalents entre les différentes rations testées (Tableau VII.13).

Tableau VII.12. Schémas expérimentaux des différentes phases d'élevage.

	Phase 1	Phase 2	Phase 3	Phase 4	Phase 5
Durée d'élevage (j)	11	11	18	18	46
Age (j post-résorption)	10	25	46	67	±360
Poids initial	26 mg	130 mg	370 mg	500 mg	50 g
Poids final	80 mg	280 mg	490 mg	660 mg	67 g
Densité (ind L ⁻¹)	2	2	2	0,6	0,2
Volume (L)	50	50	50	250	300
Température (°C)	23	23	23	23	20

Tableau VII.13. Types d'aliment et taux de rationnement des différentes phases d'élevage.

	Aliment	Granulométrie	% protéines / % lipides	Taux de rationnement (%)
Phase 1	Gemma Micro	150 µm	55 / 15	25-20-15-10-5
Phase 2	Gemma Micro	300 µm	55 / 15	9-7-5-3-1
Phase 3	Aquabio 00	500 – 800 µm	58 / 12	7,5-5,75-4-2,25-0,5
Phase 4	Aquabio 00	500 – 800 µm	58 / 12	5-3,81-2,62-1,43-0,25
Phase 5	Crumble vital	1,2 – 1,5 mm	46 / 10	1,7-1,3-0,9-0,5-0,1

Durant les quatre premières phases d'élevage, la ration journalière a été distribuée manuellement en 6 repas étalés entre 9 h et 17 h.

Pour la dernière phase d'élevage, les bassins étaient munis de nourrisseurs à tapis automatique permettant de distribuer l'aliment en continu durant 12h.

L'ensemble de l'élevage a été conduit en utilisant des aliments artificiels : Gemma Micro (Skretting), miettes pour alevins 00 (Aquabio) et Crumble Vital (Coppens) (Tableau VII.13). La transition entre ces différents aliments se justifie par le maintien d'une adéquation entre la taille des particules

d'aliment et celle de la bouche des larves et juvéniles et des résultats d'expériences d'alimentation réalisées précédemment.

5.3.3. Contrôles de croissance

Pour chaque phase d'élevage, la mise en charge était réalisée avec des lots homogènes (biomasses et effectifs égaux). Des poids individuels étaient mesurés sur 50 individus. Des contrôles intermédiaires de croissance, à 6 jours d'intervalle pour les 4 premières phases d'élevage et 15 jours pour la phase 5, consistant à peser la biomasse totale de chaque lot ont été réalisés au cours des différentes phases d'élevage. Ces contrôles ont permis de vérifier la croissance, d'ajuster les rations et la durée des expériences en fonction des résultats obtenus.

Lors du contrôle final, la biomasse totale de chaque aquarium ou bassin a été mesurée. Ensuite, 50 individus prélevés aléatoirement dans chaque lot ont été pesés individuellement. Enfin, l'ensemble des individus était dénombré.

Ces contrôles ont permis de déterminer le taux spécifique de croissance (*SGR*), le taux de conversion alimentaire (*FCR*) et la survie.

Les relations entre la ration journalière et le taux de croissance spécifique ont été utilisées pour déterminer la ration alimentaire de maintenance (correspondant à un taux spécifique de croissance $SGR = 0$), optimale (obtenue graphiquement) et maximale (au-dessus duquel aucune augmentation significative du *SGR* ne peut être attendue) pour différents poids corporels de larves et juvéniles de hotu. Dans toutes les phases d'élevage, des régressions polynomiales du second degré ont été utilisées pour interpoler les données selon le modèle de Brett & Groves (1979).

5.3.4. Résultats

5.3.4.1. Phase 1 : 26 à 80 mg (10 à 21 jours post-résorption)

Pour cette première phase d'élevage, conduite à 23°C durant 11 jours à partir de larves de 26 mg, l'ensemble des rations distribuées étaient supérieures à la ration de maintenance (Tableau VII.14, Figure VII.37). Les lots qui ont reçu la plus faible ration (4 %) ayant doublé de poids, cette ration n'a pas pu être déterminée. Les rations optimale et maximale étaient respectivement de 4 et 12,5 %. Les taux de survie étaient supérieurs à 96 % sans influence du taux de nourrissage sur la survie des différents lots ($p > 0,05$). Les poids finaux des rations distribuées de 4 % et de 9 % étaient significativement différents des autres rations ($p < 0,05$). Les taux de croissance spécifique ont été

VII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du hotu

influencés par les taux de nourrissage pour toutes les rations distribuées, l'augmentation de la ration ayant conduit à augmenter la vitesse de croissance jusqu'à un maximum correspondant à la ration maximale (12,5 %). Le meilleur taux de conversion (0,7) a été obtenu pour la ration optimale (4 %).

Tableau VII.14. Poids moyens finaux et taux de survie enregistrés pour la première phase d'élevage (des lettres différentes indiquent des différences significatives (ANOVA, $p < 0,05$)).

Ration (%)	4	7,4	9	13,4	17,3
Poids final (mg)	52 ^a	64 ^b	83 ^c	72 ^b	71 ^b
Survie (%)	100	96	97	99	96,5

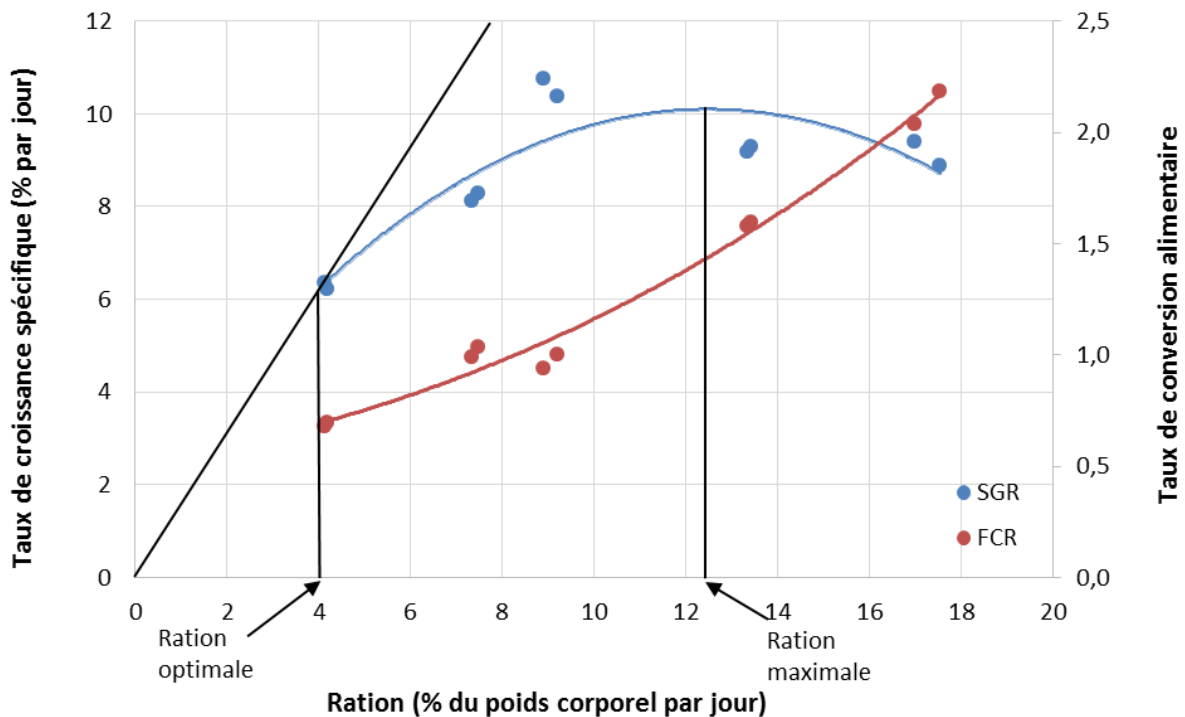


Figure VII.37. Effet de la ration alimentaire sur la croissance et le taux de conversion de larves de hotu âgées de 10 à 21 jours post-résorption.

La relation entre le taux de croissance spécifique (SGR) et la ration journalière (R) distribuée à des hotus (poids moyen initial = 26 mg) s'établit comme suit :

$$\text{SGR} = -0,053R^2 + 1,339R + 1,7316 \quad r^2 = 0,772 \quad p = 0,006$$

5.3.4.2. Phase 2 : 130 à 280 mg (25 à 36 jours post-résorption)

Pour cette deuxième phase d'élevage, conduite à 23°C durant 11 jours à partir de juvéniles de 130 mg à 25 jours post-résorption, les rations de maintenance, optimale et maximale, étaient respectivement de 0,5 %, 3 % et 8,7 % (Figure VII.38). Les taux de survie étaient supérieurs à 99 %, sans influence du taux de nourrissage sur la survie des différents lots ($p < 0,05$) (Tableau VII.15). Les poids finaux des différents lots étaient tous significativement différents entre eux. Les taux de croissance spécifique ont été influencés par les taux de nourrissage pour toutes les rations distribuées, l'augmentation de la ration ayant conduit à augmenter la vitesse de croissance. Le meilleur taux de conversion (0,8) a été obtenu pour la ration optimale (3 %).

Tableau VII.15. Poids moyens finaux et taux de survie enregistrés pour la deuxième phase d'élevage (des lettres différentes indiquent des différences significatives (ANOVA, $p < 0,05$)).

Ration (%)	1,2	3	4,6	6	7,4
Poids final (mg)	147 ^a	195 ^b	231 ^c	261 ^d	278 ^e
Survie (%)	99	99,5	99,5	99,5	99

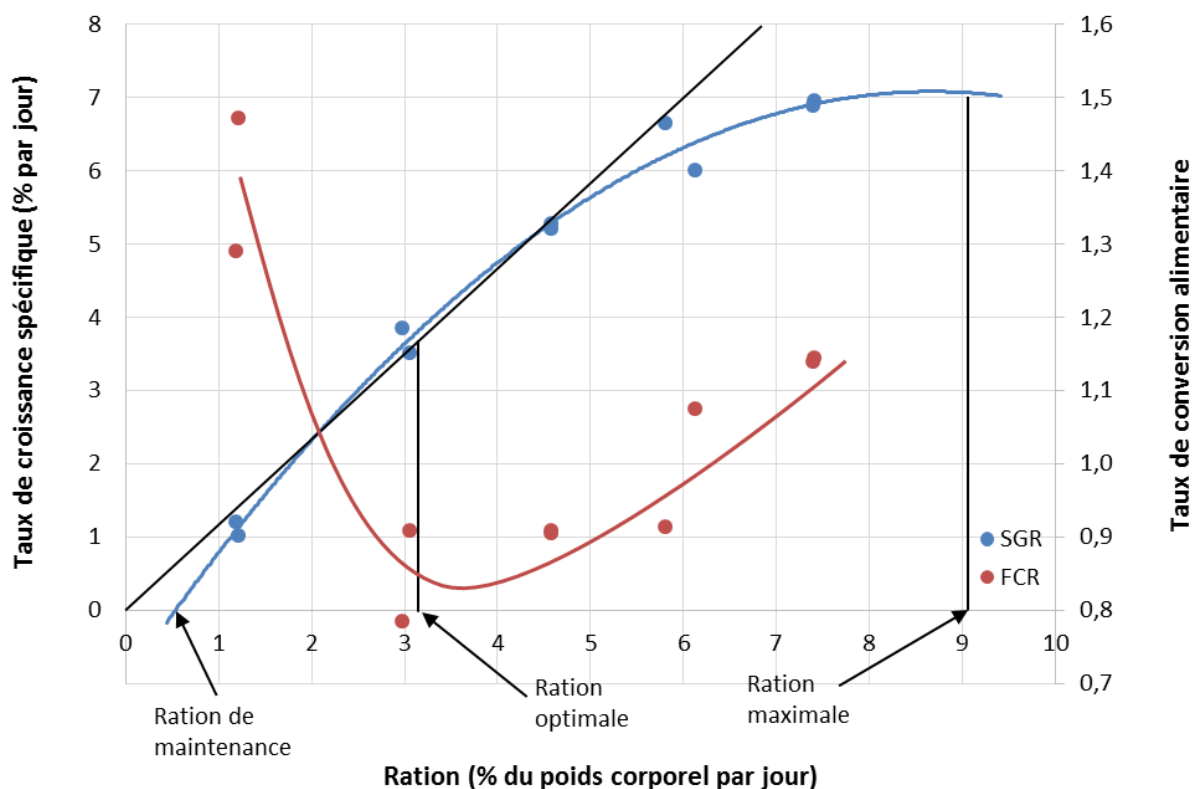


Figure VII.38. Effet de la ration alimentaire sur la croissance et le taux de conversion de juvéniles de hotu âgés de 25 à 36 jours post-résorption.

La relation entre le taux de croissance spécifique (SGR) et la ration journalière (R) distribuée à des hotus (poids moyen initial = 130 mg) s'établit comme suit :

$$\text{SGR} = -0,1069R^2 + 1,8551R - 0,9657 \quad r^2 = 0,989 \quad p < 0,001$$

5.3.4.3. Phase 3 : 370 à 490 mg (46 à 64 jours post-résorption)

Pour cette troisième phase d'élevage, conduite à 23°C durant 18 jours à partir de juvéniles de 370 mg à 46 jours post-résorption, les rations de maintenance, optimale et maximale, étaient respectivement de 0,3 %, 1,5 % et 3,6 % (Figure VII.39). Les taux de survie étaient supérieurs à 97 % sans influence du taux de nourrissage sur la survie des différents lots ($p > 0,05$) (Tableau VII.16). Les poids finaux des deux rations les plus faibles (0,5 % et 1,6 %) étaient significativement différents de toutes les autres ($p < 0,05$). Les taux de croissance spécifique ont été influencés par les taux de nourrissage pour toutes les rations distribuées, l'augmentation de la ration ayant conduit à augmenter la vitesse de croissance jusqu'à un maximum correspondant à la ration maximale (3,6 %). Le meilleur taux de conversion (1,7) a été obtenu pour la ration distribuée de 1,6 % qui était la plus proche de la ration optimale (1,5 %).

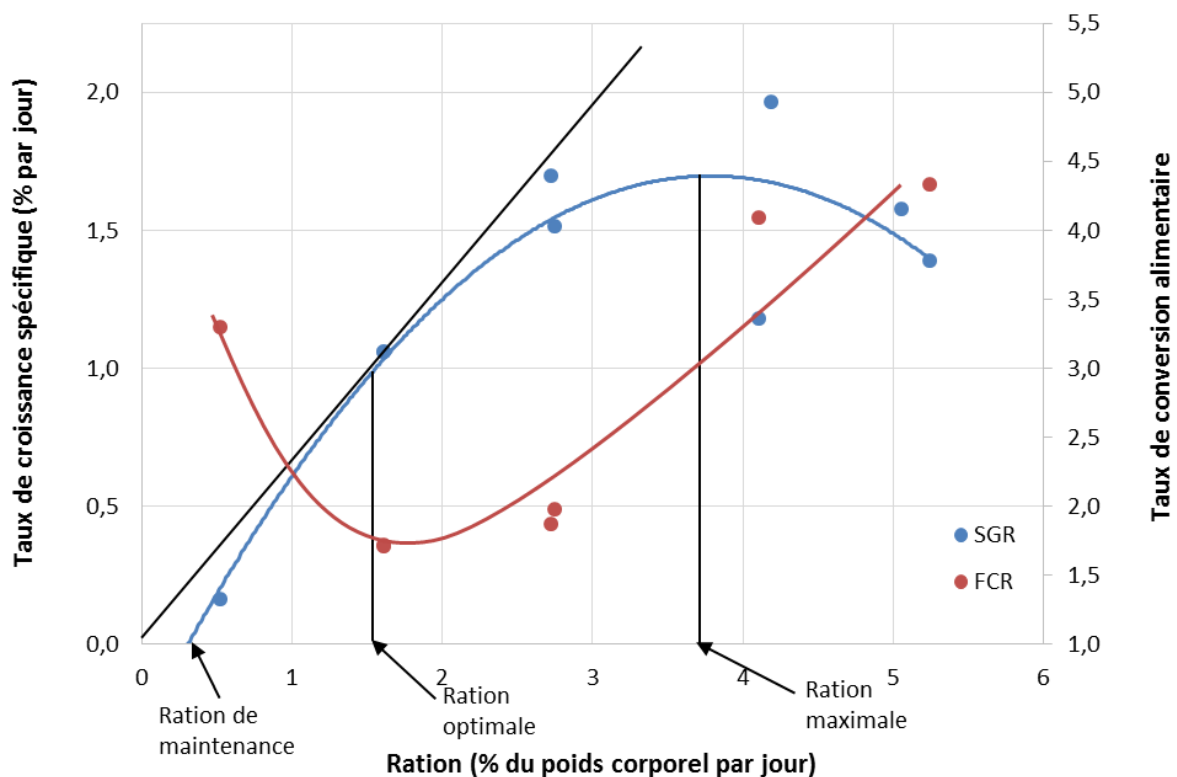


Figure VII.39. Effet de la ration alimentaire sur la croissance et le taux de conversion de larves de hotu âgés de 46 à 64 jours post-résorption.

VII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du hotu

Tableau VII.16. Poids moyens finaux et taux de survie enregistrés pour la troisième phase d'élevage (des lettres différentes indiquent des différences significatives (ANOVA, $p < 0,05$)).

Ration (%)	0,5	1,6	2,7	4,2	5,1
Poids final (mg)	380 ^a	450 ^b	490 ^c	490 ^c	480 ^c
Survie (%)	99	98	97	98	98,5

La relation entre le taux de croissance spécifique (SGR) et la ration journalière (R) distribuée à des hotus (poids moyen initial = 370 mg) s'établit comme suit :

$$\text{SGR} = -0,1406R^2 + 1,0636R - 0,3149 \quad r^2 = 0,824 \quad p < 0,001$$

5.3.4.4. Phase 4 : 500 à 660 mg (67 à 85 jours post-résorption)

Pour cette quatrième phase d'élevage, conduite à 23°C durant 18 jours à partir de juvéniles de 500 mg à 67 jours post-résorption, les rations de maintenance, optimale et maximale, étaient respectivement de 0,1 %, 0,9 % et 3,4 % (Figure VII.40). Les taux de survie étaient supérieurs à 91 % avec une influence du taux de nourrissage sur la survie des différents lots (Tableau VII.17). Les deux taux de survie les plus bas (91 % et 92 %) ont été obtenus pour les deux rations distribuées les plus élevées (4,8 % et 3,6 %) et étaient significativement différents des autres rations ($p < 0,05$). Les mortalités observées semblaient pouvoir être imputées à une pathologie qui n'a cependant pas pu être identifiée. Les poids finaux des trois rations distribuées les plus faibles (0,4 %, 1,4 % et 2,5 %) étaient significativement différents de tous les autres et ceux des deux rations les plus élevées (3,6 % et 4,8 %) n'étaient pas significativement différents entre eux. Les taux de croissance spécifique ont été influencés par les taux de nourrissage pour toutes les rations distribuées, l'augmentation de la ration ayant conduit à augmenter la vitesse de croissance jusqu'à un maximum correspondant à la ration maximale (3,4 %). Le meilleur taux de conversion (1,8) a été obtenu pour la ration distribuée de 1,4 % qui était la plus proche de la ration optimale (0,9 %).

Tableau VII.17. Poids moyens finaux et taux de survie enregistrés pour la quatrième phase d'élevage (des lettres différentes indiquent des différences significatives (ANOVA, $p < 0,05$)).

Ration (%)	0,4	1,4	2,5	3,6	4,8
Poids final (mg)	513 ^a	598 ^b	615 ^c	657 ^d	653 ^d
Survie (%)	98 ^a	96 ^a	98 ^a	92 ^b	91 ^b

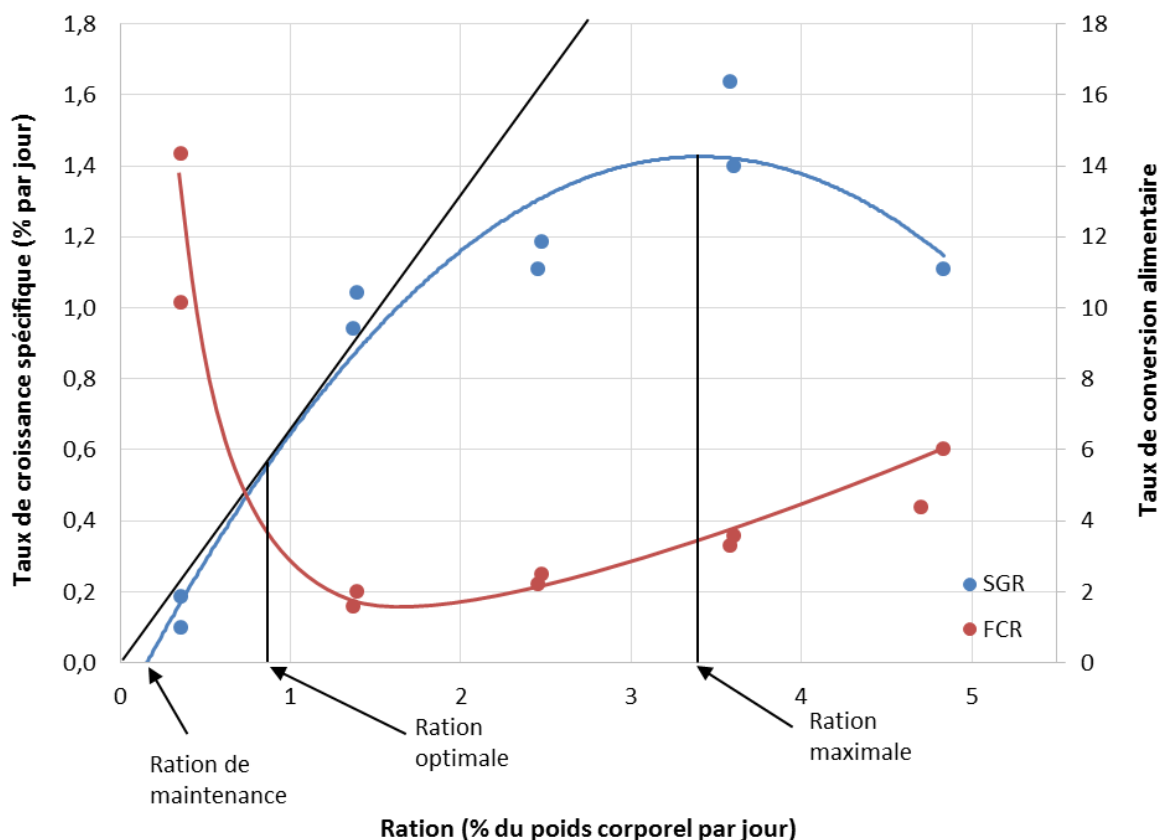


Figure VII.40. Effet de la ration alimentaire sur la croissance et le taux de conversion de juvéniles de hotu âgés de 67 à 85 jours post-résorption.

La relation entre le taux de croissance spécifique (SGR) et la ration journalière (R) distribuée à des hotus (poids moyen initial = 660 mg) s'établit comme suit :

$$\text{SGR} = - 0,1027R^2 + 0,8101R - 0,0844 \quad r^2 = 0,8632 \quad p < 0,001$$

5.3.4.5. Résumé des expériences menées à 23 °C (10 à 85 jours post-résorption)

Les valeurs des niveaux de rationnement de maintenance, optimal et maximal des différentes phases d'élevage larvaires et juvéniles de hotu conduites à 23°C sont présentées dans le Tableau VII.18 et comparées aux rations distribuées empiriquement au cours de l'élevage mené en 2012 dans des conditions semblables.

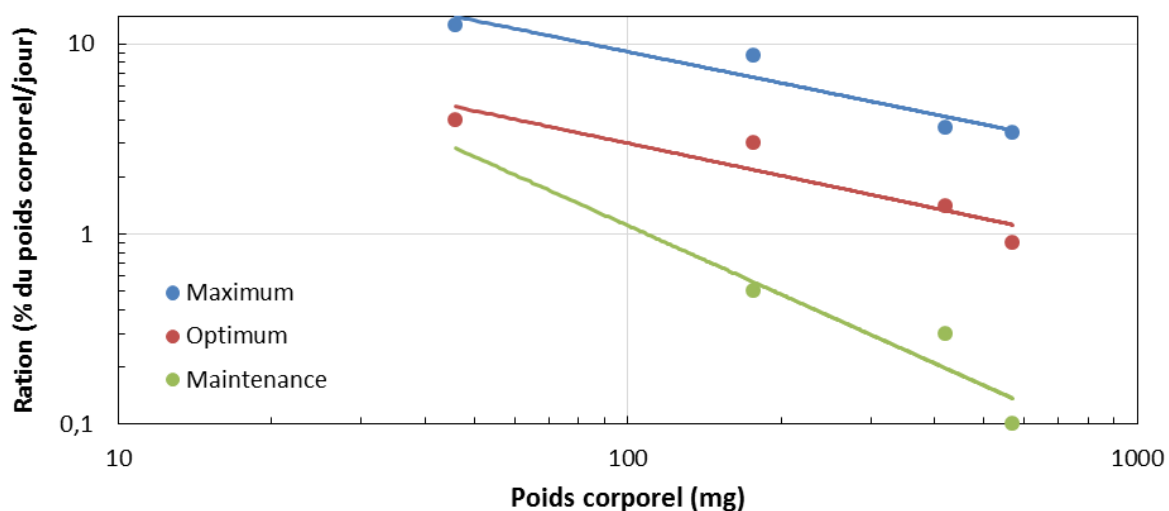
Tableau VII.18. Ration alimentaire journalière de maintenance, optimale et maximale (% du poids corporel/jour) de différentes tailles de hotus élevés à 23°C.

Poids corporel (mg)	Maintenance	Optimale	Maximale	Rations 2012
26	-	4	12,5	25
130	0,5	3	8,7	10
370	0,3	1,5	3,6	6,6
500	0,1	0,9	3,4	6

Les rations optimales et maximales déterminées au cours de cette étude sont largement inférieures aux rations distribuées aux hotus élevés au CEFRA en 2012 en condition d'élevage intensif conduit à 23°C et à faible densité, schéma qui se rapproche le plus des conditions d'élevage de cette étude.

La divergence entre ces résultats tient notamment à la différence d'infrastructures d'élevage utilisées pour les deux expériences (aquarium vs bassin) et les possibilités que les aquariums offrent pour observer le comportement alimentaire des larves et juvéniles et ajuster au mieux les rations en fonction de celui-ci. Elle souligne également l'intérêt de déterminer précisément les besoins alimentaires quantitatifs d'une espèce.

En établissant le graphique des rations journalières de maintenance, optimale et maximale distribuées en fonction du poids corporel (Figure VII.41), il est possible de définir les modèles de rationnement ci-dessous.

**Figure VII.41.** Relations entre le poids corporel et les niveaux de rationnement journalier chez le hotu (*Chondrostoma nasus*) élevé à une température de 23°C.

$$R_{\text{maint}} = 284,67P^{-1,205} \quad r^2 = 0,79 \quad p = 0,366$$

$$R_{\text{opt}} = 41,17P^{-0,568} \quad r^2 = 0,87 \quad p = 0,067$$

$$R_{\text{max}} = 113,65P^{-0,548} \quad r^2 = 0,92 \quad p = 0,041$$

Où R_{maint} , R_{opt} et R_{max} = rations journalières de maintenance, optimale et maximale (% du poids corporel/jour) et P = poids corporel (mg).

Par ailleurs, les taux de croissance spécifique peuvent être mis en relation avec le poids corporel (Figure VII.42) par les formules suivantes :

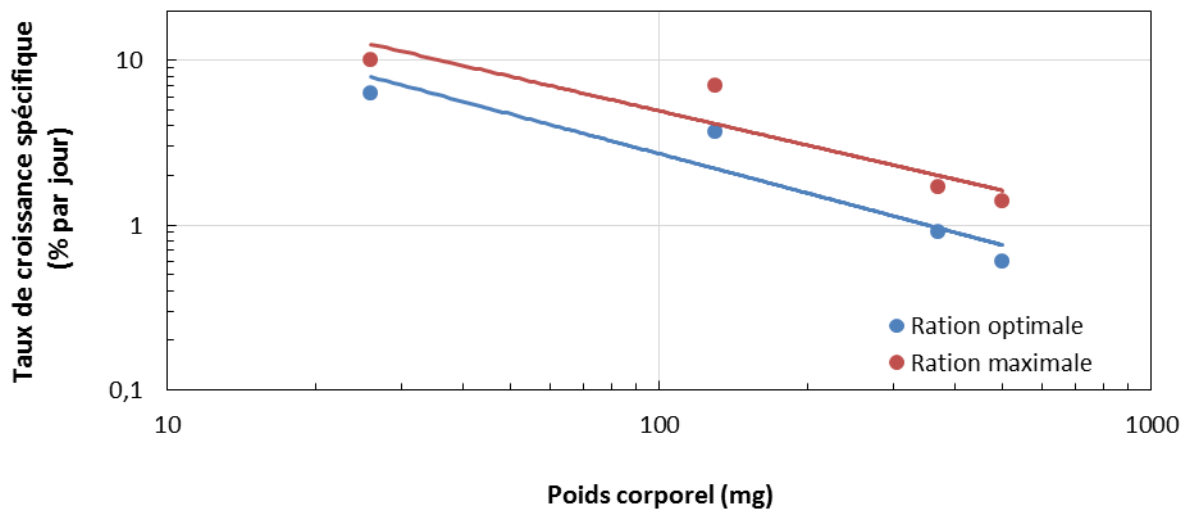


Figure VII.42. Relation entre les taux de croissance spécifique calculée pour les rations optimales et maximales et le poids corporel chez des larves et juvéniles de hotu élevés à 23°C.

Pour la ration maximale : $SGR = 119,52P^{-0,692} \quad r^2 = 0,87 \quad p = 0,082$

Pour la ration optimale : $SGR = 106,2P^{-0,796} \quad r^2 = 0,89 \quad p = 0,051$

Où SGR = taux de croissance spécifique et P = poids corporel (mg).

Les taux de conversion alimentaire ont été influencés par la ration alimentaire journalière dans toutes les phases d'élevage. La meilleure valeur moyenne de 0,7 a été obtenue pour la ration optimale distribuée au cours de la première phase d'élevage.

En comparant les meilleurs taux de conversion de chaque phase d'élevage (Figure VII.43), il apparaît que les meilleures valeurs ont été obtenues pour les phases d'élevage nourries avec du Gemma

VII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du hotu

Micro (première et deuxième phase d'élevage avec des valeurs comprises entre 0,7 et 0,8) suivies par la phase d'élevage nourrie avec du Crumble Vital (cinquième phase d'élevage avec une valeur de 1,5). Enfin, les plus hauts taux de conversion ont été obtenus pour les phases d'élevage nourries avec l'aliment Aquabio 00 (troisième et quatrième phase d'élevage avec des valeurs comprises entre 1,7 et 1,8). Ce dernier aliment a donc été le moins efficace en terme de conversion alimentaire.

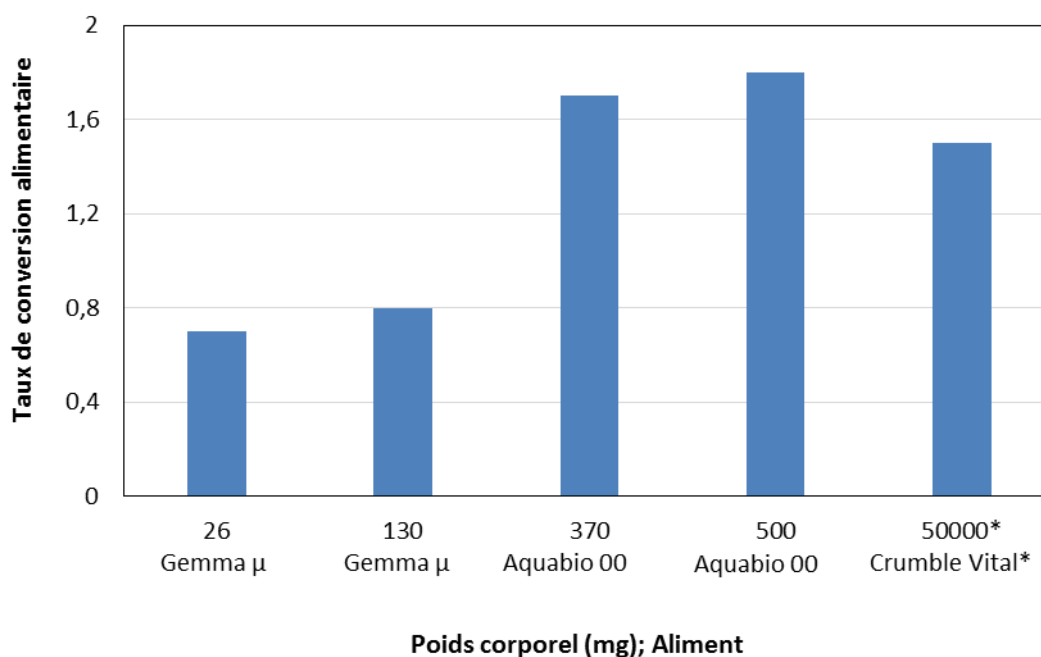


Figure VII.43. Taux de conversion alimentaire obtenus pour la ration optimale de chaque phase d'élevage [*taux de conversion alimentaire obtenu pour la ration optimale de la cinquième phase d'élevage (résultat présenté ci-dessous)].

5.3.4.6. Phase 5 : 50 à 67 g (360 à 406 jours post-résorption)

Pour cette cinquième phase d'élevage, conduite à 20°C durant 46 jours à partir de juvéniles de 50 g âgés d'un an, les rations de maintenance, optimale et maximale, étaient respectivement de 0,25 %, 0,74 % et 1,16 % (Figure VII.44). Les taux de survie étaient supérieurs à 98 % sans influence du taux de nourrissage sur la survie des différents lots (Tableau VII.19). Hormis les poids finaux correspondant aux rations 0,9 % et 1,3 %, tous les poids finaux des autres rations étaient significativement différents entre eux. Les taux de croissance spécifiques ont été influencés par les taux de nourrissage pour toutes les rations distribuées, l'augmentation de la ration ayant conduit à augmenter la vitesse de croissance jusqu'à un maximum correspondant à la ration maximale (1,16 %). Le meilleur taux de conversion (1,7) a été obtenu pour la ration distribuée de 0,9 % qui était la plus proche de la ration optimale (0,74 %).

VII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du hotu

Tableau VII.19. Poids moyens finaux et taux de survie enregistrés pour la quatrième phase d'élevage (des lettres différentes indiquent des différences significatives (ANOVA, $p < 0,05$)).

Ration (%)	0,2	0,6	0,9	1,3	1,7
Poids final (mg)	47 ^a	58 ^b	66 ^c	67 ^c	62 ^d
Survie (%)	98	98	98	98	98

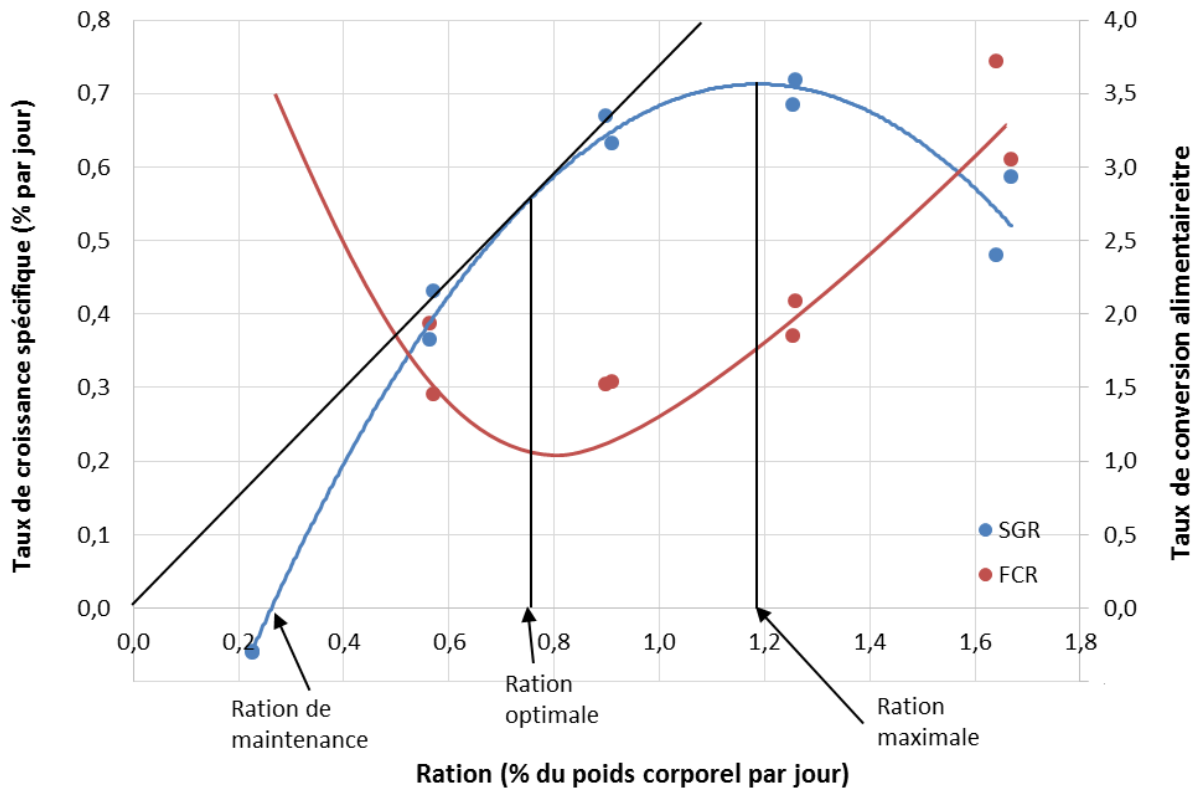


Figure VII.44. Effet de la ration alimentaire sur la croissance et le taux de conversion alimentaire de juvéniles de hotu âgés d'1 an.

La relation entre le taux de croissance spécifique (SGR) et la ration journalière (R) distribuée à des hotus (poids moyen initial = 50 g) s'établit comme suit :

$$\text{SGR} = -0,8317 R^2 + 1,9761 R - 0,461 \quad r^2 = 0,9844$$

5.4. Effet du confinement sur la croissance du hotu en système intensif

Le hotu est une espèce sensible au confinement en milieu d'élevage. Une première observation de ralentissement marqué de la croissance avait été faite lors d'une expérience visant à déterminer la ration alimentaire chez des juvéniles (voir VII.3.3.4.3). Au cours de cette expérience, un ralentissement net de la croissance avait été observé chez des juvéniles de 400 mg élevés en aquariums de 50 L (2 individus L⁻¹). Les taux de croissance avaient été clairement améliorés lorsque ces poissons avaient été transférés en aquariums de 250 L.

Ce premier constat nous a amené à tester l'hypothèse d'un effet du confinement sur la croissance du hotu chez des juvéniles de plus grande taille. Cette expérience a été menée en conditions intensives, en circuit recirculé, à une température de $21,5 \pm 0,2$ °C, durant 36 jours. Deux volumes d'élevage ont été testés en duplicat : 300 et 900 L. Les poissons avaient un poids moyen initial de $37,9 \pm 1,8$ g. La densité d'élevage était de 0,27 individu L⁻¹ (9,9 kg m⁻³). Les poissons étaient nourris à une ration journalière de 1,6 % avec de l'aliment commercial Carpco Excellent (Coppens, 36 % protéines, 7 % lipides). Les taux d'oxygène sont restés supérieurs à 7 mg L⁻¹ et les débits étaient ajustés dans chaque volume pour assurer un renouvellement d'eau identique dans les bassins.

Les taux de survie étaient supérieurs à 97,5 % dans tous les lots. Après 36 jours d'expérience, les poids moyens des poissons élevés dans un volume de 900 L étaient significativement (ANOVA, p =0,05) supérieurs à ceux des poissons élevés dans un volume de 300 L (Figure VII.45). Les taux spécifiques de croissance dans les bassins de 300 et 900 L étaient respectivement 0,8 et 1,1 % j⁻¹, et les taux de conversion alimentaire 2,2 et 1,3, confirmant les meilleures performances zootechniques des poissons élevés dans les plus grands volumes.

VII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du hotu

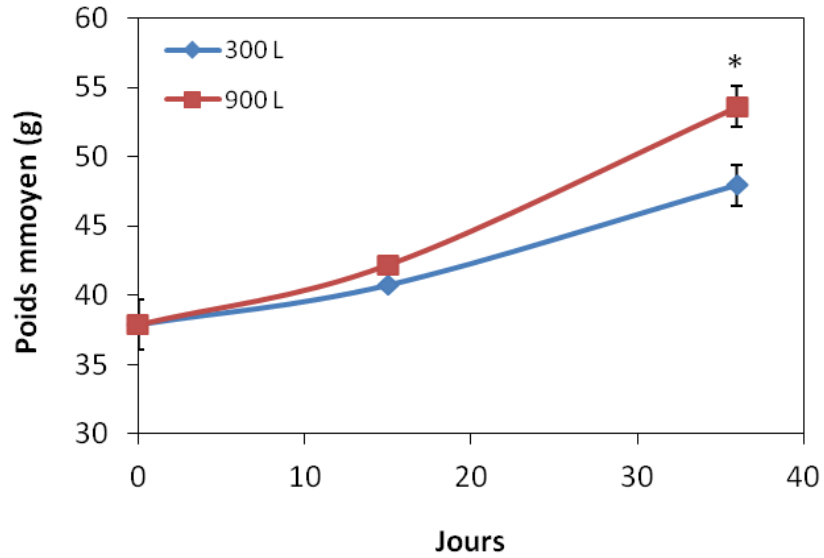


Figure VII.45. Courbes de croissance de hotus juvéniles élevés pendant 36 jours dans des volumes de 300 L et 900 L (moyenne \pm erreur-type).

Ces résultats confirment l'effet négatif du confinement sur la croissance du hotu en conditions d'élevage intensives et soulignent l'importance de ne pas trop restreindre l'espace vital chez cette espèce.

5.5. Effet de la qualité de l'aliment sur la croissance et la structure hépatique du hotu en système intensif

Le hotu est le seul représentant de l'ichtyofaune européenne à posséder un régime alimentaire herbivore périlithophage. Ce régime alimentaire particulier pourrait être à l'origine d'exigences nutritionnelles spécifiques qui pourraient ne pas être toujours comblées par les aliments artificiels disponibles dans le commerce et formulés pour des espèces carnivores ou omnivores pour lesquelles les balances protéiques et lipidiques sont généralement plus riches.

Une formulation alimentaire inadaptée peut conduire à des dérèglements métaboliques, notamment hépatiques et immunologiques, pouvant altérer la croissance ou la santé et la susceptibilité des poissons aux agents pathogènes. Lors des premiers essais d'élevage de hotus en système intensif, une sensibilité particulière des juvéniles à des pathologies causées par des bactéries du genre *Flavobacterium* avait été observée. Outre des lésions cutanées et musculaires externes, l'examen post-mortem des individus touchés par cette pathologie avait révélé une importante stéatose hépatique.

Ce type de problème d'origine nutritionnelle nous a conduits à tester, chez le hotu, différents types d'aliments disponibles dans le commerce afin d'évaluer l'impact que leur composition pouvait avoir sur la croissance et la qualité du foie. Cette expérience a été menée en conditions intensives, en circuit recirculé, à une température de $22,5 \pm 0,6$ °C, durant 58 jours. Six lots de 150 poissons (poids moyen : $22,7 \pm 0,8$ g) ont été constitués et placés en bassins de 300 L. Trois aliments commerciaux (granulométrie 1,5 mm) présentant des taux de lipides et de protéines différents (Tableau VII.20) ont été testés en répliques :

- Carpco excellent (Coppens) : aliment coulant pour cyprinidés (plus spécifiquement pour carpes ; 36 % protéines, 7 % lipides) ;
- Crumble vital (Coppens) : aliment coulant généraliste pour poissons d'eau douce (46 % protéines, 10 % lipides) ;
- Aquabio : granulés pour alevins (50 % protéines, 20 % lipides), aliment coulant généraliste pour poissons d'eau douce.

Tableau VII.20. Caractéristiques des aliments commerciaux distribués aux juvéniles de hotu.

Analyse	Carpco excellent	Crumble vital	Aquabio
Protéines (%)	36	46	50
Lipides (%)	7	10	20
Fibres (%)	1,7	1,4	0,4
Cendres (%)	7,0	8,1	7,6
Phosphore total (%)	1,1	1,3	1,2
Vitamine A (UI kg ⁻¹)	10000	13720	15000
Vitamine D3 (UI kg ⁻¹)	300	2200	2000
Vitamine E (mg kg ⁻¹)	200	274	200
Vitamine C (mg kg ⁻¹)	150	294	200

Avant le début de l'expérience, les poissons recevaient l'aliment Aquabio. Durant la période expérimentale, les poissons étaient nourris à une ration journalière de 1,5 %. Les taux d'oxygène sont restés supérieurs à 7 mg L⁻¹ et les débits étaient ajustés pour assurer un renouvellement d'eau (18 L min⁻¹) identique dans les bassins.

En fin d'expérience, les taux de survie étaient supérieurs à 94 % (Tableau VII.21). Les mortalités observées n'étaient pas liées aux conditions expérimentales mais causées par l'échappement de poissons hors des bassins. Les meilleures performances de croissance et de conversion alimentaire ont été observées avec le Crumble vital (SGR = 0,86 % j⁻¹; FCR = 2,1). Les poissons nourris avec l'aliment le moins riche (Carpco excellent) et le plus riche (Aquabio) ont montré des SGR plus faibles (respectivement 0,53 et 0,67 % j⁻¹) et des FCR plus élevés (respectivement 3,3 et 2,5). En fin d'expérience, les poids moyens des poissons nourris avec ces deux aliments n'étaient pas significativement différents entre eux mais significativement (ANOVA, $p \leq 0,05$) plus faibles que ceux des poissons nourris au Crumble vital (Figure VII.46).

Tableau VII.21. Taux de survie, taux spécifique de croissance (SGR) et taux de conversion alimentaire (FCR) des juvéniles de hotu nourris avec 3 aliments différents.

	Carpco excellent	Crumble vital	Aquabio
Taux de survie (%)	94	97	98
SGR (% j ⁻¹)	0,53	0,86	0,67
FCR	3,3	2,1	2,5

VII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du hotu

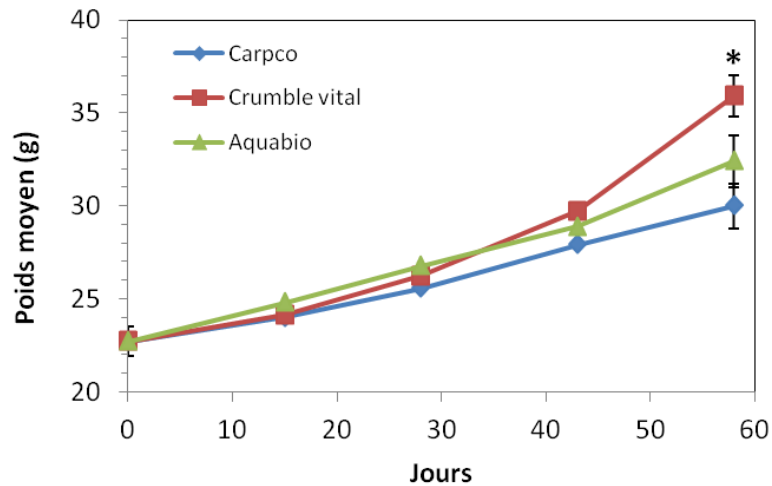


Figure VII.46. Courbes de croissance (poids moyens \pm erreur-type) de hotus juvéniles nourris pendant 58 jours avec trois aliments commerciaux différents : Carpco excellent (Coppens), Crumble vital (Coppens), Aquabio.

En fin d'expérience, 6 individus de chaque lot ont été sacrifiés et leur foie prélevé afin d'en étudier la structure par histologie. D'importants dépôts lipidiques ont été observés dans les foies des individus prélevés. Cette accumulation graisseuse se traduit par la présence de vacuoles lipidiques dans les hépatocytes, bien visible en histologie (Figure VII.47). Celles-ci sont visibles dans les foies des poissons nourris au Carpco excellent, mais leur nombre et leur taille augmentent avec la richesse lipidique de l'aliment distribué, c'est-à-dire avec le Crumble vital et l'aliment Aquabio. Cette tendance conduit, chez les individus nourris avec l'aliment le plus riche, à une stéatose hépatique. Les dépôts lipidiques occupent alors la majeure partie du cytoplasme des hépatocytes, pouvant conduire à une dégénérescence cellulaire, et donc à une grave altération des fonctions hépatiques.

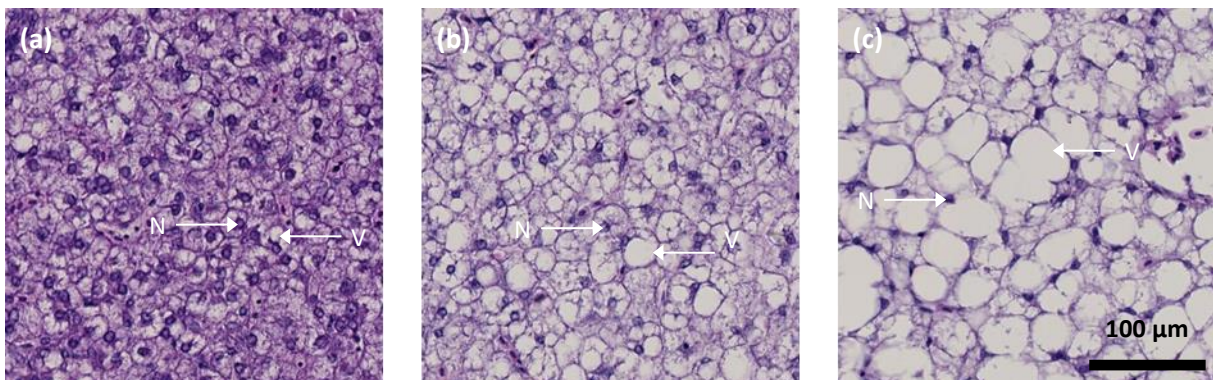


Figure VII.47. Coupes histologiques des foies de hotus nourris durant 58 jours avec (a) du Carpco excellent (36 % protéines, 7 % lipides), (b) du Crumble vital (46 % protéines, 10 % lipides) et (c) de l'aliment pour alevins Aquabio (50 % protéines, 20 % lipides) : détails des hépatocytes (N : noyau, V : vacuole lipidique).

VII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du hotu

Il faut noter que, les poissons étant tous nourris avec de l'aliment Aquabio avant le début de l'expérience, on peut conclure qu'une alimentation moins riche en lipides durant la période expérimentale a conduit à une amélioration de la structure hépatique avec une diminution de la dégénérescence graisseuse observée. Cette amélioration s'est ensuite poursuivie puisque des poissons nourris pendant quatre mois supplémentaires avec l'aliment Carpco excellent ont montré un retour à une structure hépatique saine (Figure VII.48).

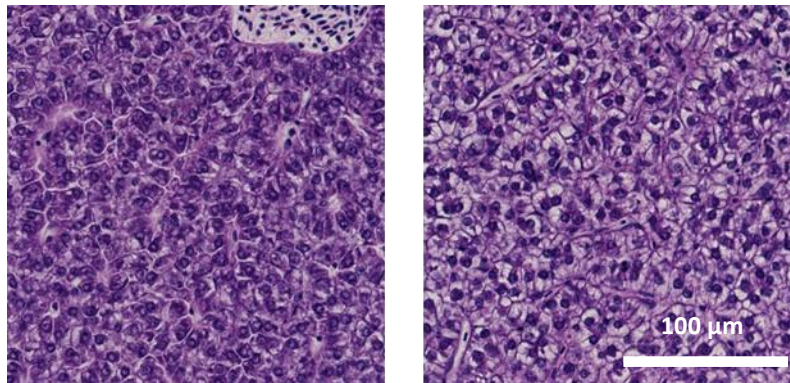


Figure VII.48. Coupes histologiques des foies de deux individus nourris durant une période prolongée (6 mois) avec de l'aliment Carpco excellent (36 % protéines, 7 % lipides).

En conclusion, bien que des taux de croissance plus élevés aient été obtenus chez les juvéniles de hotu nourris avec un aliment contenant 46 % de protéines et 10 % de lipides (Crumble vital) par rapport à des aliments plus riches ou plus pauvres, une alimentation dont les taux de lipides sont inférieurs à 10 % devra être privilégiée afin de garantir un bon état sanitaire des poissons.

VIII. MISE AU POINT ET AMÉLIORATION DES TECHNIQUES D'ÉLEVAGE DU BARBEAU

Ce chapitre présente les résultats des expériences menées dans le cadre du projet visant à maîtriser l'ensemble des étapes du cycle de production du barbeau. La compilation de l'ensemble de ces résultats, complétée par les données disponibles dans la littérature, fait l'objet d'un document technique consacré à l'élevage du barbeau.

1. MATURATION SEXUELLE, REPRODUCTION ET INCUBATION

1.1. Reproduction de géniteurs sauvages

Le 22 mai 2012, 3 femelles (3 à 4,8 kg) et 1 mâle spermiant ont été capturés dans l'échelle à poissons des Grosses Battes sur l'Ourthe. Comme les hotus, ces poissons ont été stockés au Cefra après injection d'Ovaprim à 0,5 ml/kg. Les contrôles de l'état de maturité étaient réalisés au moins 2 fois par jour. Deux pontes (environ 4000 et 6000 œufs) ont été obtenues après 50 h à une température moyenne de $16,7 \pm 0,8$ °C. Au moment de la récolte des œufs, la maturité sexuelle du mâle capturé avait régressé et il n'était plus spermiant. La fécondation a été effectuée avec la laitance de 5 mâles captifs âgés de 2 ans et originaire de l'Ourthe. La fécondation et l'incubation ont été réalisées dans des conditions semblables à celles décrites pour le hotu (voir VII.1.1). Trois autres femelles (3 à 4,8 kg) ont été capturées au même endroit le 25 mai 2012. Celles-ci ont été injectées avec une dose plus élevée d'Ovaprim (0,75 ml/kg). Cependant, une seule femelle a pondu (environ 10000 œufs) 48 h post-injection à $18,3 \pm 0,7$ °C. La ponte a été fécondée avec la laitance de 3 mâles captifs. Les pontes ont été incubées en bouteilles de Zoug à 17 °C.

Les 3 pontes incubées ont produits environ 17000 larves qui ont pu être utilisées dans les essais d'élevage larvaire et de grossissement.

1.2. Production contrôlée du barbeau : reproduction de géniteurs F1 et incubation d'individus F2

Dans la nature, le barbeau atteint la maturité sexuelle à l'âge de 6-7 ans. La ponte est synchrone et se déroule aux mois de mai-juin (Poncin & Philippart, 2002). Les conditions de captivité induisent des changements importants de la biologie reproductive chez cette espèce.

En conditions d'élevage, à une température constante de 20 °C et sous photopériode naturelle, la maturité sexuelle est atteinte dès l'âge de 2 ans. La période de reproduction est fortement avancée dans l'année et s'étale sur une plus longue période (de février à août). De plus, la stratégie de reproduction change et le barbeau devient pondeur multiple, produisant une moyenne de 4 pontes par femelle et par saison (intervalle de pontes moyen : 18 jours) (Poncin, 1988).

Afin d'optimiser la production de larves de barbeau, nous avons confirmé ces résultats en testant les conditions de maintien et de contrôle des géniteurs captifs, et en suivant la dynamique de ponte d'un lot de géniteurs au cours d'une saison. Cette étude a permis d'estimer la production potentielle d'un stock de géniteurs captifs, et de vérifier la qualité des œufs et des larves produits en F2.

1.2.1. Suivi de l'état de maturité et contrôle de la reproduction de géniteurs captifs

1.2.1.1. Maintien des géniteurs

Les géniteurs (F1) utilisés dans cette étude ont été produits en mai 2010 à partir d'un mâle et d'une femelle (F0) capturés dans l'échelle à poissons des Grosses Battes sur l'Ourthe. Ces poissons, âgés de 3 ans au moment de l'expérience, étaient maintenus en circuit fermé dans 3 bassins à des densités et des niveaux de confinement différents (Tableau VIII.1), et nourris à satiété avec de l'aliment pour truite (Joosen-Luyckx : 44 % de protéines et 22% de lipides brutes).

En période de reproduction, les mâles sont tous spermiantes et donc facilement distinguables des femelles, qui ont généralement l'abdomen plus dilaté.

Pendant toute la période de suivi, la température de l'eau était comprise entre 22 et 23°C. Les poissons étaient soumis à la photopériode naturelle mais un éclairage d'appoint était réglé sur une photopériode constante de 16 L : 8 D.

Tableau VIII.1. Volumes des bassins, densités de stockage et poids des géniteurs.

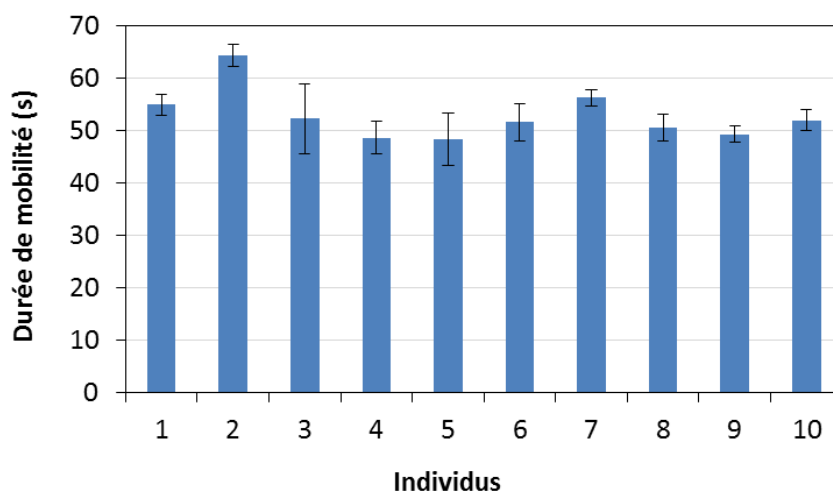
Bassin	1	2	3
Volume (m ³)/surface (m ²)	1,6/4	1,6/4	1/1,5
Nombre d'individus	94	98	30
Sexe ratio (n ♂ / n ♀)	46/48	48/50	15/15
Poids ♂ (g)	178 ± 63		
Poids ♀ (g)	391 ± 117		

1.2.1.2. Durée de mobilité des spermatozoïdes

Afin d'adapter au mieux la technique de reproduction artificielle, la durée de mobilité des spermatozoïdes a été évaluée chez 10 géniteurs mâles. Après anesthésie, les mâles ont été strippés pour récolter la laitance. L'inactivité des spermatozoïdes était vérifiée au microscope avant l'ajout d'eau.

L'activation était faite dans des tubes Eppendorf avec de l'eau distillée dans laquelle le sperme était dilué 100 x (10 μ l de sperme dans 990 ml d'eau). Dès le contact du sperme avec de l'eau, la solution était homogénéisée et le chronomètre était déclenché. Une goutte de la solution diluée était mise sur lame puis observée sous microscope optique jusqu'à l'arrêt total du mouvement des spermatozoïdes. La mesure a été répétée trois fois sur chaque individu.

La durée de mobilité de spermatozoïdes calculée sur 10 mâles choisis aléatoirement (Figure VIII.1) était de 53 ± 5 s.

**Figure VIII.1.** Durée de mobilité des spermatozoïdes mesurée chez 10 individus de barbeau.

1.2.1.3. *Contrôle de maturité des femelles et obtention de pontes*

Les femelles de barbeau atteignent la maturité reproductive en captivité à l'âge de 2-3 ans mais n'émettent spontanément leurs œufs qu'en présence d'un substrat (Poncin, 1984). Ceci constitue un obstacle majeur pour obtenir une reproduction naturelle en captivité. Dans le cadre de cette étude, les œufs ont été obtenus par expulsion manuelle (stripping), puis fécondés artificiellement par la méthode sèche (Poncin, 1988).

En vue d'estimer le nombre d'œufs obtenus par ponte, un échantillon de 100 œufs et le poids total de la ponte étaient pesés juste après la fécondation.

L'état de maturité des géniteurs a été suivi pendant 6 mois entre février et août 2013, selon les méthodes décrites par Poncin (1988). Lors de chaque contrôle, les femelles matures prêtes à pondre étaient mises à l'écart puis anesthésiées dans une solution de benzocaïne (25 mg/l) pour la reproduction. Au même moment, 3 mâles spermiantes étaient sélectionnés pour la fécondation. Les femelles émettant des œufs surmatures, donc en dégénérescence et plus fécondables étaient strippées pour éliminer tous ces œufs et leur permettre d'entamer un nouveau cycle de maturation. Les contrôles étaient réalisés 2 fois par semaine en début de saison et 3 fois par semaine à partir de début mai.

Au total, 302 pontes ont été dénombrées durant la période d'étude. Parmi celles-ci 260, soit 86 % étaient surmatures (Figure VIII.2.A) et 42 pontes, soit 14 % étaient de bonne qualité et fécondables (Figure VIII.2.B). L'évolution du nombre de pontes récoltées pendant la période de suivi des géniteurs est présentée à la Figure VIII.3.

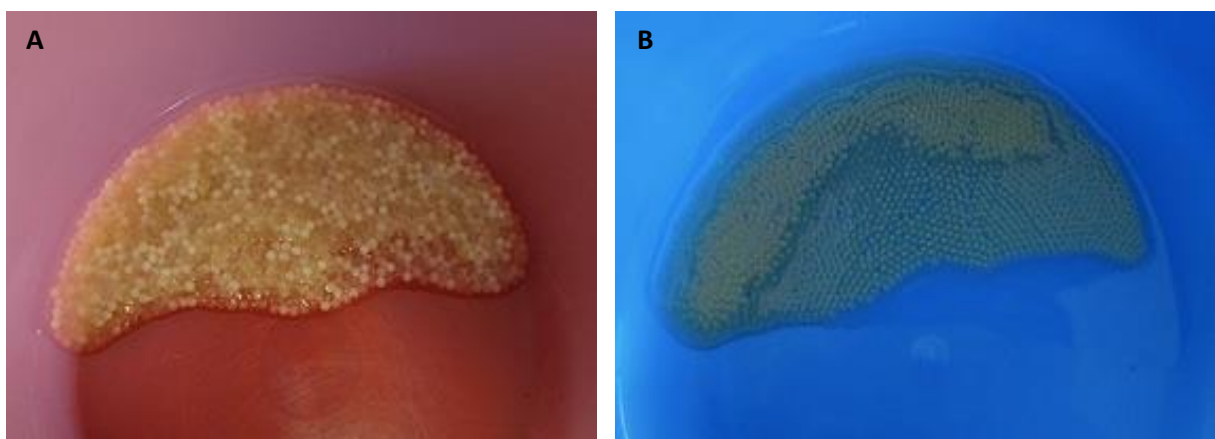


Figure VIII.2. Ponte surmature (A) et fécondable (B) chez le barbeau.

VIII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du barbeau

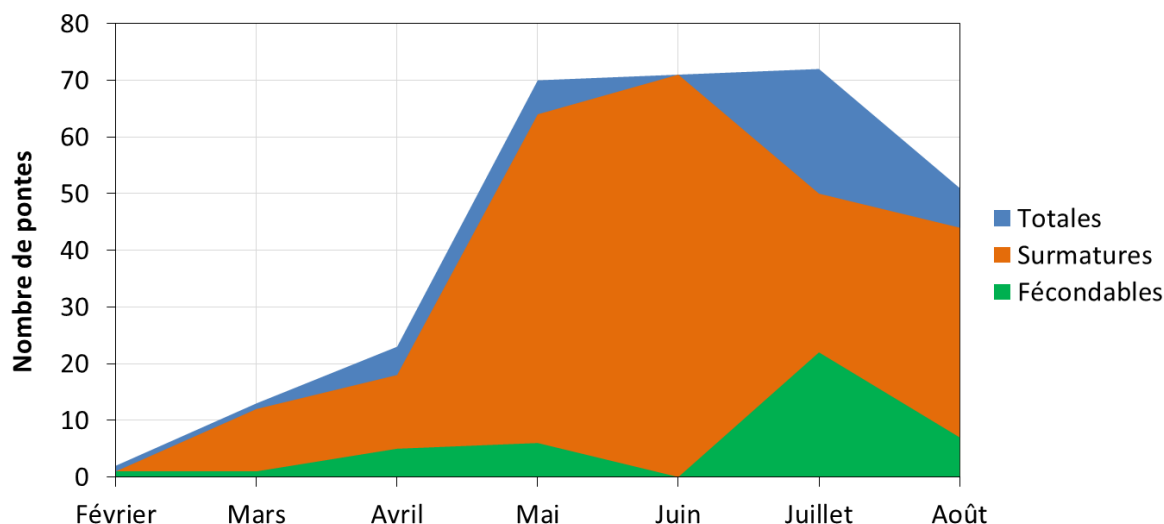


Figure VIII.3. Evolution du nombre de pontes pendant la période de suivi des géniteurs.

La proportion de bonnes pontes est restée inférieure à 50 % durant toute la période de suivi. Pour les mois de mars et juin, les bonnes pontes ont représenté moins de 10 % de l'ensemble des pontes. Une augmentation nette du nombre de pontes de bonne qualité a été observée au début du mois de juillet.

Les résultats de production d'œufs (pontes totales) obtenus chez nos barbeaux F1 sont semblables à ceux d'autres études (Tableau VIII.2), rapportant une maturité sexuelle à 2-3 ans et une période reproductive s'étalant de février à août (en photopériode naturelle). Durant cette période, les mâles sont tous spermiantes et les femelles produisent en moyenne de 2 à 4 pontes.

Tableau VIII. 2. Comparaison des résultats relatifs à la maturité sexuelle des géniteurs de barbeaux captifs.

Milieu d'élevage	Température/ photopériode	Age des poissons (mois)	Taille des poissons (cm)	Nombre moyen de pontes par femelle	Période d'étude	Référence
Eau réchauffée Circuit semi-fermé	17,1 à 23,2°C, photopériode naturelle (8 à 16,5L)	22 à 25	23 à 34	4	Février à août	Poncin (1988)
Circuit fermé	21 ± 1°C photopériode constante (d'abord 14L:10D puis 16L:8D)	32	23,5 ± 2,5	2,6	Mars à mai	Polcar et al. (2011)
Circuit fermé	22 à 23°C photopériode naturelle avec éclairage d'appoint constant (16L:8D)	32	29,1 ± 2,3	2,2	Février à août	Cette étude

Par contre, un des résultats les plus frappants de notre étude est la proportion élevée de pontes surmatures récoltées durant toute la période de suivi des géniteurs. En réalisant des contrôles hebdomadaires de leurs géniteurs (à 21 °C), Policar et al. (2010) avaient également rapporté une proportion de pontes surmatures allant de 38 à 57 %. Cette faible qualité des pontes récoltées pourraient être principalement attribuée à la température de maintien des géniteurs. Poncin (1988), travaillant à une température moyenne de 20 °C, et à autres conditions semblables (fréquence des contrôles, alimentation, densité) n'avait pas signalé ce problème de qualité des œufs. Au cours de notre expérience, la température a été diminuée de 22-23 °C à 20 °C début juin, entraînant une augmentation de la proportion de pontes fécondables de 0 à 30 % entre juin et juillet.

1.2.2. Suivi de la qualité des pontes

Lors du contrôle de la maturité de femelles, les œufs présentant un bon aspect extérieur étaient fécondés en vue d'évaluer leur qualité et celle des larves en développement.

La fécondité absolue et relative, le taux de fécondation, le taux d'éclosion, le taux de malformation et le taux de survie à la fin de la résorption des réserves vitellines ont été évalués sur 21 pontes. Deux températures d'incubation ont été testées : 17 et 23 °C.

1.2.2.1. Fécondité et fécondation

Après la fécondation, un échantillon de 100 œufs et la totalité de la ponte étaient pesés afin d'estimer la fécondité. Les 21 femelles reproduites avaient une taille moyenne et un poids moyen de $29,1 \pm 2,3$ cm et 373 ± 74 g respectivement ; les fécondités absolue et relative étaient de 2629 ± 1290 œufs / ponte et 7083 ± 3531 œufs / kg femelle. Le poids moyen d'un œuf était de $9,2 \pm 1,1$ mg (Tableau VIII.3).

Tableau VIII.3. Caractéristiques des femelles reproductrices et des pontes fécondées (n = 21) pour l'évaluation de la qualité des pontes produites en captivité.

	Longueur femelles (cm)	Poids femelles (g)	Poids relatif pontes (% poids femelle)	Fécondité absolue (œufs/ponte)	Fécondité relative (œufs/kg femelle)	Poids œuf (mg)
Max	32,7	508	15,3	5117	17057	11
Min	25,2	250	1,4	678	2187	7,3
Moy	$29,1 \pm 2,3$	373 ± 74	$6,5 \pm 3,4$	2629 ± 1290	7083 ± 3531	$9,2 \pm 1,1$

La régression entre le nombre d'œufs / ponte et le poids des femelles n'a révélé aucune relation significative entre ces deux paramètres dans la gamme de poids étudiée (Figure VIII.4).

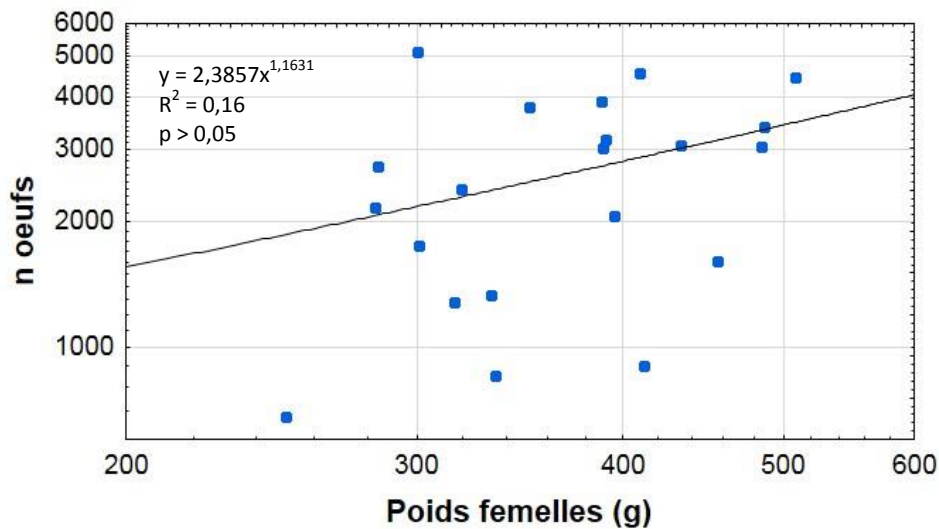


Figure VIII.4. Relation entre le nombre d'œufs produits (fécondité absolue) et le poids des femelles.

Policar et al. (2011) ont rapporté des fécondités absolue et relative respectives de 2155 ± 925 œufs / ponte et 16483 ± 4380 œufs / kg femelle en travaillant avec des femelles de poids moyen de $100,3 \pm 33,1$ g. Ces données soutiennent l'absence de relation observée entre la fécondité absolue et le poids des géniteurs pour des poissons dont le poids est inférieur à 500 g.

Pourtant, en travaillant sur un grand nombre d'individus dans une gamme de taille comprise entre 25 et 60 cm (environ 200 à 2000 g), Poncin (1988) avait pu établir une relation logarithmique entre la fécondité et la taille des femelles : $\text{Log } F_a = -3,39 + 2,76 \text{ Log } L$ (où F_a : fécondité absolue ; L : longueur corporelle à la fourche).

Le taux de fécondation moyen des pontes récoltées était de $79,1 \pm 24,7$ % (Figure VIII.5). Parmi les 21 pontes fécondées, 18 étaient caractérisées par des taux de fécondation supérieurs à 70 %. La ponte 10 a présenté un taux de fécondation de 55 % et les pontes 8 et 9 ont des taux de fécondation respectifs de 22 et 5 %. Ces valeurs plus faibles sont probablement dues à des contaminations de la laitance par de l'urine ou de l'eau lors du prélèvement entraînant une activation partielle de celle-ci avant tout contact avec les œufs.

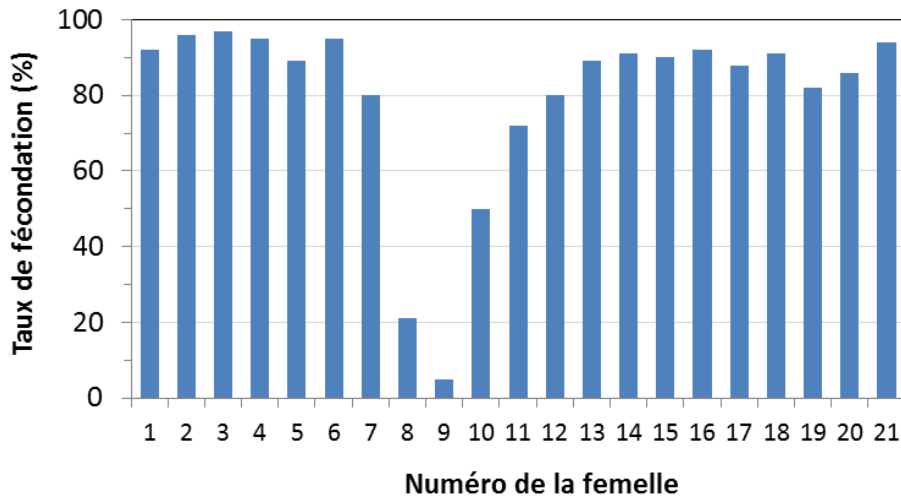


Figure VIII.5. Taux de fécondation obtenus pour les 21 pontes de barbeau fécondées.

1.2.2.2. Qualité des œufs et des larves durant l'incubation à 17 et 23 °C

Après fécondation et estimation de la fécondité, chaque ponte fécondée était divisée en deux parties égales puis incubée en bouteilles de Zoug. Un lot était incubé à 17°C et l'autre à 23°C. Signalons cependant que toutes les pontes destinées à l'élevage larvaire étaient incubées seulement à 17°C afin d'obtenir un nombre suffisant de larves au même stade de développement.

La température de l'eau dans les deux écloséries durant l'incubation était de $17,0 \pm 0,5$ °C et $23,0 \pm 0,8$ °C, le taux d'oxygène dissout était de $8,8 \pm 0,2$ mg/l, les taux d'ammonium (NH_4^+) et de nitrites (NO_2^-) étaient respectivement de $0,23 \pm 0,07$ mg/l et de $0,06 \pm 0,05$ mg/l.

Une fois l'éclosion terminée (4 et 7 jours post-fécondation respectivement à 23 et 17°C), les larves étaient dénombrées afin d'évaluer le taux d'éclosion. Le taux de malformation était évalué sur 100 larves anesthésiées puis observées sous binoculaire.

Les larves écloses étaient maintenues dans les paniers, en éclosérie, jusqu'à la fin de la résorption vitelline. A la fin de la résorption vitelline, soit 8 et 14 jours post-fécondation respectivement à 23 et 17 °C, les larves étaient à nouveau dénombrées pour estimer le taux de survie.

Les taux d'éclosion maximal et minimal étaient de 97 % et 2 % à 17°C (moyenne = 60 ± 25 %) ; 80 % et 22 % à 23°C (moyenne = 58 ± 27 %) (Figure VIII.6). Aucune différence significative de taux d'éclosion n'a été mise en évidence entre les deux températures testées (Chi^2 , $p > 0,05$).

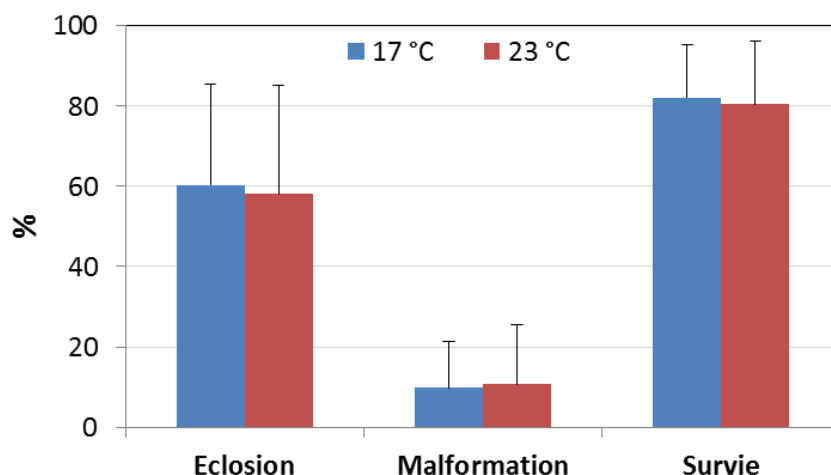


Figure VIII.6. Taux d'éclosion des œufs, taux de malformation des larves à l'éclosion et taux de survie à la fin de la période de résorption vitelline à 17 et 23°C chez le barbeau en F2.

Les taux moyens de malformation estimés à l'éclosion étaient de $10 \pm 12 \%$ et $11 \pm 15 \%$ respectivement à 17 et 23°C, et n'étaient pas significativement différents (Chi^2 , $p > 0,05$). Les principales malformations observées chez les larves jusqu'à la résorption du sac vitellin étaient des déformations de la colonne vertébrale : scolioses, lordoses et cyphoses ; ainsi que des déformations de la tête, du cœur et du péricarde (Figure VIII.7).

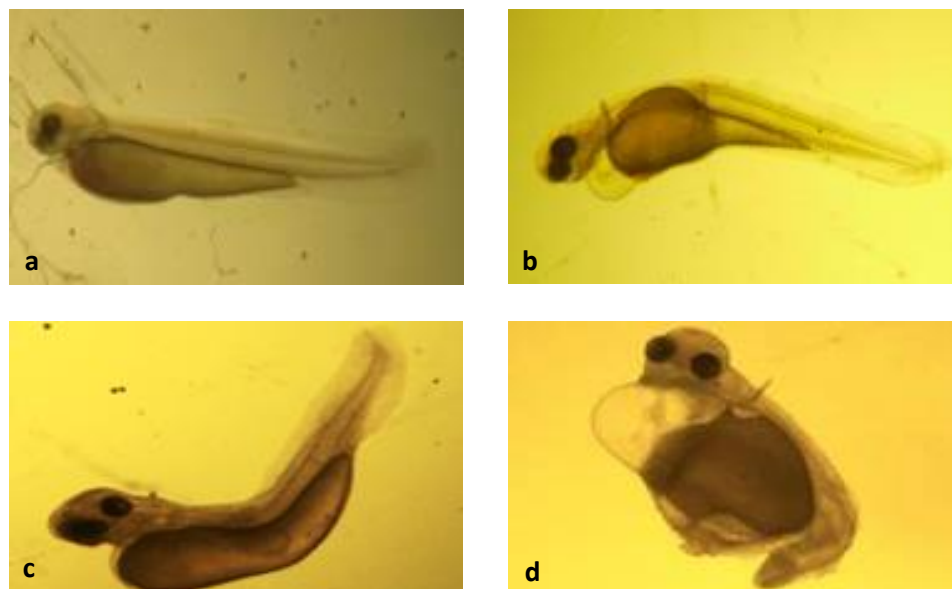


Figure VIII.7. Exemples de malformations observées chez les larves de barbeau à l'éclosion. (a) larve normale, (b) scoliose + déformation péricardique, (c) lordose et (d) cyphose + déformation cardiaque et péricardique.

Les taux de survie moyens évalués à la fin de la période de résorption du sac vitellin étaient proches de 80 % et ne différaient pas entre les deux températures d'incubation (Chi^2 , $p > 0,05$).

2. ELEVAGE LARVAIRE

2.1. Evaluation des performances zootechniques des larves F1 de barbeau à différents niveaux d'intensification des conditions d'élevage

2.1.1. 1^{ère} expérience

2.1.1.1. Conditions d'élevage et schémas expérimentaux

Cette expérience avait pour objectif de tester différents aliments et schémas de sevrage alimentaire chez des larves de barbeaux. Les larves ont été produites à partir de géniteurs sauvages pêchés dans l'Ourthe (Grosses Battes) en 2012.

L'élevage a duré 42 jours en conditions semi-intensives (mésocosme) en circuit ouvert ou en circuit fermé en conditions intensives (Tableau VIII.4). Les conditions d'élevage étaient semblables à celles décrites pour l'élevage larvaire du hotu (voir VII.2.1.1). Un seul mésocosme (5 m³) a été utilisé en élevage semi-intensif. Les 4 schémas alimentaires intensifs ont été testés dans des bassins de 100 L en répliques.

Tableau VIII.4. Conditions d'élevage intensives et semi-intensives appliquées à l'élevage larvaire du barbeau.

	Intensif	Semi-intensif
Type circuit	Fermé	Ouvert
Volume bassin	0,1 m ³	5 m ³
Nombre de bassins	8	1
Fertilisation	Non	Oui (<i>mésocosme</i>)
Type aliment	Aliment sec et/ou <i>Artemia</i>	Plancton, <i>Artemia</i> et aliment sec
Densité	8 larves.L ⁻¹	1 larves.L ⁻¹
Température	23 °C	22 °C

Les schémas alimentaires sont semblables aux SI, et I1 à I4 testés sur les hotus (voir VII.2.1.2). Dans le cas du barbeau, la transition d'un aliment vivant vers un aliment sec survient plus tôt en conditions semi-intensives car la température, et donc la vitesse de développement, était plus élevée que durant l'élevage larvaire du hotu. Autre différence : les aliments Nutra HP 0.3 et Aquabio 00, ainsi que le Lucky Star dans les schémas avec co-feeding, ont été remplacés par du Carpco (Coppens) (Tableau VII.7, p 100).

Les 5 schémas alimentaires testés sont décrits à la Figure VIII.8.

VIII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du barbeau

Comme pour l'élevage larvaire du hotu, un suivi qualitatif et quantitatif des communautés zooplanctoniques a été réalisé en mésocosme mais les résultats ne sont pas présentés ici. Les contrôles de croissance et de survie ont été effectués tous les 6 jours sur 30 individus. Le contrôle final comporte des données sur 100 individus.

Les mesures et paramètres zootechniques calculés sont les mêmes que ceux décrits plus hauts pour l'élevage larvaire du hotu (voir VII.2.1.3) : FCR, SGR, Cv du poids, taux de survie et taux de malformation.

Jours de nourrissage												Schéma
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11 à 30	31 à 43	
Zooplancton + Artemia							co-feeding Artemia + Carpco			Carpco		SI
Artemia							co-feeding Artemia + Carpco			Carpco		I1
Artemia		co-feeding Artemia + Carpco			Carpco							I2
Gemma-μ										Carpco		I3
Lucky Star										Carpco		I4

Figure VIII.8. Elevage larvaire du barbeau : schémas expérimentaux semi-intensif (SI) et intensifs (I1 à I4).

2.1.1.2. Résultats

En élevage semi-intensif, la température moyenne au cours des 42 jours d'expérience était de $22,0 \pm 1,8$ °C, les valeurs moyennes de $[O_2]$, $[NH_4^+]$ et $[NO_2^-]$ étaient respectivement de $8,3 \pm 0,5$ mg/L, $0,57 \pm 0,32$ mg/L et $0,28 \pm 0,20$ mg/L. En circuit fermé, la température moyenne était de $22,6 \pm 1,0$ °C la concentration moyenne minimale en O_2 de $7,9 \pm 0,4$ mg/L et les valeurs moyennes de $[NH_4^+]$ et $[NO_2^-]$ de $0,39 \pm 0,21$ mg/L et $0,05 \pm 0,04$ mg/L respectivement.

Les paramètres de croissance, survie et malformation mesurés après 42 jours de nourrissage sont synthétisés dans le Tableau VIII.5. L'évolution du poids moyen est représentée à la Figure VIII.9.

VIII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du barbeau

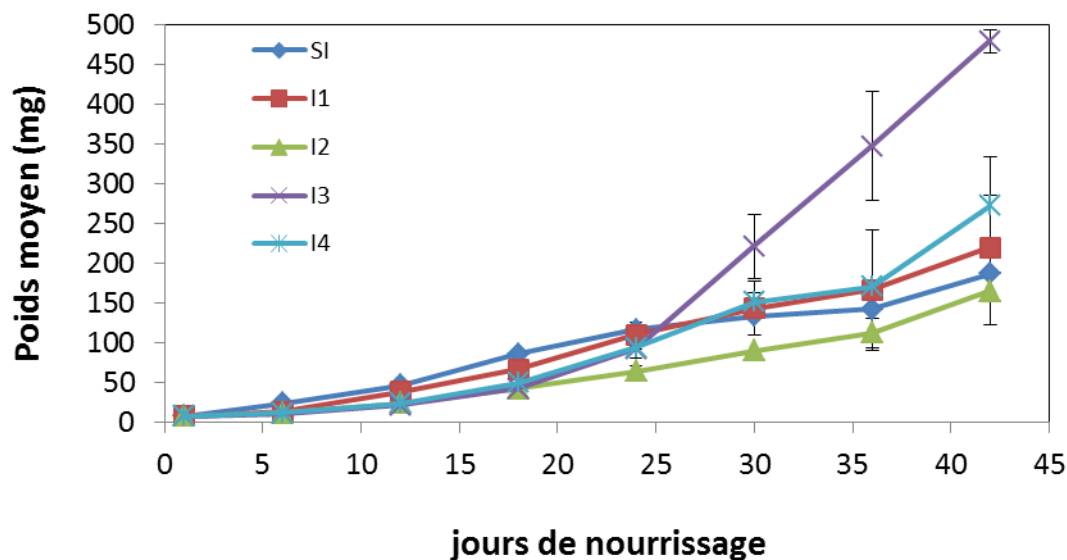


Figure VIII.9. Evolution du poids moyen des larves de barbeau élevées en conditions semi-intensives (SI) et intensives suivant 4 schémas alimentaires différents (I1 à I4).

Tableau VIII.5. Paramètres de croissance, survie et malformation mesurés dans les différentes conditions d'élevage larvaire du barbeau.

	Semi-intensif	Intensif							
	SI	I1		I2		I3		I4	
	Lot 1	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2
Pm_i (mg)	8,3	8,3	8,3	8,3	8,3	8,3	8,3	8,3	8,3
Pm_f (mg)	187,2 ± 93,0 bc	174,4 ± 69,2 ab	266,5 ± 94,3 de	195,1 ± 80,0 bc	135,4 ± 61,3 a	489,6 ± 161,9 f	469,4 ± 153,0 f	229,4 ± 78,6 cd	316,0 ± 100,9 e
Cv P_f (%)	49,7	39,7	35,4	41,0	45,3	33,1	32,6	34,3	31,9
SGR (%.j⁻¹)	7,4	7,2	8,3	7,5	6,6	9,7	9,6	7,9	8,7
FCR	2,4	2,7	2,2	2,0	2,5	1,4	1,4	1,9	1,6
Survie (%)	93,9	65,6	72,9	63,4	61,8	73,3	72,4	71,6	58,3
Malformation_f (%)	1	3	4	0	4	0	0	2	2

Après 42 jours de nourrissage, la croissance la plus élevée a été observée dans les lots élevés en conditions intensives et nourris au Gemma Micro (I3). Dans ces conditions, les larves ont atteint un poids moyen compris entre 469,4 ± 153,0 mg et 489,6 ± 161,9 mg, significativement plus élevés que

VIII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du barbeau

les poids mesurés dans les autres conditions. Les taux de croissance spécifique (SGR) étaient compris entre 9,6 et 9,7 et le taux de conversion alimentaire était de 1,4.

Dans les lots élevés en conditions intensives à 23 °C, avec différents schémas alimentaires, la croissance a été plus faible (SGR compris entre 6,6 et 8,7). Les poids moyens atteints en fin d'expérience étaient compris entre $174,4 \pm 69,2$ mg et $316,0 \pm 100,9$ mg. Les performances de conversion alimentaire étaient relativement bonnes dans les lots I3 (FCR = 1,4) nourris au Gemma Micro. Dans les autres lots, les FCR étaient compris 1,6 et 2,7.

En conditions semi-intensives, la croissance était comparable aux plus faibles performances observées en élevage intensif (SGR = 7,4). Le poids moyen de ces larves en fin d'expérience était de $187,2 \pm 93,0$ mg.

Par contre, le taux de survie était plus élevé en conditions semi-intensives (94 %) qu'en conditions intensives où il a varié entre 58 et 73 %. En élevage intensif, les mortalités les plus faibles ont été observées dans les lots nourris au Gemma Micro (I3).

Les taux de malformations sont restés faibles (≤ 4 %) et aucun individu malformé n'a été rapporté dans les lots nourris au Gemma Micro.

Ces résultats permettent de caractériser les performances zootechniques des larves de barbeau élevées dans différentes conditions et montrent, qu'en conditions intensives, une alimentation basée sur un aliment sec de haute qualité (Gemma Micro) permet d'atteindre les meilleures performances en termes de croissance et survie, tout en évitant une phase de démarrage à base de proies vivantes.

Cependant, l'élevage semi-intensif en mésocosme, permet, probablement grâce au bénéfice fourni par une alimentation naturelle constituée de proies vivantes durant les premières phases d'élevage, une amélioration de 20 % du taux de survie.

2.1.2. 2e expérience

2.1.2.1. Conditions d'élevage et schémas expérimentaux

Dans cette expérience, nous avons étudié l'élevage larvaire du barbeau en conditions extensives et en conditions intensives à 2 densités d'élevage (FD = 10 larves/L ; HD = 50 larves/L) et 2 températures (23 et 27 °C) différentes (Tableau VIII.6).

En système intensif, les larves ont reçu le régime alimentaire I3 (Figure VIII.8 : Gemma Micro puis Nutra HP 0.3, remplaçant le Carpcoc) qui a donné les meilleurs résultats en termes de croissance, survie et malformation dans l'expérience précédente.

En élevage extensif, le régime alimentaire était celui décrit pour le hotu (E, Figure VII.25, p 99). Les autres conditions d'élevage étaient semblables à celles décrites dans l'élevage larvaire du hotu (voir VII.2.1.1). Les différents schémas expérimentaux sont décrits à la Figure VIII.10. Toutes les conditions ont été testées en répliques. L'expérience a duré 89 jours et les contrôles de croissance étaient réalisés toutes les 2 semaines.

Tableau VIII.6. Conditions d'élevage intensives et semi-intensives appliquées à l'élevage larvaire du barbeau.

	Intensif	Extensif
Type circuit	Fermé	Ouvert
Volume bassin	0,1 m ³	5 m ³
Nombre de bassins	6	2
Fertilisation	Non	Oui (<i>mésocosme</i>)
Type aliment	Aliment sec	Plancton et aliment sec
Densité	10 - 50 larves.L ⁻¹	0,3 larves.L ⁻¹
Température	22 - 27 °C	18 °C

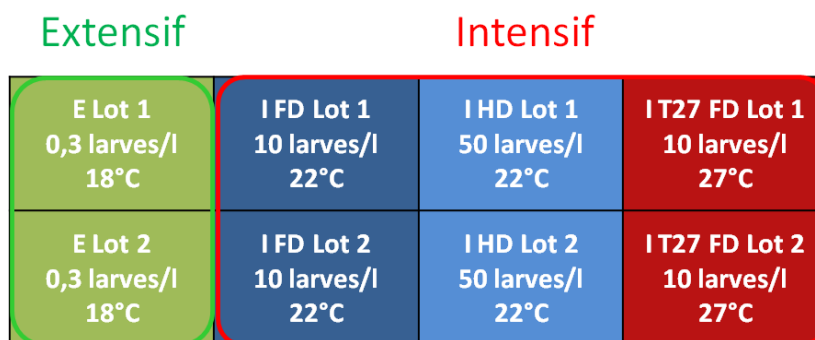


Figure VIII.10. Elevage larvaire du barbeau : schémas expérimentaux extensif et intensifs.

2.1.2.2. Résultats

Les paramètres de croissance, survie et malformation mesurés après 89 jours de nourrissage sont synthétisés dans le Tableau VII.7. L'évolution du poids moyen est représentée à la Figure VIII.11.

Tableau VIII.7. Paramètres de croissance, survie et malformation mesurés dans les conditions d'élevage larvaire extensives et intensives du barbeau.

	Extensif		Intensif					
	E		I FD		I HD		I T27 FD	
	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2
Pm_i (g)	0,009	0,009	0,009	0,009	0,009	0,009	0,009	0,009
Pm_f (g)	1,05 ± 0,36 ab	1,30 ± 0,34 bcd	1,67 ± 0,41 e	1,3 ± 0,40 cd	1,18 ± 0,43 abc	1,01 ± 0,32 a	1,37 ± 0,37 bcde	1,60 ± 0,42 de
$Cv P_f$ (%)	34,5	26,3	24,7	29,5	36,5	32,2	27,3	26,5
L_f (mm)	48 ± 5 a	52 ± 4 b	57 ± 4 c	53 ± 5 bc	52 ± 6 b	50 ± 5 ab	55 ± 5 bc	57 ± 6 c
SGR (%·j ⁻¹)	5,3	5,5	5,8	5,8	5,6	5,4	5,7	5,8
FCR	N/A	N/A	1,5	1,5	1,2	1,4	1,8	1,7
Survie (%)	N/A	N/A	61,7	71,3	71,5	74,4	49,1	58,3
Malformation _f (%)	N/A	N/A	0,6	0,4	0,3	0,4	0,2	0,3

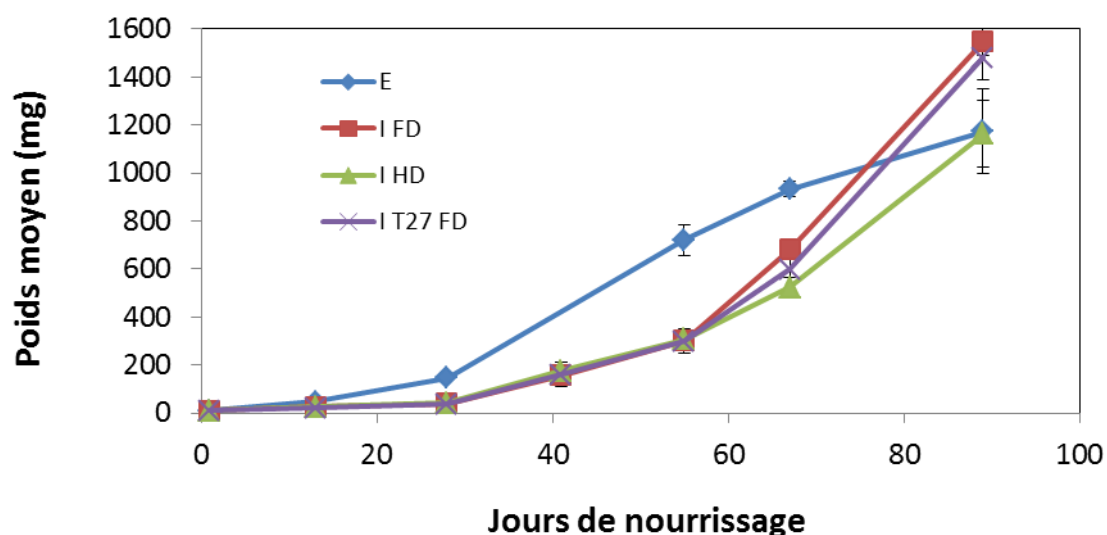


Figure VIII.11. Evolution du poids moyen des larves de barbeau élevées en conditions extensives (E) et intensives (I FD = faible densité, 22 °C ; I HD = haute densité, 22 °C ; I T27 FD = faible densité, 27 °C).

VIII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du barbeau

Cette expérience a été menée au-delà de la phase larvaire, jusqu'à des juvéniles de 1 à 1,7 g. Même si la croissance a été plus rapide en élevage extensif jusqu'à 70 j d'élevage, les poids moyens finaux ne sont pas très différents entre les conditions d'élevages.

Les poids moyens finaux étaient semblables en extensif et en intensif à haute densité ($1,01 \pm 0,32$ g à $1,30 \pm 0,34$ g). La meilleure croissance a été observée dans les lots en conditions intensives à faible densité à 23 °C et à 27 °C ($1,3 \pm 0,40$ g à $1,67 \pm 0,41$ g).

Ces résultats montrent que la croissance la plus élevée est obtenue en élevage intensif à faible densité et qu'une augmentation de la température de 23 à 27 °C n'améliore pas les performances de croissance. Par contre, une telle augmentation de la température affecte la survie moyenne qui passe de 66,5 % à 23 °C à 53,7 % à 27 °C.

2.2. Performances zootechniques des larves F2 en conditions intensives et extensives

2.2.1. Conditions d'élevage

Les conditions d'élevage (volume, densité, température), le schéma expérimental, le plan de nourrissage et le suivi zootechnique mis en place dans cette expérience sont identiques à ceux définis dans les premières expériences d'élevage larvaire menées en 2012 sur des poissons de génération F1 (voir VIII.2.1). La conduite d'élevage dans les mêmes conditions a permis une comparaison des 2 générations et donc une évaluation de l'effet de la domestication.

Les conditions d'élevage extensives et intensives (Tableau VIII.8) ont été reproduites durant 43 jours à partir du 14^e jour post-fécondation. Dans les deux systèmes, les expériences ont été conduites en duplicats (chaque ponte divisée en 2 lots). Une et trois pontes ont été testées en conditions extensives et intensives respectivement.

Tableau VIII.8. Conditions d'élevage extensives et intensives appliquées à l'élevage larvaire du barbeau F2.

	Système extensif	Système intensif
Type circuit	Ouvert	Fermé
Volume bassin/surface	5 m ³	0,1 m ³
Nombre de bassins	2	6
Fertilisation	Oui (mésocosme)	Non
Type aliment	Plancton + aliment sec	Aliment sec
Densité	0,3 larves L ⁻¹	10 larves L ⁻¹
Température	17 °C (naturelle)	22 °C (constante)
O ₂ , NO ₂ ⁻ , NH ₄ ⁺ , pH	Variables	Constants
Débit	3,6 L min ⁻¹	7 L min ⁻¹
Renouvellement	0,04 h ⁻¹	4,2 h ⁻¹

L'élevage extensif consistait à simuler les conditions d'un étang de pisciculture. Deux bassins extérieurs en béton, de 5 m³ ont été fertilisés, préalablement à la mise en charge des larves, pour produire une alimentation naturelle pour les larves.

La température moyenne durant la période expérimentale en système extensif était de 16,9 ± 2,0 °C, la concentration en oxygène dissout de 11,1 ± 0,8 mg L⁻¹ (115 ± 8 % de saturation).

L'élevage intensif a été mené en bassins de 100 L en circuit fermé à une température moyenne de 22,2 ± 0,4 °C. Le taux moyen d'oxygène dissout était de 8,2 ± 0,3 mg L⁻¹.

En conditions extensives, les larves se nourrissaient exclusivement de plancton durant les 10 premiers jours d'alimentation exogène. A partir du 11^e jour, un complément d'aliment artificiel était apporté (Lucky star puis Nutra HP 0.3 Skretting). En conditions intensives, les larves étaient nourries *ad libitum* exclusivement avec de l'aliment artificiel (Gemma Micro, Skretting puis Carpcop, Coppens). Les rations étaient distribuées en 6 repas quotidiens. Le taux de rationnement était estimé sur base d'expériences précédentes menées au CEFRA qui ont permis de déterminer un modèle empirique de rationnement établi à 22-23 °C : $\text{Log } R = -0,3239 \text{ Log } Pm + 0,6816$ (R : ration, Pm : Poids corporel moyen). Selon la prise alimentaire des poissons, les rations pouvaient être ajustées.

2.2.2. Suivi des paramètres zootechniques

Pour le suivi des paramètres zootechniques, 5 contrôles ont été réalisés à J7, J14, J21, J28 et J43. A chaque contrôle, la biomasse totale, les poids individuels (contrôles intermédiaires : $n = 30$; contrôle final : $n = 50$), le nombre d'individus malformés (contrôles intermédiaires : $n = 50$; contrôle final : dénombrement total), étaient déterminés. Lors du contrôle final à J43, tous les individus étaient comptés et la biomasse totale de l'ensemble était déterminée en système intensif. En système extensif, le nombre d'individus et la biomasse totale ne pouvaient être déterminés à J43 car ces poissons devaient être maintenus dans les mêmes conditions jusqu'à atteindre un poids moyen d'1 g pour une expérience de simulation de repeuplement en rivière artificielle (voir IX.2).

Les contrôles ont permis de calculer les paramètres suivants :

- **Taux de croissance spécifique (SGR)** Où R_d = Ration distribuée (g d'aliment)

$$\text{SGR}(\%.j^{-1}) = 100 \times (\ln P_f - \ln P_i) \times \Delta t^{-1}$$
 B_f = Biomasse finale (g)
- **Coefficient de variation du poids (Cv)** B_i = Biomasse initiale (g)

$$\text{Cv}(\%) = 100 \times (\text{écart type}/\text{poids moyen})$$
 Δt = durée de l'expérience en jours
- **Taux de Conversion Alimentaire (FCR)** P_f = poids final (mg)

$$\text{FCR} = R_d \times (B_f - B_i)^{-1}$$
 P_i = poids initial (mg)
- **Taux de survie (S)** N_i = Nombre d'individus initial

$$\text{S}(\%) = 100 \times N_f/N_i$$
 N_f = Nombre d'individus final
- **Taux de malformation (M)** N_m = Nombre d'individus malformés

$$\text{M}(\%) = 100 \times N_m/N_t$$
 N_t = Nombre d'individus total

2.2.3. Résultats

Les paramètres de croissance, survie et malformation mesurés au cours de l'élevage des larves F2 de barbeau en conditions intensives et extensives sont synthétisés dans le Tableau VIII.9.

Tableau VIII.9. Paramètres de croissance, survie et malformation mesurés dans les deux conditions d'élevage larvaire du barbeau. Les lettres différentes indiquent des différences significatives (ANOVA sur les poids moyens ; Chi² sur les taux de survie et de malformation ; p = 0,05).

	Intensif							Extensif		
	Famille 1		Famille 2		Famille 3		Moyenne	Famille 4		Moyenne
	lot 1	lot 2	lot 1	lot 2	lot1	lot2		lot1	lot2	
P_i (mg)	8,4 ± 0,3 a	8,4 ± 0,2 a	7,9 ± 0,5 a	7,9 ± 0,5 a	8,3 ± 0,4 a	8,3 ± 0,4 a	8,3 ± 0,4 A	8,3 ± 0,4 a	8,3 ± 0,4 a	8,3 ± 0,4 A
P_f (mg)	208 ± 40 a	217 ± 35 a	190 ± 46 a	193 ± 35 a	198 ± 65 a	197 ± 53 a	200 ± 11 A	197 ± 30 a	205 ± 36 a	201 ± 6 A
Cv_{pf} (%)	19	16	24	18	33	27	23 ± 6	15	18	17 ± 2
FCR	1,5	1,6	1,9	1,7	1,7	1,8	1,7 ± 0,1	NA	NA	NA
SGR (%·j ⁻¹)	7,5	7,6	7,4	7,4	7,4	7,4	7,5 ± 0,1	7,4	7,5	7,4 ± 0,1
S (%)	95 c	85 a	97 d	95 cd	88 ab	90 b	92 ± 5	NA	NA	NA
M (%)	3,0 b	2,4 b	0,7 a	1,0 a	0,5 a	0,2 a	1,3 ± 2,0 A	2,0 ab	4,0 b	3,0 ± 1,4 A

P_i : poids moyen initial ; P_f : poids moyen final ; Cv_{pf} : coefficient de variation du poids moyen final ; FCR : taux de conversion alimentaire ; SGR : taux de croissance spécifique ; S : taux de survie ; M : taux de malformation.

Les poids moyens finaux des larves élevées en conditions intensives étaient compris entre 190 ± 46 mg et 217 ± 35 mg. Les moyennes des poids finaux pour l'ensemble des lots étaient de 200 ± 11 mg en système intensif et 201 ± 6 mg en système extensif, et n'étaient pas significativement différentes.

Les vitesses de croissance des 4 familles étudiées étaient très semblables avec un SGR moyen de 7,5 % j⁻¹ en conditions intensives et de 7,4 % j⁻¹ en conditions extensives (Figure VIII.12). En conditions extensives, la croissance était un peu plus faible durant les 2 premières semaines mais ce retard était très vite comblé par la suite. De même, la famille 3 en conditions intensives a accusé un petit retard de croissance entre J21 et J28 pour terminer la période expérimentale avec un poids moyen semblable aux autres.

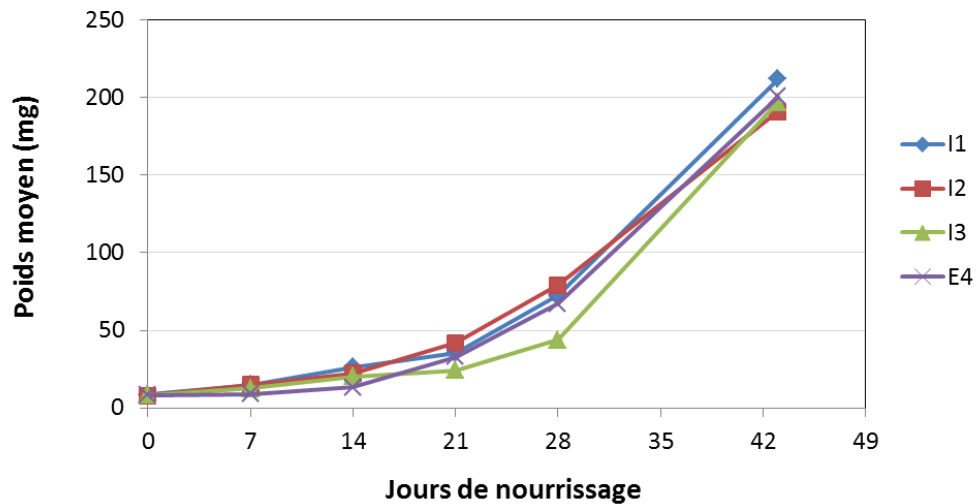


Figure VIII.12. Courbes de croissance des larves de barbeau élevées en conditions intensives (3 familles : I1, I2, I3) et extensives (1 famille : E4).

Les taux de survie étaient élevés et compris entre 85 et 97 % en conditions intensives. Dans les trois familles étudiées, les taux de mortalité les plus élevés ont été enregistrés dans les 7 jours suivant la mise charge.

Les taux de malformation étaient compris entre 0,2 et 4 %. Les taux moyens en conditions intensives ($1,3 \pm 2,0$ %) et extensives ($3,0 \pm 1,4$ %) n'étaient pas significativement différents (Chi^2 , $p > 0,05$). Les principales malformations observées consistaient en des déformations de la colonne vertébrale et du crâne (Figure VIII.13).

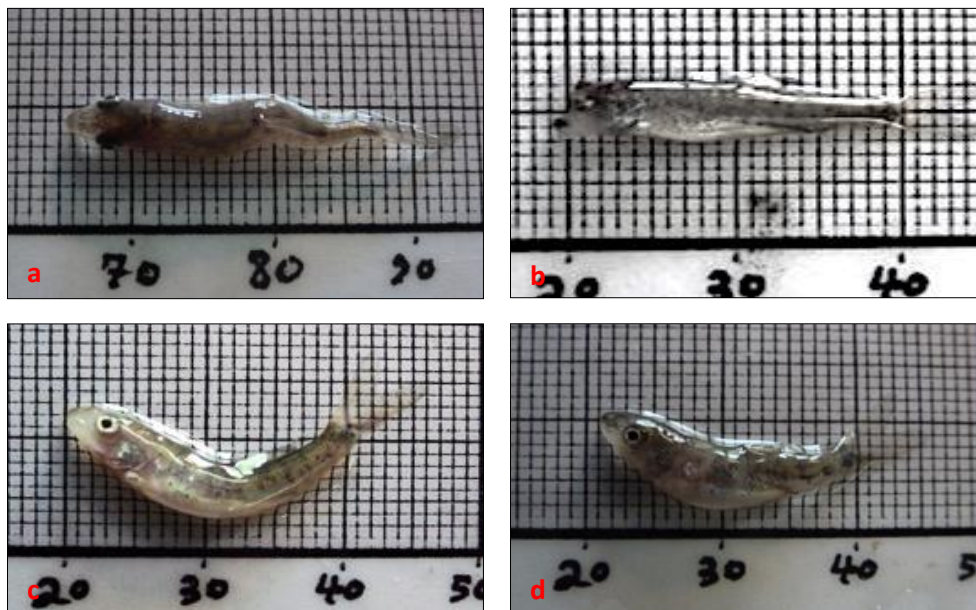


Figure VIII.13. Exemples de malformations observées chez les juvéniles de barbeau après 43 jours d'élevage (a : scolioses multiples ; b : déformation du crâne ; c : lordose ; d : scoliose).

2.2.4. Comparaison des performances zootechniques des larves F1 et F2 de barbeau

Les paramètres de croissance, de survie et de malformation de la génération F2 comparés avec ceux de la génération F1 élevées jusqu'à 42 jours dans des conditions identiques sont synthétisés dans le Tableau VIII.10.

Tableau VIII.10. Comparaison des paramètres de croissance, survie et malformation entre les générations F1 et F2 à 42-43 jours d'élevage larvaire en conditions intensives et 28 jours en conditions extensives.

	Intensif		Extensif	
	Génération F1 (2012) – J42	Génération F2 (2013) – J43	Génération F1 (2012) – J28	Génération F2 (2013) – J28
P_i (mg)	9	8,3	9	8,3
P_f (mg)	158	200	147	67
SGR (% \cdot j ⁻¹)	7,0	7,5	10,0	7,5
Survie (%)	72	92	NA	NA

P_i : poids moyen initial ; P_f : poids moyen final ; SGR : taux de croissance spécifique.

La comparaison des larves de génération F1 et F2 en élevage intensif dans des conditions identiques montre des performances zootechniques supérieures des poissons F2 par rapport aux F1. En une génération, le SGR est passé de 7 à 7,5 % j⁻¹ et la survie a augmenté de 20 %. Les lots élevés en conditions extensives montrent cependant une tendance inverse. Dans ce cas, la comparaison a été faite à J28 car il n'existait pas de valeur de poids moyen mesurée à J42-43 pour les poissons élevés en 2012. Une estimation graphique basée sur les résultats de croissance de 2012 (voir VIII.2.1.2) indique que les poissons F1 auraient atteint un poids moyen d'environ 400 mg après 42 jours d'élevage, ce qui représente le double des poissons F2. Si les conditions d'élevage intensives sont totalement contrôlées et constantes, il est plus difficile de faire une comparaison objective des performances zootechniques en conditions extensives en raison de leur grande labilité, les conditions climatiques et alimentaires pouvant varier d'une année à l'autre. La température moyenne durant la période expérimentale était de 18 °C en 2012 et 17 °C en 2013. Cette différence a pu influencer la vitesse de croissance mais pas dans une mesure telle qu'observée. La fertilisation des bassins n'étant pas contrôlée, le succès du développement planctonique a pu être différent entre ces deux années, offrant des conditions alimentaires plus ou moins favorables.

2.2.5. Estimation de la production de juvéniles de barbeau F2 au cours d'une saison

En compilant les données issues de la reproduction des géniteurs F1, de la qualité des pontes obtenues et de l'élevage larvaire (fécondité, taux de fécondation, taux d'éclosion, taux de malformation, taux de survie), nous avons estimé le nombre de juvéniles pouvant être produits au cours d'une saison (de février à août) (Tableau VIII.11). Cette estimation est basée sur le système décrit de maintien et de contrôle des géniteurs suivi de l'élevage des larves en conditions intensives.

Tableau VIII.10. Estimation de la production de juvéniles de barbeau de 200 mg à partir de 42 pontes récoltées au cours d'une saison.

	Récolte par stripping	Fécondation 80 %	Éclosion 60 %	Survie à la résorption 82 %	Malformation 10 %	n larves mises en charge	Survie à J43 92 %	Malformation 1,3 %	n juvéniles à J43 (200 mg)
n individus viables	110000	88000	53000	43500	-4500	39000	36000	-500	35500

Avec un stock de 113 femelles matures, et 14 % de pontes fécondables, la production serait de 35500 juvéniles. En postulant une proportion de 50 % de pontes fécondables en diminuant la température de maintien des géniteurs, la production de s'élèverait à 127500 juvéniles.

3. ELEVAGE DES JUVÉNILES

3.1. Evaluation des performances zootechniques des juvéniles de barbeau à différents niveaux d'intensification des conditions d'élevage

Cette expérience fait suite à la 2^{nde} expérience d'élevage larvaire. Les conditions testées en élevage larvaire ont été prolongées pour l'élevage des juvéniles. Le schéma expérimental est représenté à la Figure VIII.14.

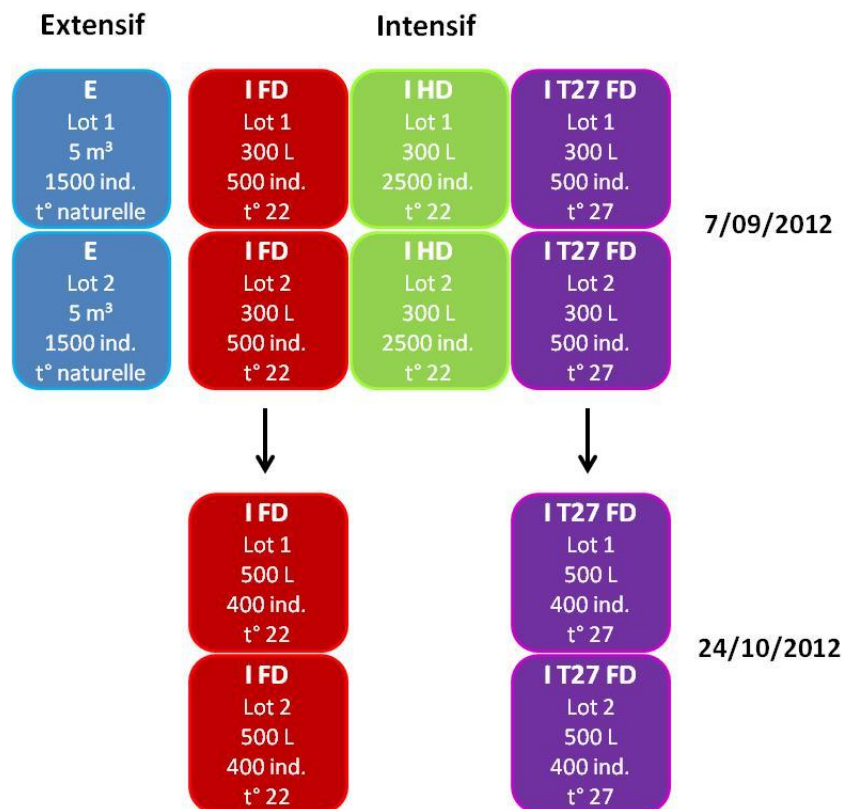


Figure VIII.14. Elevage des juvéniles de barbeau : schémas expérimentaux.

L'expérience a été menée du 7/09/2012 au 21/03/2013 (du 91^e au 286^e jour d'élevage). Des contrôles de biomasse et poids moyen ($n = 100$) étaient réalisés toutes les 2 semaines. Un bilan intermédiaire et un bilan final comportant un comptage total et une mesure individuelle de poids et longueur ($n = 50 - 100$) ont été réalisés le 23/10/2012 et le 21/03/2013.

Les paramètres de croissance, survie et malformation mesurés sont synthétisés dans le Tableau VIII.11. L'évolution du poids moyen est représentée à la Figure VIII.15.

VIII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du barbeau

Un bilan final des lots E, I FD et I HD a été dressé le 23/10/2012 avant leur transfert en conditions d'hivernage en eau de Meuse (bassins de 500 L, t° naturelle). L'expérience a ensuite été poursuivie avec les lots I T27 FD et 2 nouveaux lots I FD, reconstitué à partir des poissons issus de lots HD.

Tableau VIII.11. Paramètres de croissance, survie et malformation durant l'élevage des juvéniles de barbeau en conditions intensives et extensives.

	Extensif		Intensif					
23/10/2012	E		I FD		I HD		I T27 FD	
	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2
Pm_i (g)	N/A	N/A	1,46	1,45	1,10	1,10	1,48	1,43
Pm_f (g)	1,17 ± 0,44	1,37 ± 0,28	4,41 ± 1,29	4,24 ± 1,51	3,32 ± 1,15	3,38 ± 1,07	4,19 ± 1,20	4,78 ± 1,47
Cv P_f (%)	37,3	20,6	29,3	35,7	34,6	31,7	28,7	30,7
L_f (mm)	50 ± 6	54 ± 3	78 ± 8	76 ± 10	72 ± 7	73 ± 7	80 ± 7	81 ± 11
SGR (%.j⁻¹)	0,5	0,2	2,5	2,4	2,6	2,5	2,3	2,6
Survie (%)	N/A	N/A	100	99,8	99,8	99,8	99,4	100
Malformation_f (%)	0,2	0,0	0,8	0,6	0,3	0,4	0,0	0,4
21/03/2013			I FD				I T27 FD	
			Lot 1	Lot 2			Lot 1	Lot 2
Pm_i (g)			3,5	3,5			4,3	4,3
Pm_f (g)			52,0 ± 19,6	52,5 ± 16,3			52,2 ± 18,0	60,3 ± 23,8
Cv P_f (%)			37,7	31,0			34,5	39,5
L_f (mm)			154 ± 24	158 ± 18			157 ± 19	164 ± 22
SGR (%.j⁻¹)			1,7	1,7			1,7	1,7
Survie (%)			100	100			100	100
Malformation_f (%)			0	0			0	0

La croissance a été très faible en élevage extensif (SGR = 0,2-0,5). En octobre, les poids moyens dans ces conditions ne dépassaient pas 1,4 g alors qu'ils étaient compris entre 3 et 5 g en conditions intensives (SGR= 2,3-2,6)

En élevage intensif, les taux de croissance étaient très semblables dans les différentes conditions (faible et haute densité, 23-27 °C).

Entre octobre et mars, le maintien des juvéniles en conditions constantes à 23 et 27 °C a permis une croissance importante, pour atteindre en fin d'expérience des poids moyen compris entre 52,0 ± 19,6 g et 60,3 ± 23,8 g chez des poissons âgés de 286 jours. La croissance a été semblable à 23 et 27 °C.

VIII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du barbeau

Durant toute la phase de grossissement, et dans toutes les conditions, les taux de survie sont restés proches de 100 % et les taux de malformations inférieurs à 1 %.

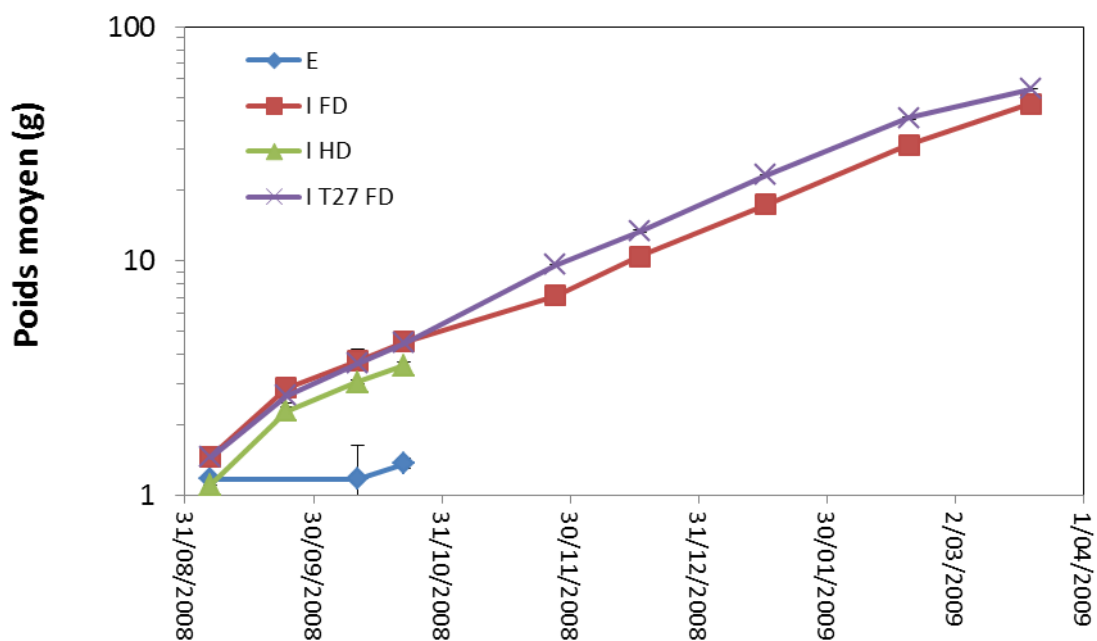


Figure VIII.15. Evolution du poids moyen (échelle logarithmique) des juvéniles de barbeau.

3.2. Hivernage

En 2012, des barbeaux F1 avaient été produits au CEFRA et élevés dans différentes conditions extensives et intensives afin de définir les performances zootechniques de ces poissons dans différents systèmes d'élevage. L'élevage a été mené durant tout l'été jusqu'au mois d'octobre. Les conditions extensives simulaient une production en étang. Les conditions intensives variaient principalement en fonction de la densité et de la température d'élevage. Trois systèmes intensifs avaient été définis : faible densité 23 °C, haute densité 23 °C, faible densité 27 °C (voir VIII.3.1). Une partie de ces poissons avaient été maintenus en circuit fermé et conditions constantes durant tout l'hiver jusqu'en mars 2013 : des lots issus des conditions faible densité à 23 et 27 °C.

Afin de simuler de manière réaliste les conditions d'élevage rencontrées en production piscicole, les autres poissons élevés durant la période estivale dans les conditions décrites ci-dessus ont été maintenus tout l'hiver (du 24/10/2012 au 17/04/2013) dans des conditions thermiques naturelles.

Le maintien des poissons durant la période hivernale s'est fait en bassin de 500 L alimentés en eau de Meuse en circuit ouvert. La photopériode était naturelle et la température comprise entre 2,6 et 13,7 °C. Trois conditions différentes ont été testées en duplicat pour chaque espèce, en fonction des histoires de vie différentes des lots de poissons utilisés : lots à faible densité et haute densité issus du système intensif ; lots à faible densité issus du système extensif (Figure VIII.16). Les poissons étaient nourris 2 x / jour à une ration ne dépassant pas 1 % de la biomasse. La ration était adaptée en fonction du comportement des poissons.

Des poids et longueurs individuels ont été mesurés sur 50 individus de chaque lot en début et fin d'hivernage. Ces données ont permis de calculer le coefficient de condition des poissons en début et fin d'expérience.

De plus, à la fin de la période expérimentale, les poissons étaient dénombrés et des indicateurs qualitatifs mesurés : érosion de la nageoire caudale et charge parasitaire.

L'érosion de la nageoire caudale était évaluée sur 20 individus grâce aux indices allant de 0 (nageoire intacte, pas d'érosion) à 4 (érosion de plus de 50 % de la nageoire) définis par Person-Le Ruyet & Le Bayon (2009) (voir Figure VII.35, p 113).

La charge parasitaire était évaluée par frottis. Pour chaque lot, le mucus de 5 individus étaient raclé sur 1 flanc du poisson puis observé entre lame et lamelle au microscope afin d'identifier et dénombrer les parasites.

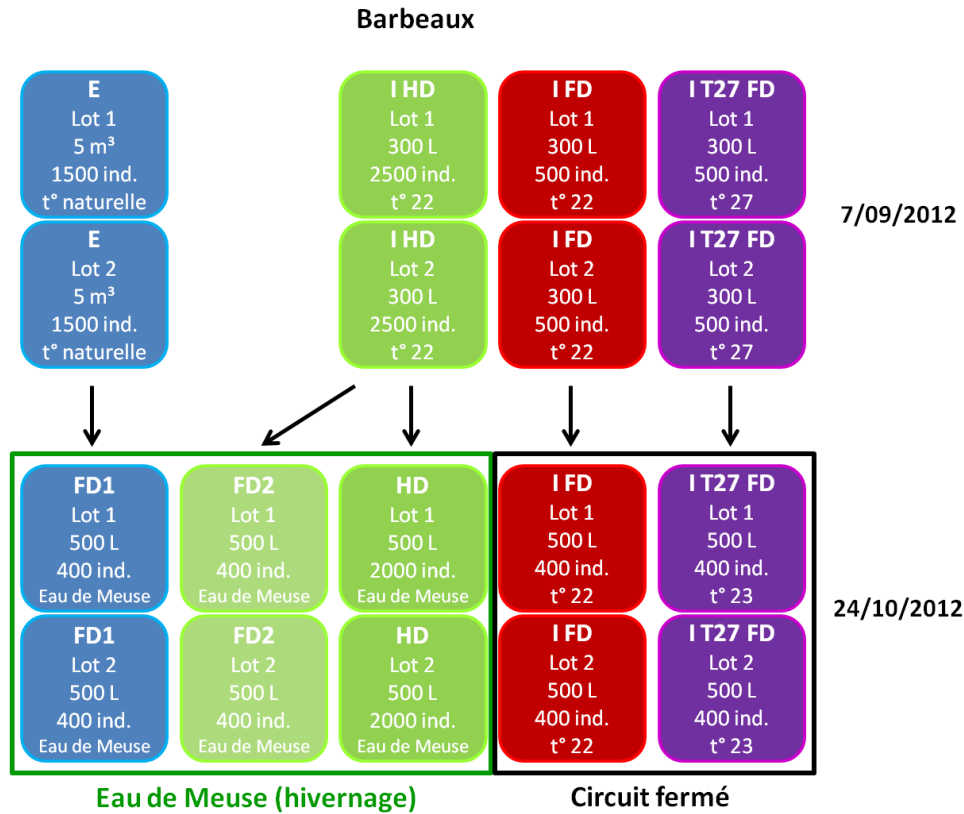


Figure VIII.16. Schémas expérimentaux d'élevage des juvéniles de barbeau durant la période hivernale (I = intensif ; E = extensif ; FD = faible densité ; HD = haute densité).

Les poids moyens et les coefficients de conditions sont restés très semblables entre le début et la fin de l'hivernage (Tableau VIII.12), indiquant que les poissons n'ont pas grandi, mais sont restés en bonne condition et n'ont pas maigri durant cette période. Les coefficients de condition ont même légèrement augmenté entre l'entrée et la sortie de l'hiver, passant globalement de 1,0 à 1,1.

La survie a été supérieure à 98 % dans tous les lots. Les coefficients moyens d'érosion de la nageoire caudale étaient très bas en fin d'expérience. Les charges parasitaires étaient faibles, avec une moyenne maximale de 12 ± 10 parasites/individu dans les lots à haute densité. Les communautés parasitaires observées étaient composées presque exclusivement de trichodines ; parasites de petite taille qui affectent peu l'état de santé général du poisson et la survie.

Globalement, la résistance des barbeaux dans ces conditions d'hivernage a été très bonne, tant en terme de survie que de qualité. Même si la croissance est nulle durant toute cette période, ces résultats montrent que le maintien des poissons en conditions thermiques naturelles est envisageable si les conditions d'élevage ne permettent pas un maintien à haute température, assurant la poursuite de la croissance durant l'hiver.

VIII. Mise au point et amélioration des techniques d'élevage du barbeau

Tableau VIII.12. Paramètres de croissance, survie et qualité des juvéniles de barbeau maintenus durant la période hivernale en eau de Meuse (Pm_i = poids moyen initial ; Pm_f = poids moyen final ; K_i = coefficient de condition initial ; K_f = coefficient de condition final).

	FD1	FD2	HD
Origine	Extensif	Intensif	Intensif
Pm_i (g)	1,3 ± 0,4	4,3 ± 1,4	3,3 ± 1,1
Pm_f (g)	1,4 ± 0,4	4,3 ± 1,4	3,8 ± 1,2
K_i	1,03 ± 0,09	1,09 ± 0,07	1,02 ± 0,15
K_f	1,10 ± 0,10	1,10 ± 0,13	1,12 ± 0,08
Survie (%)	98,1	100	99,7
Erosion caudale	0,1 ± 0,6	0,0	0,1 ± 0,6
n parasites	10 ± 21	0	12 ± 12

IX. CAPACITÉ D'ADAPTATION AU MILIEU NATUREL DES ALEVINS PRODUITS

Il n'était pas prévu, dans le cadre de ce projet, d'évaluer les capacités d'adaptation des poissons d'élevage au milieu naturel par un suivi démographique de populations reconstituées en rivière à la suite de repeuplements, mais bien d'estimer ces capacités en milieu expérimental mimant les conditions environnementales naturelles durant un courte période (quelques mois). Ces conditions ont été recrées dans des systèmes de rivières artificielles dans lesquels 2 expériences ont été menées.

La première consistait à comparer les capacités de résistance et d'adaptation de poissons âgés d'1 an, produits dans différentes conditions d'élevage, et donc caractérisés par des tailles très différentes.

La seconde expérience a été mise en place pour évaluer les capacités d'adaptation de poissons plus petits, produits dans l'année (0+) dans différents systèmes d'élevage, et ayant tous atteint un poids approximatif d'1 g.

1. 1^E EXPÉRIENCE : SIMULATION DE REPEUPLEMENT EN RIVIÈRES ARTIFICIELLES AVEC DES POISSONS ÂGÉS D'1 AN

A la sortie de l'hiver 2012-2013, les capacités de résistance et d'adaptation des juvéniles produits dans différentes conditions d'élevage intensives et extensives ont été évaluées en rivières artificielles.

Cette expérience visait à simuler un repeuplement réalisé au printemps avec des poissons d'environ 1 an. Les poissons utilisés provenaient des lots FD1, FD2 et IFD caractérisés dans les Figures VII.31 (hotus) et VIII.16 (barbeaux), et ont été renommés respectivement extensifs, semi-intensifs et intensifs en fonction de leurs histoires de vie.

Les poissons des lots extensifs (FD1) ont en effet été élevés depuis leur naissance en système extensif : croissance en étangs simulés et hivernage en eau de Meuse. Les lots semi-intensifs (FD2) ont eu une période de croissance estivale en conditions intensives (circuit fermé) et ont ensuite été hivernés en eau de Meuse. Les lots intensifs ont été élevés en continu en conditions constantes et intensives pendant 1 an.

L'expérience s'est déroulée du 22/04/2013 au 16/07/2013. Les rivières artificielles ont été mises en place dans 12 bassins extérieurs de 10 m² alimentés en eau de Meuse (Figure IX.1). L'arrivée d'eau était horizontale et proche du fond. Les débits étaient de 1 L s⁻¹ et la hauteur d'eau de 18 cm. La température a fluctué entre 11,8 et 23,5 °C (moyenne = 16,6 ± 2,9 °C). Trois déflecteurs (blocs de béton) étaient disposés dans chaque bassin afin de diversifier les types de régimes hydrauliques rencontrés sur la surface du bassin. Afin de simuler le lit d'une rivière, une quantité égale de gravier (8 – 14 mm) était disposée sur le fond de tous les bassins, offrant, par la diversification du substrat, un habitat plus riche pour les algues, les micro- et macro-invertébrés. Un tiers de la surface des bassins était couverte de toile d'ombrage et le reste de filets anti-oiseaux.

L'expérience a été menée en duplicats. Aucun aliment artificiel n'était apporté aux bassins. La seule source de nourriture des poissons provenait des organismes charriés par l'eau de Meuse et se développant naturellement dans les bassins. La biomasse de départ a été établie sur base de valeurs de densité piscicole communément rencontrées dans nos cours d'eau : 200 à 600 kg/ha. Une biomasse de 200 g / bassin a été établie pour les plus petits poissons (extensif) qui présentent le taux de nourrissage relatif le plus élevé (4-5 % / jour) (Tableau IX.1). Pour les poissons plus grands, les biomasses ont été pondérées et adaptées en fonction du taux de nourrissage afin de garantir un même accès à la nourriture dans tous les lots. Les taux de nourrissage ont été estimés sur base des

IX. Capacités d'adaptation au milieu naturel des alevins produits

ractions distribuées empiriquement au cours des différentes phases d'élevage expérimental (à 23 °C) (voir VII.3 et VIII.3) et modélisées par les formules suivantes :

$$\text{Hotu} : R (\%) = 4,864 \times 0,504^{\text{Log } P_m}$$

$$\text{Barbeau} : R (\%) = 5,728 \times 0,450^{\text{Log } P_m} \quad \text{où } R = \text{ration journalière} ; P_m = \text{poids moyen}$$



Figure IX.1. Infrastructures aménagées en rivières artificielles.

Au cours de cette expérience, la croissance a été positive dans tous les lots, indiquant la bonne adaptation des poissons à ces conditions semi-naturelles. Les SGR étaient compris entre 0,09 et 1,13 % j⁻¹ chez les plus gros (barbeaux, lots intensifs) et les plus petits individus respectivement (hotus,

IX. Capacités d'adaptation au milieu naturel des alevins produits

lots extensifs). La survie était supérieure à 90 % dans tous les lots, excepté les hotus issus d'élevage extensif qui ont eu une survie de 76 %. Ces poissons démarraient l'expérience avec le coefficient de condition le plus faible (0,8). En fin d'expérience, tous les poissons avaient un coefficient de condition proche de 1.

Tableau IX.1. Simulation de repeuplement en rivières artificielles : paramètres de croissance, survie et qualité des juvéniles de hotu et barbeau après 85 jours d'adaptation.

Hotus	Extensif	Semi-intensif	Intensif
Origine	FD1	FD2	IFD
Taux de nourrissage (%)	4,5	3,5	1,8
Biomasse initiale (g)	200	270	600
n	160	90	20
Pm_i (g)	1,3 ± 0,3	3,3 ± 1,4	29,5 ± 13,8
Pm_f (g)	3,4 ± 0,8	5,5 ± 1,8	33,5 ± 10,6
SGR (% j⁻¹)	1,13	0,60	0,15
K_i	0,78 ± 0,10	0,94 ± 0,08	1,27 ± 0,14
K_f	0,96 ± 0,04	0,99 ± 0,06	1,06 ± 0,06
Survie (%)	75,9	94,4*	95*
Erosion caudale	0,7 ± 0,7	0,6 ± 0,5	0,8 ± 0,4
Barbeaux	Extensif	Semi-intensif	Intensif
Origine	FD1	FD2	IFD
Taux de nourrissage (%)	5,2	3,5	1,5
Biomasse initiale (g)	200	250	600
n	150	60	12
Pm_i (g)	1,4 ± 0,4	4,3 ± 1,4	52,2 ± 17,9
Pm_f (g)	2,6 ± 0,9	6,7 ± 2,1	56,2 ± 18,0
SGR (% j⁻¹)	0,73	0,52	0,09
K_i	1,10 ± 0,10	1,10 ± 0,13	1,30 ± 0,10
K_f	1,02 ± 0,06	1,05 ± 0,06	1,08 ± 0,08
Survie (%)	95,3*	90,8	91,7
Erosion caudale	0,2 ± 0,6	0,2 ± 0,4	0,5 ± 0,5

Pm_i = poids moyen initial ; Pm_f = poids moyen final ; SGR = taux de croissance spécifique ; K_i = coefficient de condition initial ; K_f = coefficient de condition final ; * = taux de survie estimés sur un seul lot en raison de la perte de certains individus dans le second lot lors du contrôle final.

IX. Capacités d'adaptation au milieu naturel des alevins produits

Ces résultats indiquent que les hotus et barbeaux d'élevage montrent une bonne résistance face à des conditions biotiques et abiotiques semi-naturelles, en particulier l'absence de nourriture artificielle. Même les poissons issus des systèmes d'élevage intensifs, s'adaptent bien à une nourriture naturelle et montrent une croissance positive.

Chez le barbeau, des résultats semblables ont été obtenus quelle que soit la taille initiale des poissons (de 1,4 à plus de 50 g) et donc le système d'élevage duquel ils étaient originaires.

Par contre, chez le hotu, les plus petits individus (1,3 g) ont subi des mortalités, probablement en raison de leur petite taille et de leur faible condition, reflétant des réserves énergétiques disponibles limitées au moment de la transition et de l'adaptation à un nouveau mode de vie. En milieu naturel, des poissons de cette taille seraient probablement d'autant plus affectés par une mortalité élevée que leurs capacités d'évitement des prédateurs sont plus réduites et qu'ils constituent des proies plus faciles pour les prédateurs piscivores de plus grande taille.

2. 2^E EXPÉRIENCE : SIMULATION DE REPEUPLEMENT EN RIVIÈRES ARTIFICIELLES AVEC DES POISSONS PESANT 1 G

A la sortie de l'hiver 2012-2013, les capacités de résistance et d'adaptation de juvéniles produits dans différentes conditions d'élevage intensives et extensives avaient été évaluées en rivières artificielles (voir IX.1). Cette expérience visait à simuler un repeuplement réalisé au printemps avec des poissons d'environ 1 an, caractérisés par des tailles différentes selon les conditions d'élevage dans lesquelles ils avaient été produits.

Une expérience similaire a été menée entre juillet 2013 et mars 2014 avec des poissons d'environ 1 g produits au printemps 2013. Cette expérience visait à simuler un repeuplement plus précoce (fin de l'été – début de l'automne) avec des poissons plus jeunes et à mesurer leurs capacités de résistance et d'adaptation à la fin de l'hiver.

Le dispositif (Figure IX.1) et les conditions expérimentales étaient identiques à ceux décrits dans la première expérience (voir IX.1). Deux lots de hotus et 2 lots de barbeaux ont été testés en duplicats. Un des lots a été produit en système intensif et l'autre en système extensif suivant les conditions d'élevages larvaire et juvénile décrites précédemment (voir VII.2, VII.3 et VIII.2, VIII.3)

Au total, 8 bassins extérieurs de 10 m² alimentés en eau de Meuse ont été utilisés. Aucun aliment artificiel n'était apporté aux bassins. Comme dans la première expérience, la biomasse et le nombre d'individus initiaux correspondaient à des valeurs de densité piscicole communément rencontrées dans le milieu naturel. Au moment de la mise en charge, tous les poissons avaient un poids moyen proche de 1 g, excepté les barbeaux issus d'un élevage extensif qui avaient un poids moyen de $0,58 \pm 0,12$ g (Tableau IX.2). Bien que ces poissons aient un poids inférieur, la mise en charge a été faite à la fin du mois d'août pour leur garantir une courte période d'adaptation dans des conditions thermiques et trophiques favorables. La température moyenne de l'eau durant la période d'expérience était de $12,6 \pm 5,9$ °C, avec un maximum de 24,9 et un minimum de 5,4 °C (Figure IX.2).

Les performances de chaque lot ont été mesurées en termes de poids moyen ($n = 50$), taux de croissance spécifique ($SGR = (\ln(\text{poids moyen initial}) - \ln(\text{poids moyen final})) / \text{nombre de jours}$), coefficient de condition ($K = 10^5 \text{ poids (g)} / \text{longueur}^3 \text{ (mm)}$), survie (%) et coefficient d'érosion de la nageoire caudale (de 0 = pas d'érosion à 4 = érosion de plus de 50 % de la nageoire, voir Figure VII.35, p 113 ; Person-Le Ruyet & Le Bayon 2009).

IX. Capacités d'adaptation au milieu naturel des alevins produits



Figure IX.2. Profil thermique de l'eau de Meuse alimentant les rivières artificielles entre août 2013 et mars 2014.

Tableau IX.1. Simulation de repeuplement en rivières artificielles : paramètres de croissance, survie et qualité des juvéniles de hotu et barbeau après 200 à 231 jours d'expérience. Les * indiquent des différences significatives (ANOVA, $p = 0,05$) entre les valeurs (P_m , K) initiales et finales au sein d'un même groupe. Les lettres en exposant indiquent des différences significatives (Chi^2 , $p = 0,05$) entre les taux de survie finaux des différents groupes.

	Hotus		Barbeaux	
	Intensif	Extensif	Intensif	Extensif
Date mise en charge	30/08/2013	30/07/2013	30/07/2013	30/08/2013
Date fin d'expérience	18/03/2014	18/03/2014	18/03/2014	18/03/2014
n	200	200	200	250
P_{m_i} (g)	$0,95 \pm 0,20$	$1,04 \pm 0,25$	$1,11 \pm 0,28$	$0,58 \pm 0,12$
P_{m_f} (g)	$1,17 \pm 0,30^*$	$1,40 \pm 0,36^*$	$1,24 \pm 0,54^*$	$0,59 \pm 0,17$
SGR ($\% \text{ j}^{-1}$)	0,11	0,13	0,05	0,01
K_i	$0,85 \pm 0,07$	$1,07 \pm 0,13$	$1,14 \pm 0,13$	$1,02 \pm 0,07$
K_f	$0,88 \pm 0,09$	$0,79 \pm 0,09^*$	$1,00 \pm 0,16^*$	$0,95 \pm 0,16^*$
Survie (%)	10,5 ^a	48,8 ^b	72,5 ^c	49 ^b
Erosion caudale	$0,0 \pm 0,0$	$0,1 \pm 0,4$	$0,0 \pm 0,0$	$0,1 \pm 0,3$

P_{m_i} = poids moyen initial ; P_{m_f} = poids moyen final ; SGR = taux de croissance spécifique ; K_i = coefficient de condition initial ; K_f = coefficient de condition final.

IX. Capacités d'adaptation au milieu naturel des alevins produits

La croissance a été faible mais significative dans tous les lots, sauf les barbeaux issus du système extensif. Les taux de croissance spécifique étaient compris entre 0,01 et 0,05 % j⁻¹ chez le barbeau, et entre 0,11 et 0,13 % j⁻¹ chez le hotu. Cependant, la croissance en longueur a été plus importante que la croissance pondérale, traduisant un amaigrissement des poissons durant la période hivernale, et se marquant par une diminution du coefficient de condition, sauf chez les hotus issus du système intensif. Dans ce groupe, le K était plus faible (0,85) au début de l'expérience, et est resté stable par la suite.

Les taux de survie étaient proches de 50 % chez les poissons provenant des systèmes d'élevage extensifs et significativement différent des taux observés dans les groupes provenant des systèmes intensifs. Parmi ces derniers, la tendance était toutefois inverse entre les 2 espèces avec une survie plus faible chez les hotus (10,5 %) et plus élevée chez les barbeaux (72,5 %). La condition et l'intégrité morphologiques des poissons étaient très bonnes, avec un coefficient d'érosion de la nageoire caudale proche de 0 dans tous les lots.

La comparaison de ces résultats avec ceux de la première expérience, simulant un repeuplement réalisé au printemps avec des poissons plus âgés et de plus grande taille (1,3 à 52,2 g), met en évidence une adaptation plus difficile (cf. taux de survie de 76 à 95 % dans la première expérience) des poissons aux conditions semi-naturelles durant les périodes automnale et hivernale, lorsque la nourriture se fait plus rare. Par ailleurs, les différences de croissance et de survie observées dans cette seconde expérience semblent être liées au poids et à la condition (K_i) initiale des poissons, ainsi qu'au moment du repeuplement, plutôt qu'à l'origine des poissons (intensif vs extensif). Pour chacune des espèces, ce sont les poissons avec les poids initiaux et les K les plus faibles et ayant été mis en charge le plus tardivement, qui ont montré les taux de croissance et de survie les plus faibles (hotus – intensif et barbeaux – extensif).

X. TRANSFERT DES TECHNIQUES D'ÉLEVAGE VERS LES PRODUCTEURS

Les producteurs piscicoles sont des acteurs clés de la mise en place d'un programme de repeuplement. Il est donc important que les résultats de recherche obtenus, et les techniques d'élevage développées dans un contexte expérimental, puissent être transmis et accessibles aux pisciculteurs potentiellement intéressés par la production du hotu et du barbeau.

A cette fin, un manuel d'élevage définissant les différentes conditions et infrastructures d'élevage a été rédigé pour chaque espèce. Ils seront prochainement publiés et accessibles aux producteurs.

Tous les pisciculteurs actifs en Wallonie ont également été informés de la démarche poursuivie dans ce projet et du développement d'un programme de repeuplement en hotus et barbeaux. Un courrier explicatif, comportant également une invitation à une séance d'information, a été adressé à chacun d'entre eux. Sur les 75 pisciculteurs sollicités, 7 acteurs de la production piscicole wallonne au sens large (dont 4 producteurs) ont participé à cette séance d'information (Tihange, 26/06/2013).

Cette séance a non seulement permis d'aller à la rencontre des pisciculteurs et de les informer sur le projet, mais également d'identifier des sites de production potentiellement utilisables pour des essais d'élevage (voir X.2), et surtout de recueillir les questions suscitées par le développement de ce nouveau type d'activité. En fin de projet, une seconde présentation du projet a été réalisée devant les producteurs présents à l'assemblée générale du *Conseil de Filière Wallonne Piscicole* (Marche-en-Famenne, 19/03/2015).

Les questions posées lors de ces rencontres concernaient principalement la responsabilité de la gestion des stocks de géniteurs et de la production des larves, la taille commercialisable et surtout l'importance du marché potentiel engendré par l'élevage et la mise en place d'un programme de repeuplement pour ces 2 espèces.

Pour tenter de répondre à certaines de ces questions, une enquête visant à évaluer l'intérêt des fédérations halieutiques et des contrats de rivières pour des mesures de restauration des populations de hotus et barbeaux a été menée. Elle visait principalement à évaluer le marché potentiel engendré par la demande de ces organisations.

D'autres éléments de réponses à ces questions sont apportés dans le chapitre XI.

1. MANUELS D'ÉLEVAGE

Les manuels d'élevage annexés à ce travail sont basés sur l'ensemble des résultats zootechniques expérimentaux obtenus au cours de ce projet (chapitres VII et VIII) et ceux disponibles dans la littérature. Ils devraient permettre à tout pisciculteur d'appliquer les techniques d'élevage mise au point pour le hotu et le barbeau, et de les adapter à ses propres infrastructures.

2. ESSAI DE GROSSISSEMENT EN PISCICULTURE

Suite à la rencontre organisée en juin 2013 avec des pisciculteurs wallons, un essai de grossissement de juvéniles en étangs a été mis en place à la pisciculture de Germensau (propriétaire : R. de Dorlodot) à Ermeton-sur-Biert. Cette pisciculture, autrefois dédiée à l'élevage de truites, est aujourd'hui principalement utilisée pour la production de cyprins, en particulier de carpes.

Trois étangs d'environ 70 m² (Figure X.1.A) ont été mis en charge le 24/09/2013 : un avec des hotus (n = 953, poids moyen = 1,60 g) et deux avec des barbeaux (n = 1086, poids moyen = 1,93 g ; n = 3269, poids moyen = 0,24 g). L'élevage larvaire et le pré-grossissement de ces alevins ont été menés en conditions intensives au cours du printemps et de l'été 2013. Avant la mise en charge, la température d'élevage a été lentement ajustée (changement max. 0,5 °C/j) pour éviter tout choc thermique lors du changement d'infrastructure d'élevage. Au moment de la mise en charge, la température des étangs était de 11 °C.

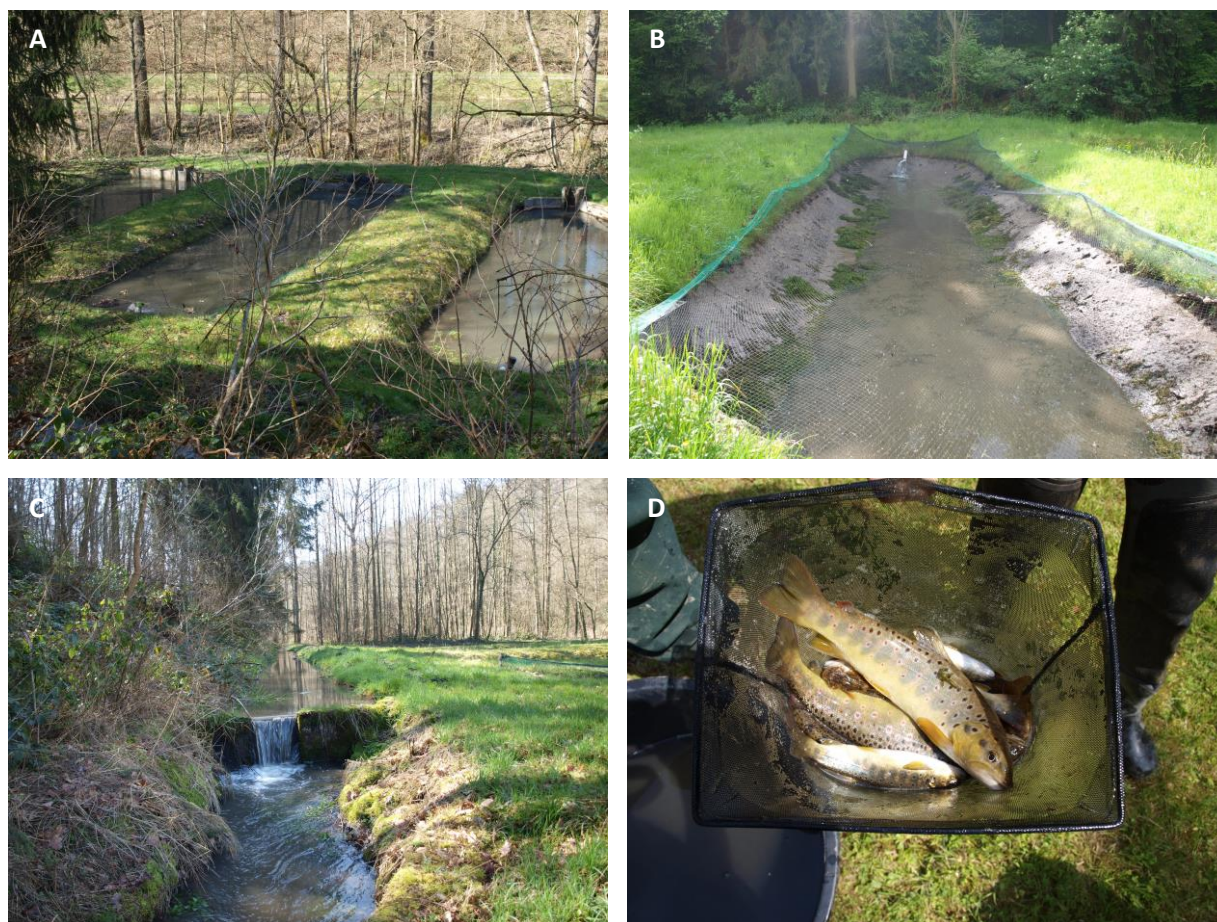


Figure X.1. Pisciculture de Germensau. (A) Vue d'ensemble des étangs utilisés pour les essais de grossissement de hotus et barbeaux. (B) Détails d'un étang lors de la vidange. (C) Bief alimentant les 3 étangs. (D) Poissons d'origine externe capturés lors de la vidange d'un étang.

Le profil thermique, au cours de la période expérimentale, a été établi grâce à un logger (Hobo, Tidbit v2) mesurant la température au fond d'un des étangs toutes les 12 h à partir de décembre 2013 (Figure X.2). Entre l'hiver et l'été, la température de l'eau a varié entre ± 5 et 15 °C.

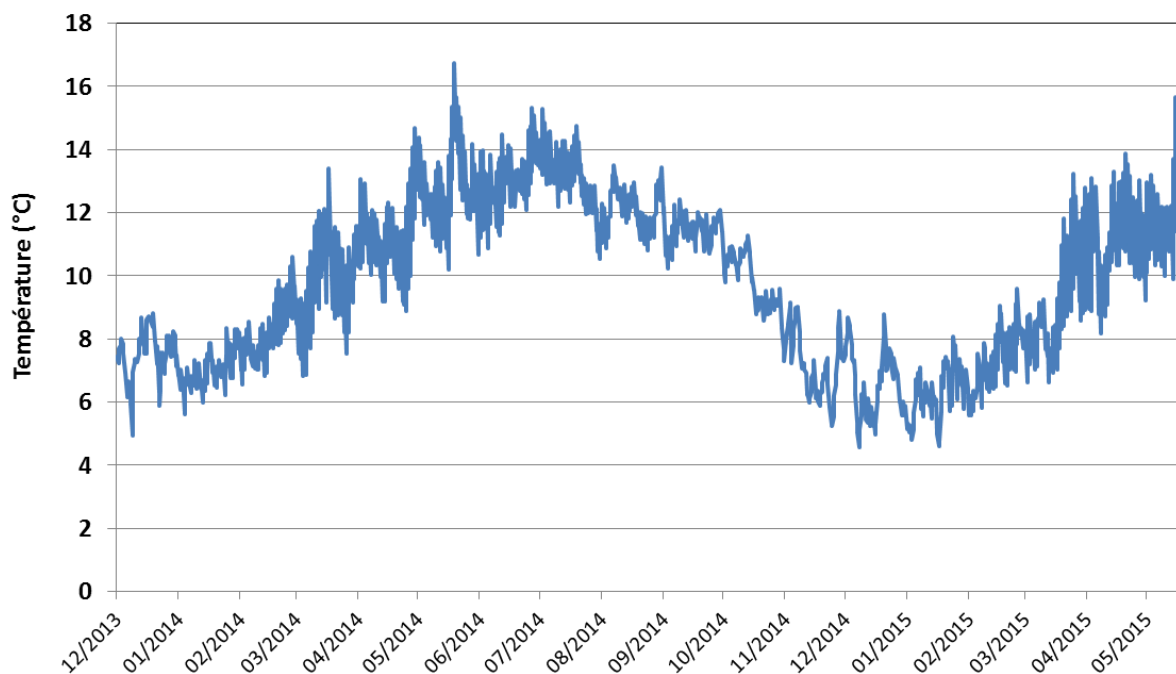


Figure X.2. Evolution de la température de l'eau durant la période de grossissement en étangs.

La profondeur maximale des étangs était de 1,2-1,4 m. Les étangs étaient à sec avant la mise en charge. L'alimentation en eau et l'évacuation de chaque étang étaient indépendantes (schéma en parallèle, Figure X.1.C). Les étangs étaient situés à proximité (quelques centaines de mètres) de la source les alimentant. Des filets anti-prédateurs étaient installés au-dessus de chaque étang (Figure X.1.B).

Durant les périodes de croissance (mars à octobre), les poissons étaient nourris tous les 2 jours avec de l'aliment Aquabio 0 ou 00.

Les biomasses de départ étaient comprises entre 100 et 300 kg/ha (tableau X.1), valeurs correspondant à ce qui est pratiqué en cypriniculture (Billard 1995; F. Henry, comm. pers.). Une vidange partielle pour contrôler les poids moyens de chaque lot (hotus – étang 1 : n = 32 ; barbeaux – étang 2 : n = 75 ; barbeaux – étang 3 : n = 127) a été réalisée le 9/05/2014. Les étangs ont été totalement vidangés le 11/06/2015, soit 625 jours après la mise en charge.

La croissance a été très faible dans les 3 étangs, les SGR étant compris entre 0,11 et 0,23 %/j. Les poids finaux étaient de 3,22 g pour les hotus et, 4,95 et 1,03 g pour les barbeaux des étangs 2 et 3

respectivement (Figure X.3, Tableau X.1). Ces valeurs sont très basses compte tenu de la croissance naturelle des hotus et des barbeaux en rivière. Dans l'Ourthe, à 2 ans, les hotus et les barbeaux peuvent atteindre des poids moyens respectifs de 25 et 10 g (Philippart, 1977). Les taux de croissance observés sont également, et naturellement bien en-deçà des valeurs mesurées en élevage intensif. Pour les 2 espèces, dans ces gammes de poids, les SGR en conditions intensives sont environ 10 x supérieurs (compris entre 1 et 3 %/j ; voir VII.3.1 et VIII.3.1).

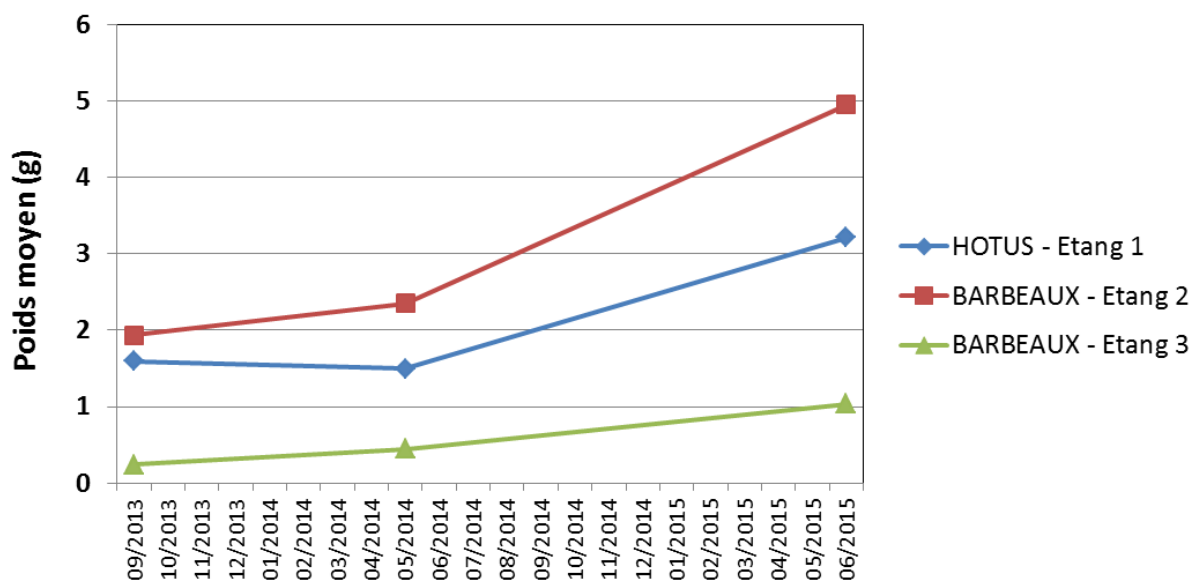


Figure X.3. Evolution du poids moyen des hotus et barbeaux élevés en étangs à la pisciculture de Germensau.

Tableau X.1. Paramètres de croissance et survie des hotus et barbeaux élevés en étangs à la pisciculture de Germensau.

	Hotus – Etang 1	Barbeaux – Etang 2	Barbeaux – Etang 3
n_i	953	1086	3269
n_f	83	111	29
Biomasse _i (kg/ha)	218	300	114
Biomasse _f (kg/ha)	38	79	4
Pm _i (g)	1,60	1,93	0,24
Pm _f (g)	3,22	4,95	1,03
SGR (%/j)	0,11	0,15	0,23
L _f	69 ± 4	75 ± 12	45 ± 4
K _f	0,98	1,17	1,14
Survie (%)	8,7	10,2	0,9

n_i : effectif initial ; n_f : effectif final ; Biomasse_i: biomasse initiale ; Biomasse_f: biomasse finale ; Pm_i: poids moyen initial ; Pm_f: poids moyen final ; SGR : taux de croissance spécifique ; L_f: longueur à la fourche finale ; K_f: coefficient de condition final.

X. Transfert des techniques d'élevage vers les producteurs

La faible croissance observée résulte principalement du régime thermique de ces étangs, particulièrement en période estivale, les températures ne dépassant pas 15 °C. Cette remarque est surtout vraie chez le barbeau pour lequel un arrêt de la croissance des juvéniles a été rapporté en-dessous de 13,5 °C dans l'Ourthe (Baras & Philippart, 1999). Dans cet essai de grossissement, la croissance de cette espèce a donc été limitée entre fin mai et mi-août.

Même si le hotu est une espèce un peu moins thermophile, les températures rencontrées se situent dans le bas de la gamme de température optimale. La croissance des hotus a cependant été encore plus faible que celle des barbeaux, et les poissons récoltés au mois de juin présentaient des coefficients de condition assez bas ($K = 0,98$), comparables à ceux observés en fin de période hivernale (voir VII.3.2).

Les mauvais résultats de croissance obtenus pour le hotu pourraient aussi résulter d'un manque de nourriture naturelle disponible pour cette espèce. A ce stade, les juvéniles ont déjà un comportement alimentaire de racleur du biofilm sur des substrats caillouteux ou rocheux. Or, le fond des étangs de grossissement est recouvert de vase et n'offre pas de substrat adéquat à l'expression de ce comportement.

La survie a également été très faible, ne dépassant pas 10 %. La mortalité a même été presque totale dans l'étang 3, contenant des barbeaux de petite taille, où moins d'1 % des poissons mis en charge ont été récoltés en fin d'expérience. Ces mortalités importantes expliquent les diminutions de biomasse observées en fin d'expérience.

Les faibles taux de survie observés sont probablement la conséquence de la présence de truites dans les 3 étangs (poids moyen = 83,5 g ; étang 1 : $n = 10$; étang 2 : $n = 4$; étang 3 : $n = 4$) (Figure X.1.D).

Malgré la situation des étangs, à proximité de la source les alimentant, de nombreux poissons exogènes ont pénétrés dans les étangs, amenés par l'alimentation en eau. Différentes espèces ont été identifiées : truite fario, chabot, ablette spirin, tanche et petite lamproie. Dans les 3 étangs, la biomasse finale de poissons intrus (étang 1 : 1410 g ; étang 2 : 661 g ; étang 3 : 782 g) était plus élevée que la biomasse de hotus ou barbeaux.

Globalement, cet essai montre la difficulté de réaliser le grossissement de barbeaux et hotus en étang. Les résultats médiocres observés dans ce cas-ci pourraient être fortement améliorés dans une autre situation, offrant un profil thermique plus favorable et limitant la pénétration de prédateurs piscivores. Cependant, le manque de contrôle de ce mode d'élevage rend la production peu efficace et peu prévisible.

3. EVALUATION DE L'INTÉRÊT PORTÉ PAR LES ACTEURS HALIEUTIQUES ET ENVIRONNEMENTAUX AU DÉVELOPPEMENT DE MESURES DE RESTAURATION DES POPULATIONS DE HOTUS ET BARBEAUX EN WALLONIE

En mars 2014, une enquête visant à déterminer l'intérêt porté aux hotus et barbeaux, ainsi que la demande potentielle pour ces deux espèces (en termes quantitatif et financier) dans le cadre d'un programme de restauration, avait été adressée à l'ensemble des fédérations de pêche et contrats de rivière wallons.

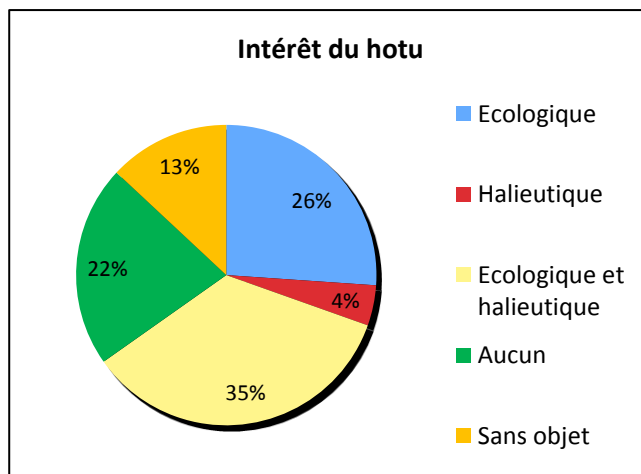
Parmi les 30 fédérations, groupes, unions, ligues et sociétés de pêche invités à répondre au questionnaire, 20 ont complété et renvoyé le formulaire : fédérations piscicoles des sous bassins de l'Escaut et de la Lys, du sous-bassin de la Haine, des sociétés de pêche et de pisciculture du centre, du bassin de la Dyle, des sous-bassins de la Sambre et de l'Oise, des sociétés de pêche les amis de la Meuse Liégeoise, des sociétés de pêche Vesdre, des sociétés de pêche de l'Ourthe non banale, des sociétés de pêche de la Semois namuroise, des pêcheurs du bassin de la Sûre, des sociétés de pêche de la Haute Semois, l'Union des pêcheurs de l'Ourthe Amblève, le Groupement des Sociétés de pêche de l'Ourthe banale, la Ligue royale des pêcheurs de l'Est, les sociétés Mehaigne et Mehaigne 2000 et la société de pêche la Truite Stavelot.

Trois des 15 contrats de rivière ont également participé à cette enquête : contrats de rivière Dyle Gette, Sambre et affluents et contrat de rivière de la Vesdre.

Un résumé des réponses obtenues aux 8 questions adressées dans ce questionnaire est présenté ci-dessous.

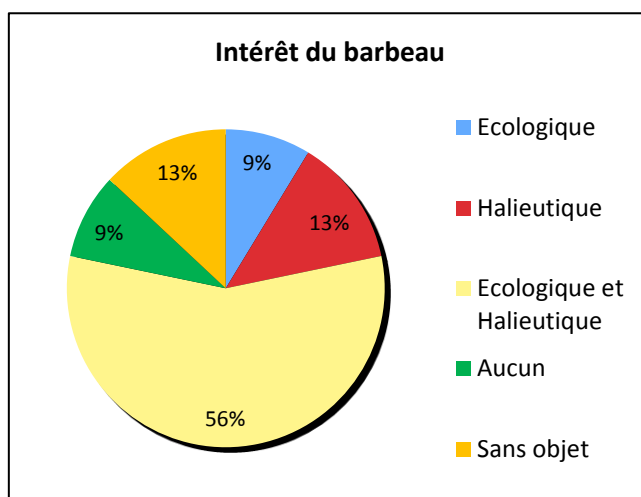
1. Quel intérêt a pour vous le hotu ?

- Écologique
- Halieutique
- Aucun
- Autre (expliquez) :



2. Quel intérêt a pour vous le barbeau ?

- Écologique
- Halieutique
- Aucun
- Autre (expliquez) :



Dans les questions 1, 2, 3 et 4, les 13 % de réponses « sans objet » concernent des fédérations de pêche couvrant des territoire où les deux espèces sont absentes (ou quasiment absentes). Ces fédérations (fédération des sociétés de pêche et de pisciculture du centre, fédération piscicole des sous bassins de l'Escaut et de la Lys, fédération du bassin de la Dyle) ne se sentent donc pas concernées par cette démarche.

Globalement, l'intérêt (principalement halieutique) porté par les pêcheurs au barbeau est plus important que celui porté au hotu, pour lequel 22 % des répondants ne marquent aucun intérêt, contre 9 % pour le barbeau.

4. Seriez-vous intéressé par une offre régulière en hotus / barbeaux dans le cadre d'une action plus générale de restauration des populations locales ?

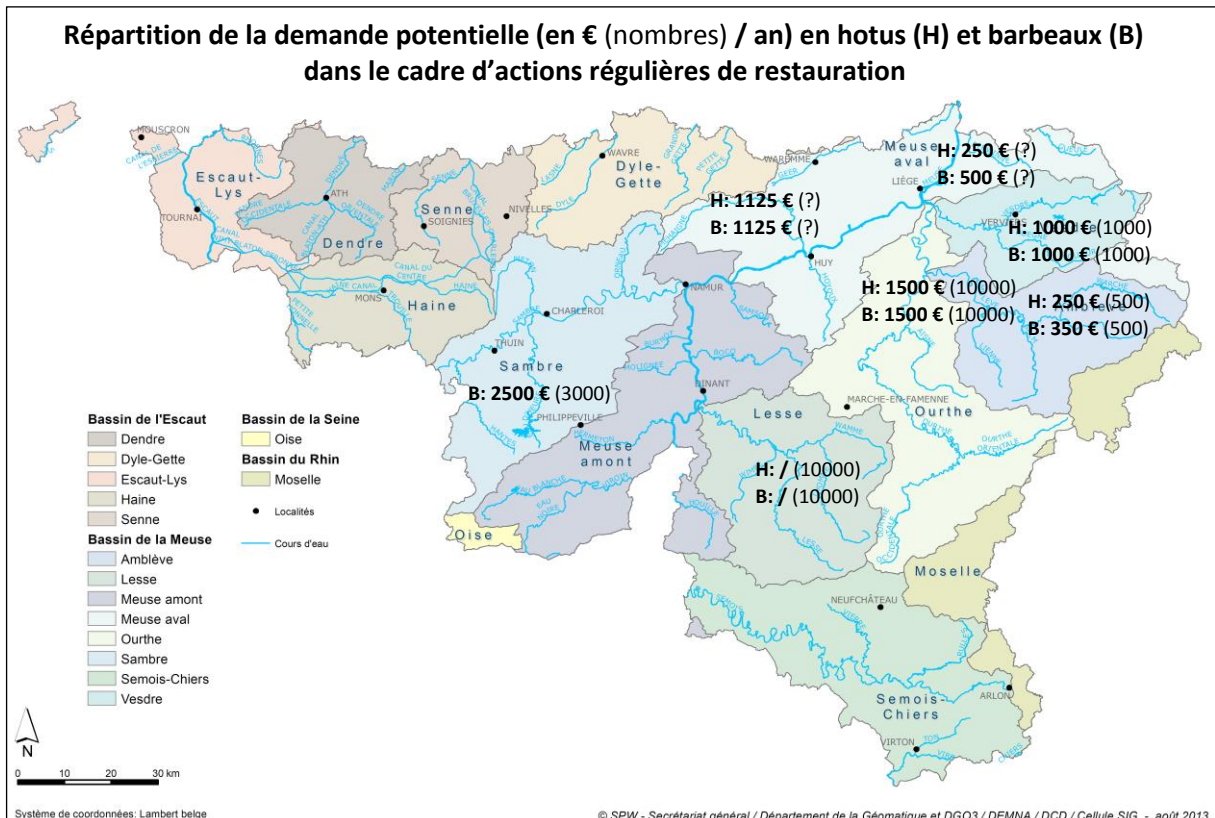
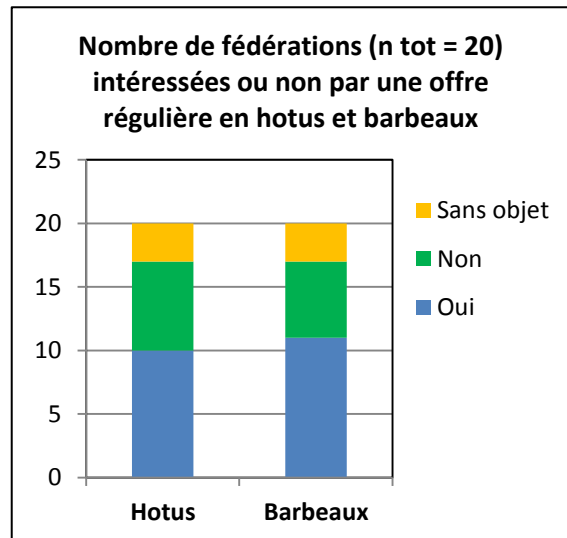
Hotus : Oui Non

Barbeaux : Oui Non

Si oui, quel budget seriez-vous prêts à allouer à cette action ?

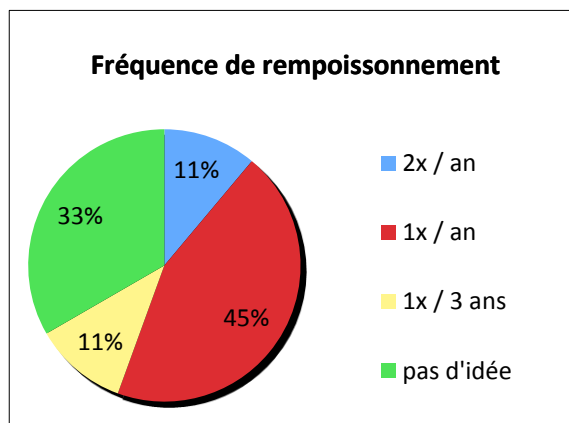
Budget total hotus : 4125 € / an

Budget total barbeaux : 6975 € / an



X. Transfert des techniques d'élevage vers les producteurs

Si oui, combien d'individus (voir carte ci-dessus), de quel âge (poids / taille) (voir question 7) et à quelle fréquence souhaiteriez-vous acheter des hotus / barbeaux ?



Les réponses aux questions 3 et 4 ne tiennent pas compte des 3 contrats de rivières, qui, bien qu'intéressés par la démarche, ne disposent d'aucun budget pour l'achat de poissons de repeuplement.

Sur les 20 fédérations/sociétés de pêche ayant répondu, la moitié (10 pour le hotu et 11 pour le barbeau) sont intéressées par une offre ponctuelle ou régulière en poissons de repeuplement : fédération du sous-bassin de la Haine, société de pêche la Truite Stavelot, Union des pêcheurs de l'Ourthe Amblève, Ligue royale des pêcheurs de l'Est, fédération des sociétés de pêche Vesdre, fédération des sociétés de pêche les amis de la Mehaigne et de la Soëlhe, société Mehaigne, fédération des sous-bassins de la Sambre et de l'Oise, fédération des sociétés de pêche de la Haute Semois, fédération des pêcheurs à la ligne de la basse Meuse Liégeoise et fédération de la Lesse et la Lhomme.

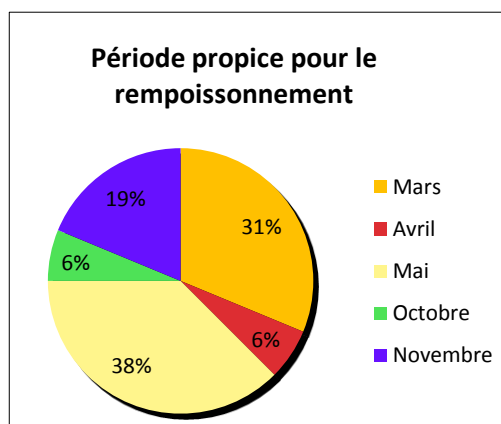
Parmi elles, 5 sont prêtes à allouer un budget compris entre 500 et 3125 € / espèce, de manière ponctuelle (budget total hotus : 8125 € ; barbeaux : 10625 €). Cette demande se répartit sur les sous-bassins de la Sambre (barbeau uniquement), de l'Ourthe, de la Vesdre, de la Meuse aval, ainsi que sur la Mehaigne.

Par ailleurs, 7 sont prêtes à allouer un budget régulier annuel de 250 à 2500 € / espèce (budget total hotus : 4125 €/an ; barbeaux : 6975 €/an). Cette demande se répartit sur les sous-bassins de la Sambre (barbeau uniquement), de l'Ourthe, de la Vesdre, de la Meuse aval, de l'Amblève, de la Lesse, ainsi que sur la Mehaigne.

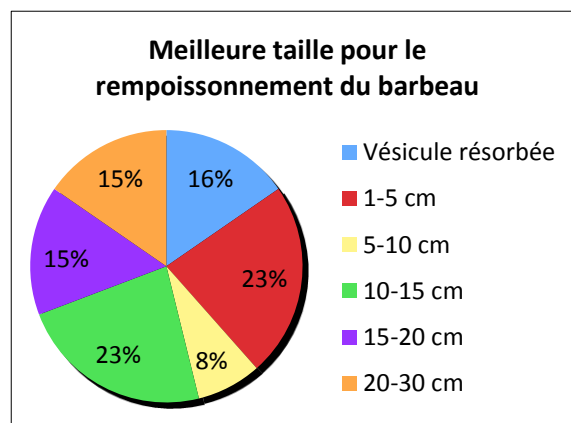
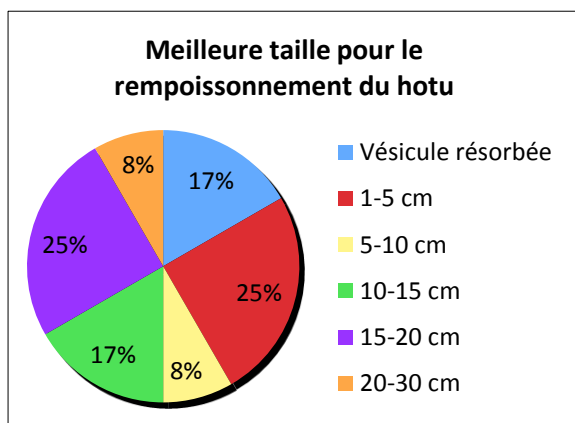
La fréquence de rempoissonnement la plus souvent citée (45 % des réponses) est annuelle.

5. Quelle serait, selon vous, la période la plus propice pour le repoissonnement de ces deux espèces ?

75 % des répondants proposent de réaliser les repoissonnements au printemps (mars à mai) contre 25 % en automne (octobre – novembre).

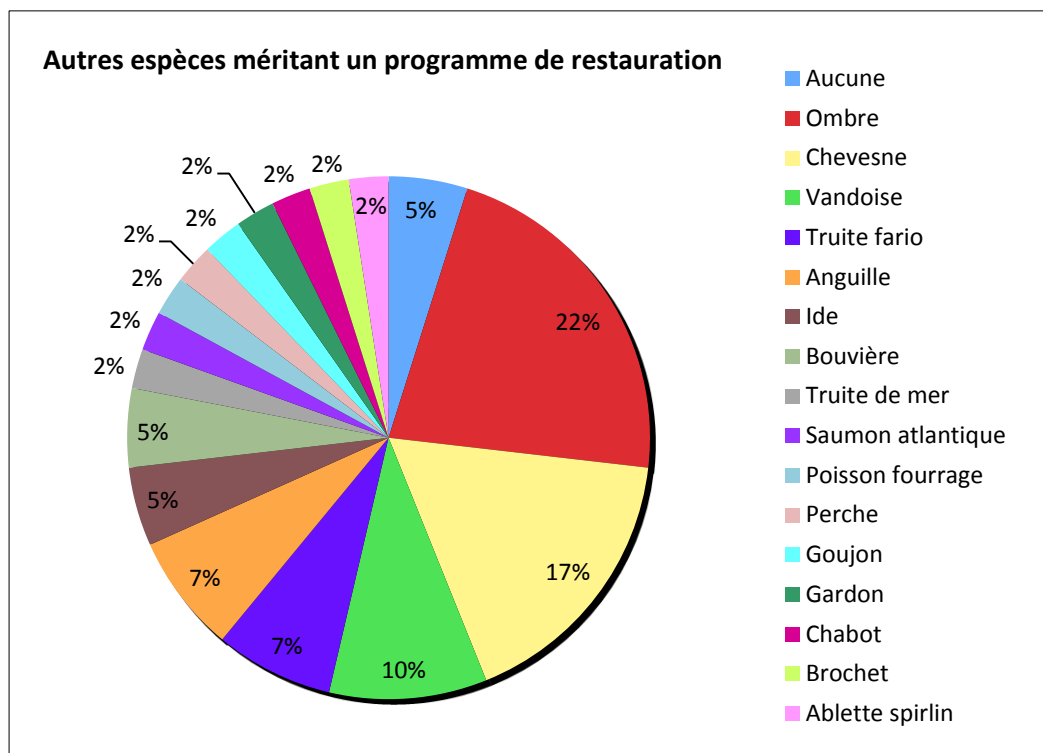


6. Quelle serait, selon vous, la meilleure taille pour le repoissonnement ?



Deux tendances semblent se dégager concernant les tailles proposées pour les repoissonnements : la première suggestion est d'utiliser des alevins de très petite taille (< 5 cm), voire des larves à vésicules résorbées (42 % des réponses concernant le hotu ; 39 % des réponses concernant le barbeau). La seconde vise des poissons de plus grande taille, > 10 cm (42 % des réponses concernant le hotu ; 53 % des réponses concernant le barbeau).

7. A votre avis, d'autres espèces de poissons mériteraient-elles le même type de démarche de restauration ?



Les 3 principales espèces citées sont l'ombre, le chevesne et la vandoise.

8. Avez-vous des commentaires ou propositions ?

Cette question a suscité de nombreux commentaires et des positions différentes, parfois tranchées, sur la problématique du repeuplement d'espèces patrimoniales. Une compilation des principales remarques émises figure ci-dessous. Celles-ci sont retranscrites telles quelles.

« Intéressé s'il existe des possibilités budgétaires liées au Fonds Piscicole de Wallonie. »

« La Région Wallonne étant propriétaire de la rivière, il nous paraît logique qu'elle consente à lever des fonds pour rétablir la diversité piscicole... ces opérations n'auront de sens que lorsque des mesures de contrôle du grand cormoran seront mise en œuvre. »

« Nous constatons sur l'Ourthe et l'Amblève une régression des populations de barbeaux et hotus. Pour certaines de nos sociétés, les rempoissonnements en barbeaux et hotus sont une priorité. »

X. Transfert des techniques d'élevage vers les producteurs

« Dans l'attente d'un plan global de régulation du cormoran, nous n'entreprendrons rien qui puisse nous coûter de l'argent destiné à nourrir lesdits volatiles. »

« Nous sommes bien sûr extrêmement intéressés par cette démarche. Nous avons déjà bénéficié d'une démarche similaire pour la réimplantation du barbeau par Mr. Philippart. Cette démarche a porté ses fruits, puisque nous constatons des prises allant de 4 cm à 60-70 cm. Je pense que ce serait bien de renforcer cette présence. Pour le hotu, actuellement, on en prend très très très peu. Mais nous sommes assez intéressés de faire une vraie tentative de réintroduction à des endroits appropriés... Comme vous le voyez nous aimerions vraiment être fortement conseillés scientifiquement. »

« En matière de repeuplement, il faudrait voir ce que va prévoir chaque plan de gestion piscicole et halieutique de sous-bassin. »

« Le barbeau se reproduit actuellement dans certains affluents de la haute Sambre et est présent dans certains déversoirs. Nous souhaiterions continuer les déversements entrepris dans les années 80, par l'ULG et ensuite dans les années 2000 par nos soins. »

« Le hotu est une espèce réellement sans intérêt (ni halieutique ni gastronomique), le barbeau est très intéressant du point de vue halieutique, mais en nombre plus que suffisant dans l'Ourthe. »

« Nous ne sommes pas favorables à l'introduction ou réintroduction de hotus et barbeaux. Il existe en Mehaigne des frayères où le gardon, le vairon, l'ombre se reproduisent. Nous craignons que celles-ci soient mises à mal par ces deux espèces. Il serait plus judicieux de repeupler en gardons, ombres et truitelles qui sont des poissons que tous les pêcheurs apprécient. »

« Le hotu a la réputation de mettre à mal le frai d'autres espèces. Quelles espèces présentes depuis toujours en Mehaigne seraient concurrencées par les hotus et barbeaux ? Laissons se développer les espèces naturellement présentes en laissant une exception pour ombres et truites dans la mesure où les pêcheurs sont en très large majorité des 'moucheurs'. »

Conclusions

Environ la moitié des fédérations halieutiques wallonnes seraient intéressées par un programme de restauration des populations de hotus et barbeaux dans leur secteur. Certaines, bien que fortement intéressées, souhaiteraient une aide financière de la part du service public ou du fonds piscicole. Cette situation concerne notamment la Lesse, la Semois et la Haine. D'autres sont prêtes à investir une part de leur budget dans un tel programme. Cette demande est répartie sur la Sambre et le

X. Transfert des techniques d'élevage vers les producteurs

bassin Meuse aval (Mehaigne, Ourthe, Amblève, Vesdre) et le budget total récurrent s'élèverait potentiellement à 4125 € pour le hotu et 6975 € pour le barbeau.

Cette demande revêt un intérêt modéré dans les secteurs où les populations des deux espèces semblent s'être maintenues à un niveau acceptable, comme c'est le cas sur la basse Ourthe, la basse Amblève et la basse Lesse. Par contre, elle est particulièrement intéressante dans des secteurs où les populations ont été plus fortement affectées et nécessitent un effort de restauration plus important comme dans la bassin de la Sambre, la moyenne et la haute Amblève, la Vesdre, la Mehaigne et la Berwinne (Meuse aval).

Cependant, dans d'autres régions nécessitant des efforts de restauration (sous-bassin de la Chiers, haute Ourthe, Ourthe orientale et occidentale, sous-bassin du Viroin, haute Semois), aucun intérêt ne s'est manifesté ; soit aucune réponse n'a été obtenue, soit la réponse dénote un manque d'information ou de conseil scientifique.

Le plan de repoissonnement privilégié par la majorité des fédérations serait basé sur un déversement annuel au printemps avec soit des alevins dont la taille est inférieure à 5 cm, voire à vésicule résorbée, soit des juvéniles de taille supérieure à 10 cm.

Peu de réponses à ce questionnaire ont été obtenues de la part des contrats de rivières qui se sentent impliqués de manière moins directe dans les repeuplements que les fédérations halieutiques et qui n'ont pas de budgets prévus pour ce type de programmes.

XI. CONCLUSIONS

Les résultats présentés dans ce rapport apportent les prérequis nécessaires à la mise en place d'un programme de repeuplement pour deux espèces de cyprinidés rhéophiles en Wallonie : le hotu et le barbeau.

Les changements progressifs du caractère naturel de nos rivières, résultant des activités humaines, ont conduit à une régression des espèces de poissons rhéophiles qui exigent de disposer d'habitats distincts, tels que des tronçons de rivière exempts d'obstacles permettant leur libre circulation, d'un accès à des zones de frai et d'une bonne qualité d'eau.

La conservation de nos espèces piscicoles patrimoniales doit donc se faire par une approche globale intégrant des mesures destinées à améliorer la qualité de l'eau et de l'habitat, notamment par la restauration des caractéristiques hydromorphologiques et la défragmentation de nos cours d'eau. Néanmoins, des espèces sensibles comme le hotu et le barbeau ont déjà fortement régressé, voire disparu de certains cours d'eau, et des repeuplements sont indispensables pour assurer la pérennité de ces populations.

La mise en place d'un programme de repeuplement raisonné, basé sur la production contrôlée d'alevins de qualité et génétiquement identifiés nécessite plusieurs étapes :

1. Identifier les zones en déclin.

Les connaissances actuelles sur l'état des populations de hotu et barbeau en Wallonie sont décrites dans les sections IV.2 et V.2. Il est difficile d'avoir une idée précise de l'état actuel des populations de ces deux espèces. Bien que des cas d'expansion aient été observés, la dynamique en cours de restauration de l'habitat, et le cycle de vie de ces espèces (maturité tardive, grande longévité) font de la recolonisation un processus lent et le constat de régression des populations établi par Philippart & Vranken en 1983 permet probablement d'identifier encore aujourd'hui les populations nécessitant en priorité un soutien ou une restauration de leurs effectifs.

Pour le hotu, il s'agit des populations de la haute Semois, du sous-bassin du Viroin et de la Sambre, de l'Ourthe occidentale, la haute Ourthe, l'Amblève, l'Hermeton, la Mehaigne, la Berwinne et l'Our.

Pour le barbeau, il s'agit des populations de la haute Semois, de la Vire, du Ton, de la Vierre, du sous-bassin du Viroin et de la Sambre, dans la haute Ourthe, l'Ourthe occidentale et l'Ourthe orientale,

l'Amblève, la Vesdre, la Meuse, la Berwinne, la basse Meuse, la Sûre et l'Our, ainsi que le bassin de l'Escaut.

La localisation des problèmes de régression des populations doit aller de pair avec l'identification des causes de ce déclin. Celle-ci est primordiale s'il on veut remédier au problème et garantir une réimplantation durable de l'espèce dans son habitat naturel. Un repeuplement de conservation (au sens large) n'a en effet de sens que si les causes écologiques, et souvent anthropiques (pollutions, fragmentation des cours d'eau, dégradation de l'habitat et des frayères, surpêche, ...) de ce déclin ont disparu, ou sont du moins endiguées, laissant place à un habitat écologiquement favorable au maintien de l'espèce à long terme. Ces aspects sortent cependant du cadre de ce projet.

2. *Maîtriser les techniques d'élevage.*

La maîtrise des techniques d'élevage est évidemment nécessaire pour produire de façon contrôlée des alevins destinés au repeuplement. Si certains aspects de l'élevage de ces deux espèces étaient déjà connus, en particulier chez le barbeau, de nombreux autres ont été mis au point ou développés afin de maîtriser l'ensemble du cycle de production (reproduction, élevage larvaire et grossissement).

En particulier, la première reproduction à partir d'un stock captif de hotu a été menée avec succès. Par ailleurs, l'élevage larvaire et la croissance des juvéniles des deux espèces ont été envisagés à divers niveaux d'intensification des conditions d'élevage afin de rencontrer différentes situations de production, en termes d'infrastructure et de température principalement. L'accent a cependant été mis sur la production intensive en circuit recirculé qui permet une standardisation des conditions d'élevage, assurant une bonne planification de la production et des performances de croissance et de survie satisfaisantes.

Cependant, bien qu'un contrôle poussé des conditions d'élevage (circuit recirculé) soit le système le plus recommandé pour la production de hotus et barbeaux, une production dans des systèmes plus extensifs, en circuit ouvert, en bassin extérieurs ou en étangs, est tout à fait envisageable et rencontrera probablement plus facilement les contraintes et les structures d'élevage existantes en Wallonie. Dans ce cas, le choix du site, et en particulier des conditions thermiques, sera primordial pour permettre une croissance suffisante. En effet, le hotu et le barbeau sont des cyprins relativement thermophiles qui ne peuvent être élevés dans des conditions de salmoniculture stricte où la température est trop basse pour offrir des performances de croissance acceptables. Une température plus élevée (supérieure à 16 °C en été) est donc recommandée, en utilisant si nécessaire des moyens techniques pour réchauffer l'eau (p. ex. couverture des étangs).

Enfin, si les résultats acquis au cours de ce projet permettent un contrôle complet des différentes phases d'élevage, certains aspects zootechniques devraient encore être explorés, en particulier le suivi des cycles de maturation sexuelle et des performances de reproduction des géniteurs captifs.

Ceci serait particulièrement intéressant pour préciser les capacités de production des hotus au-delà de la première année de maturation sexuelle, et déterminer si le changement de dynamique de maturation ovarienne, d'un mode synchrone vers un mode asynchrone, permet la production de pontes multiples au cours d'une saison.

Par ailleurs, un suivi à long terme des stocks captifs de géniteurs permettra de mettre en place un programme de gestion permettant de définir la fréquence de renouvellement des géniteurs. En effet, dans la nature, la sénilité est atteinte dans une fraction de la population chez des femelles hotu de plus de 12 ans (> 42 cm) et des femelles barbeau de plus de 15 ans (> 50 cm), c'est-à-dire des poissons s'étant reproduit au moins 6 et 9 fois respectivement. Ce phénomène se traduit par une diminution de la fécondité et donc du potentiel reproducteur (Philippart, 1977). La question se pose donc de savoir combien de saisons de reproduction un géniteur captif est-il capable de maintenir son potentiel reproducteur ; d'autant plus chez une espèce présentant une maturité précoce et produisant des pontes multiples comme le barbeau.

L'ensemble des résultats présentés dans les chapitres VII et VIII, consacrés à la maîtrise des techniques d'élevage, font l'objet de documents techniques spécifiques décrivant l'élevage des deux espèces. Ces documents seront prochainement édités et diffusés auprès des acteurs de la production.

3. *Constituer des stocks de géniteurs génétiquement identifiés*

Tout programme de restauration ou de soutien doit en effet éviter l'introduction de poissons d'origine inconnue ou allochtone, et être basé sur l'utilisation des stocks génétiques naturels et identifiés. Afin de garantir la qualité des alevins produits, les stocks de géniteurs captifs génétiquement identifiés devront être produits à partir d'individus capturés dans le milieu naturel, reflétant la structure génétique des populations sauvages.

Les résultats de la caractérisation génétique des populations wallonnes de hotu ont révélé une structuration génétique en deux groupes, un comprenant les populations issues des rivières du bassin de la Meuse (Ton, Semois, Meuse, Ourthe, Amblève), l'autre l'Our, seule rivière du bassin du Rhin analysée. Sur base des résultats actuels, il est donc suggéré de considérer ces deux groupes

(bassin mosan vs bassin rhéan) comme des unités de conservation dans la gestion future des populations et des programmes de repeuplement.

Pratiquement, cela implique la constitution d'une souche synthétique mosane formée d'un stock de géniteurs captifs issus de différentes rivières appartenant au bassin de la Meuse d'une part, et d'un stock rhéan provenant de l'Our d'autre part, si des repeuplements sont entrepris dans les rivières wallonnes appartenant aux bassins du Rhin.

Si dans le cas de la souche mosane, la diversité génétique est élevée dans plusieurs populations et le mélange de poissons d'origines différentes devraient contribuer à augmenter cette diversité, la population de l'Our montre elle un coefficient de consanguinité positif. Une mesure de la diversité génétique sera nécessaire dans le stock constitué afin de garantir une variabilité suffisante dans les poissons réintroduits. S'il n'était pas possible de garantir une diversité suffisante avec des poissons provenant de l'Our uniquement, il est envisageable d'introduire dans cette souche des poissons de la Sûre, après avoir vérifié qu'ils présentent une identité génétique semblable aux poissons de l'Our.

Par ailleurs, si des repeuplements sont envisagés dans une rivière qui constitue à elle seule une unité de gestion, et connaissant la difficulté et la quantité de travail associées à la constitution d'un stock captif spécifique, la question se pose de savoir s'il n'est pas plus avantageux d'augmenter le recrutement de juvéniles dans cette population en repeuplant avec des poissons issus de reproduction réalisées directement avec des géniteurs sauvages locaux.

La structuration génétique du barbeau est moins claire en raison des multiples introductions de poissons d'origines différentes réalisées par le passé. Sur base des analyses réalisées, trois groupes génétiquement distincts ont été identifiés : le première regroupant les rivières du bassin mosan analysées sauf la Semois (Ton, Viroin, Lesse, Sambre, Meuse, Ourthe et Amblève), le second constitué de la Semois, et le troisième de l'Our.

Cependant, comme pour le hotu, nous recommandons de considérer deux unités de gestion distinctes pour la conservation du barbeau : une unité « bassin mosan » et une unité « bassin rhéan ». La différenciation de la population de la Semois par rapport aux autres populations du bassin mosan, devra être vérifiée, mais pourrait être liée à l'échantillonnage (tête de bassin, effet familial, ...).

Le barbeau étant naturellement présent dans le bassin de l'Escaut, la restauration de ces populations devra également être envisagée dans les secteurs où la qualité de l'eau retrouve une qualité suffisante. Actuellement, ses captures dans le bassin de l'Escaut sont anecdotiques, et les opérations de restauration devront être envisagées à partir de populations mosanes ou de populations

géographiquement plus proches provenant de France (bassin de l'Escaut) après caractérisation génétique.

Les autres remarques émises quant à la constitution des stocks de géniteurs de hotu sont également valables pour le barbeau.

Cependant, si les populations de hotu sont toutes considérées comme natives sur notre territoire, ce n'est pas le cas du barbeau pour lequel seuls des individus considérés comme appartenant à une souche native devront être utilisés pour la constitution des stocks de géniteurs. Cette distinction n'est cependant pas évidente sur base de l'analyse de l'ADN mitochondrial réalisée. Les résultats laissent en effet supposer qu'un des deux, ou les deux, haplotypes majeurs identifiés (AY331019 et KC465922) est/sont originaire(s) de Wallonie, sans pour autant exclure qu'un des deux soit allochtone ou qu'un des quatre haplotypes mineurs identifiés soit également autochtone.

Enfin, d'autres considérations devront encore être prises en compte dans le futur programme de constitution et de gestion des stocks de géniteurs. En effet, outre la connaissance des caractéristiques génétiques des géniteurs, la stratégie de gestion des géniteurs nécessaires à la production contrôlée de juvéniles doit reposer sur un nombre suffisant d'individus, limitant l'appauvrissement de diversité génétique, et sur une réduction du degré de domestication évitant toute dérive génétique ou la sélection de caractères inadaptés à des conditions environnementales naturelles.

4. Produire les poissons.

Outre l'objectif écologique et conservatoire de restauration de nos espèces piscicoles patrimoniales, ce projet, visant la mise en place d'un programme de repeuplement, a également pour vocation de fournir une opportunité de diversification de la production piscicole wallonne.

La gestion des stocks de géniteurs et des lignées génétiques devra rester sous le contrôle des pouvoirs publics. De même, étant donné le paysage de la production piscicole wallonne (dominé par des productions artisanales en système ouvert), la reproduction et l'élevage larvaire, qui constitue des phases sensibles du cycle de production, pourraient être assurés et/ou encadrés par le service public ou le corps scientifique.

Le grossissement des juvéniles jusqu'à la taille de repeuplement devrait ensuite être assuré par des producteurs, sur base de contrats de production établis avec le service public ou les fédérations halieutiques.

Le marché potentiel pour ces espèces est cependant restreint. La demande émanant des fédérations halieutiques, pour les deux espèces confondues, a été estimée à un budget d'environ 11000 €/an (et 19000 € dans le cadre d'une action ponctuelle, suite à une pollution accidentelle p. ex.).

Par ailleurs, le prix de revient (et donc le prix de vente) est difficile à estimer car il peut être extrêmement variable en fonction du mode de production, de la situation et des caractéristiques propres à chaque site de production, de l'échelle de la production, Dans l'exemple précis de l'unité de production décrite en annexe 1 des manuels d'élevage (destinée à la production de 10000 juvéniles/an), le coût de production d'un hotu de 30 g (13 cm) ou d'un barbeau de 50 g (16 cm) est estimé à 3,4 €. Ce montant tient compte du coût des installations (avec un amortissement étalé sur 10 ans), de la puissance électrique donnée et de la consommation d'aliment dans une unité intégrant le maintien des géniteurs, l'élevage larvaire et le grossissement en circuit recirculé. Il n'intègre pas la main d'œuvre, le bâtiment accueillant les installations, le pompage d'eau de nappe et d'autres frais variables d'une situation à l'autre.

En Angleterre, où le barbeau est produit, principalement pour fournir les pêcheries récréatives et sportives, le prix de vente moyen (sur 3 piscicultures¹) d'un poisson de 10-15 cm est de 5,4 €, et de 6,8 € pour un poisson de 15-20 cm. Ces prix ne sont pas très différents de ceux pratiqués par la société Piscimeuse, qui vendait des barbeaux en Wallonie à 0,375 €/cm dans les années 90.

Sur base de ces prix, si la demande pour des hotus et des barbeaux de repeuplement ne vient que des fédérations halieutiques, celle-ci représentera à peine 2000 poissons de 15 cm/an. De plus, la demande des fédérations halieutiques ne venant pas toujours des secteurs où les besoins de restauration sont les plus importants, ces démarches devront être encadrées et conseillées par le service public afin de conserver une finalité de restauration et pas uniquement halieutique.

5. *Rempoissonner*

Sur base des simulations de déversement en rivières artificielles et des avis des acteurs halieutiques, nous recommandons une taille de repeuplement pour les 2 espèces de 10 à 15 cm. En-dessous, de 5 g (environ 7-8 cm), la résistance et la survie des poissons placés dans des conditions semi-naturelles est réduite, particulièrement chez le hotu. En conditions d'élevage contrôlées et intensives, des juvéniles de 10-15 cm peuvent être produits en 1 an et déversés au printemps.

Cependant, si les expériences menées en rivières artificielles ont montré des résultats encourageants quant aux capacités d'adaptation des poissons produits, un suivi scientifique en milieu naturel des

¹ www.carpvale.com; www.riverfield.co.uk; www.whitewaterfisheries.com

futurs déversements sera nécessaire pour valider la réussite des repeuplements et les options choisies en termes de taille et de période de déversement.

Pour le barbeau, le suivi scientifique des repeuplements réalisés dans les années 80 a démontré le succès de ces opérations. L'adaptation et l'implantation des barbeaux d'élevage a particulièrement été mise en évidence dans la Mehaigne où on estime que le déversement de 10000 juvéniles de 12 cm a pu conduire au maintien de 100 femelles de plus de 35 cm susceptibles de se reproduire (Philippart, 1990).

XII. DIFFUSION DES RÉSULTATS

Les résultats issus des recherches menées dans le cadre de ce projet ont été diffusés via différents médias et manifestations :

- Les données de génotypage des microsatellites sont consultables dans la base de données Pop-Wal (UCL – SPW).
- Communication orale au colloque : *Apports scientifiques récents à la Gestion des Peuplements de Poissons et de leurs Habitats*, 30 mai 2013, Liège :
 Gennotte V., Ovidio M., Michaux J., Prignon C., Poncin P., Philippart J.C. & Mélard C.
 Développement de repeuplements raisonnés en barbeaux et hotus : amélioration des techniques d'élevage et caractérisation de la diversité génétique des populations wallonnes.
 URL : <http://hdl.handle.net/2268/150794>
- Poster au congrès : *21st Benelux Congress of Zoology*, 12-13 décembre 2014, Liège :
 Gennotte V., Michaux J., Prignon C., Ovidio M. & Mélard C.
 Genetic structure of nase, *Chondrostoma nasus*, and common barbel, *Barbus barbus* (Teleostei, Cyprinidae) populations in South Belgium rivers: toward a rational management of conservation restocking.
 URL : <http://hdl.handle.net/2268/178001>
- Présentation du projet à l'assemblée générale de l'*Union des Pêcheurs de l'Ourthe Amblève*, 8 mars 2015, Chanxhe.
- Présentation du projet à l'assemblée générale du *Conseil de Filière Wallonne Piscicole*, 19 mars 2015, Marche-en-Famenne.
- Communication orale au congrès : *Sixièmes rencontres de l'ichtyologie en France*, 24-27 mars 2015, Paris :
 Ovidio, M., Hanzen, C., Gennotte, V., Michaux, J., Benitez, J.-P. & Dierckx, A.
 Evaluation d'un test de translocation intra-rivière de hotu (*Chondrostoma nasus*) par biotéléométrie et caractérisation génétique individuelle.
 URL : <http://hdl.handle.net/2268/179863>
- Article scientifique :
 Ovidio, M., Hanzen, C., Gennotte, V., Michaux, J., Benitez, J.-P. & Dierckx, A. Is adult translocation a credible way to accelerate the re-colonization process of *Chondrostoma nasus* in a rehabilitated river? *Cybium*, sous presse.

XIII. ANNEXES

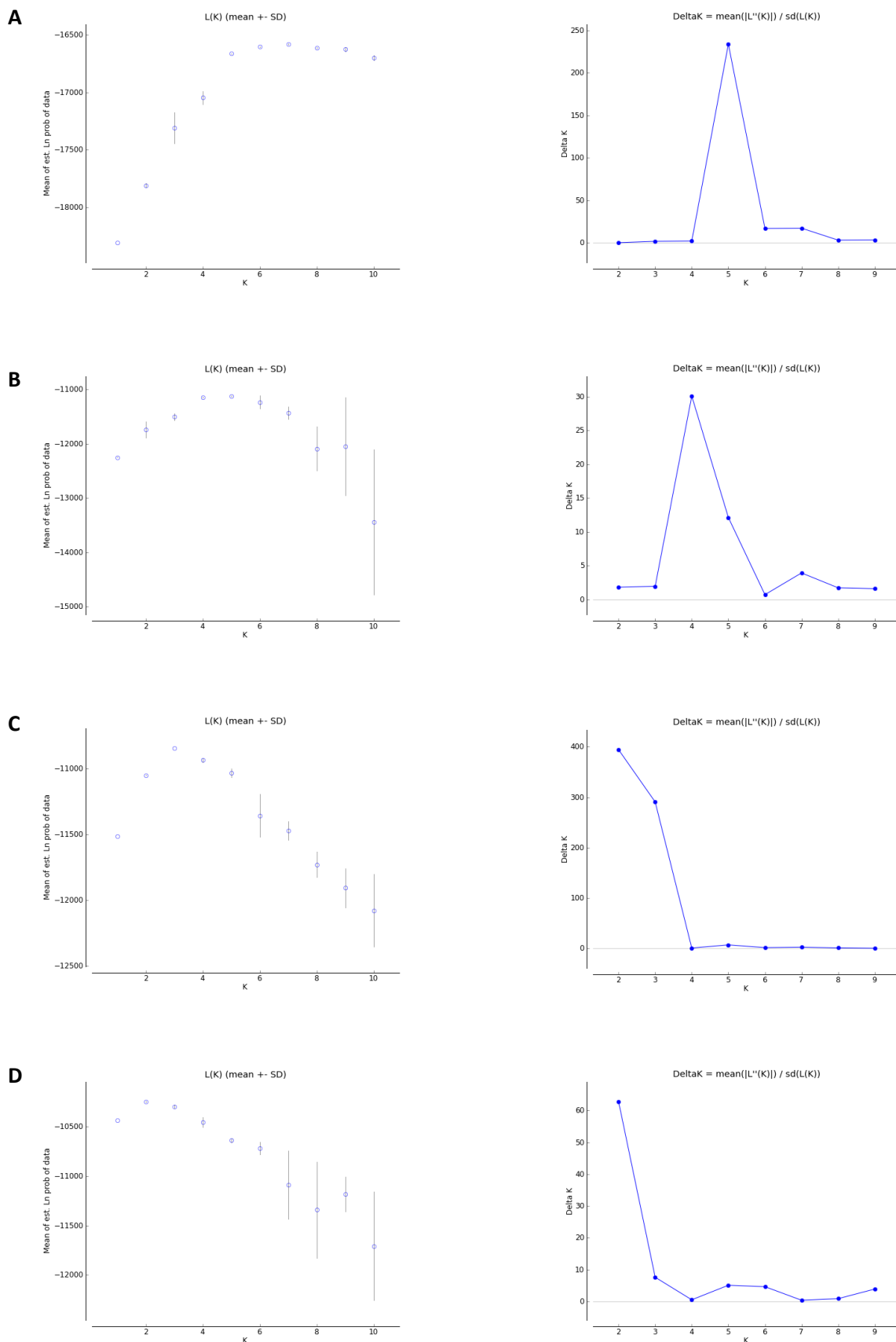
Annexe 1. Caractéristiques des 24 marqueurs microsatellites et conditions de PCR multiplex optimisées chez le hotu (*Chondrostoma nasus*) (d'après Dubut et al., 2010)).

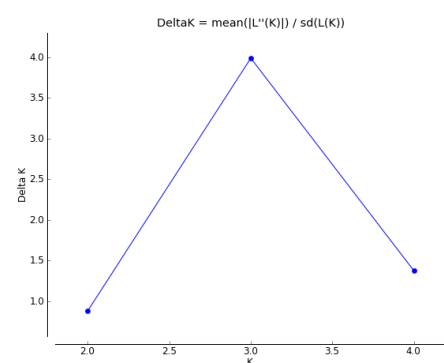
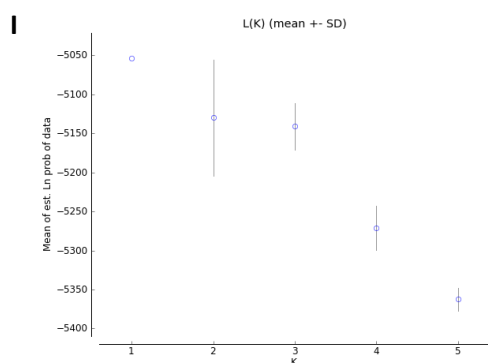
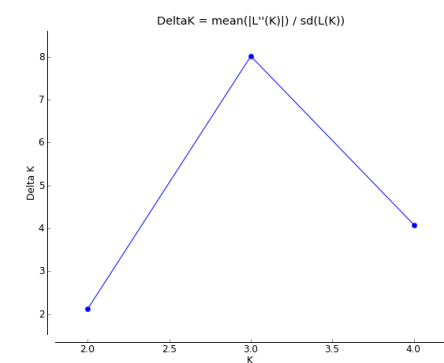
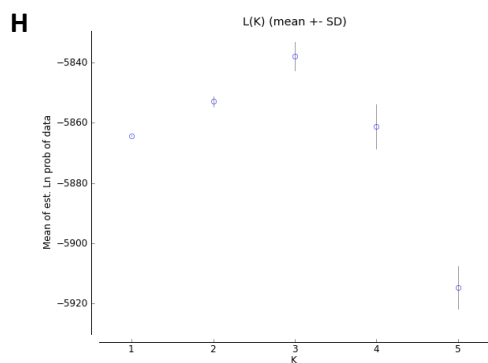
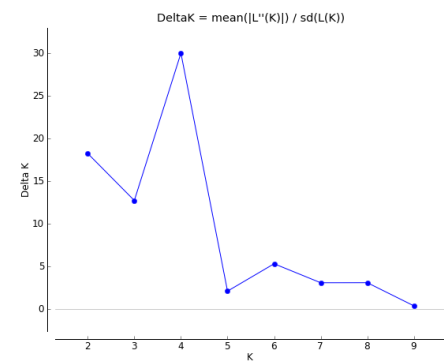
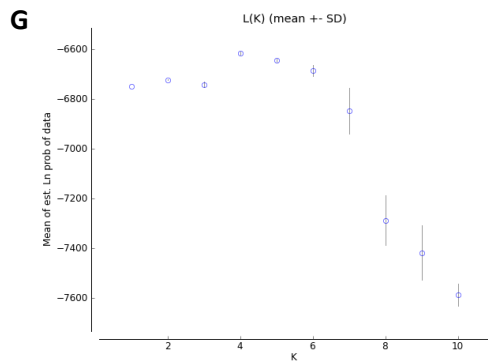
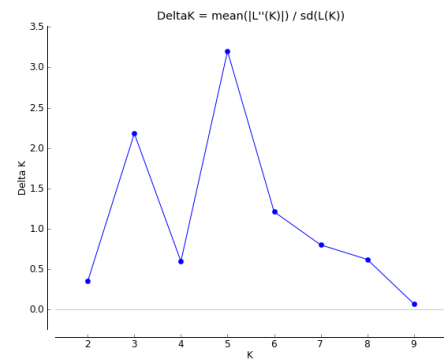
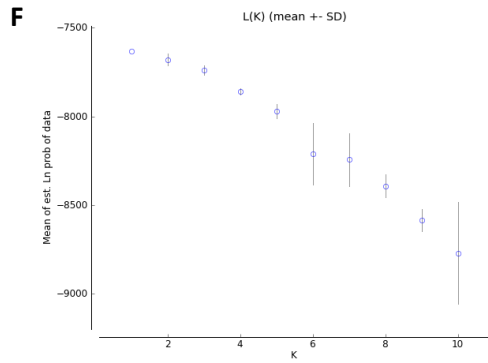
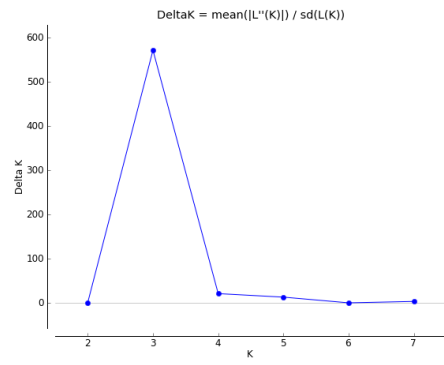
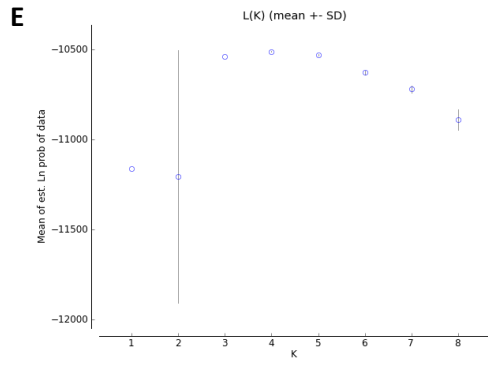
Locus	Accession GenBank	Séquence primers (5' - 3')	Motif répété	PCRs multiplex		
				Kit	μM	Fluorochrome
BL1-2b	FJ468347	F:TTTGCACTAGTAACGAGCATCA R:CAGCACAGTTTCTCCATCCA	(TG) ₁₂	A	0,1	6-FAM
BL1-30	FJ468353	F:GCGATGGCACTGATGGA R:TAAAGAGCTCGTTTGAAGCG	(AC) ₁₁	A	0,075	PET
BL1-84	FJ468346	F:CATTACTACGGCAACCACAT R:GCGAAAAGGAAAGAGACTGA	(AC) ₄ N ₂₄ (CA) ₉	A	0,05	NED
BL1-153	FJ468350	F:GACAGCTCTAATCGGTCACT R:TATGGTCAAACACGGGTCAA	(AC) ₂₀	A	0,05	6-FAM
LleA-029	FJ601714	F:TTTACCAGCATCCCCAT R:CATTCACTCACTGAAGGAGAAC	(AC) ₂₇ G(CA) ₁₁	A	0,15	NED
LleA-071	FJ601719	F:GTCTTAGATTGTGTAGCGGG R:ACTTCAGTTACTAAGAGATTAGTGA	(CA) ₆ T(AC) ₁₀	A	0,1	PET
LleC-090	FJ601722	F:TCAGACACAATAACCGACC R:GGCGCTGTCCAGAAGTGA	(TC) ₁₅ GG(TC) ₃	A	0,075	VIC
LceC1	AY962241	F:AGGTGTTGGTTCCTCCCG R:TGTTATCTCGGTTTCACGAGC	(CA) ₁₅	A	0,1	6-FAM
Lsou19	EF209008	F:TCCCGTGGAGAACTACAGG R:TTCTTCGGTGAGTGTCGATG	(GT) ₃₂	A	0,1	PET
BL1-98	FJ468349	F:ATTGTTTTCATTTTGTCAG R:CCGAGTGTCAGAGTTATT	(CA) ₉ CTAA (CA) ₃ N ₅₀ (CA) ₄	B	0,2	PET
BL2-114	FJ468352	F:ATCACTGCCATTTTATTA R:CTGCTCCGCTCTGTCCA	(TC) ₅ TA(TC) ₂₂	B	0,3	VIC
LleA-150	GU254037	F:AAAGTGTAATCCAGATGTTAAGT R:AAAGGATAATTTTCAGAGTAACGAG	(GC) ₄ (GT) ₂₂	B	0,15	PET
Lsou05	EF209002	F:CTGAAGAAGACCCTGGTTCG R:CCCACATCTGCTGACTCTGAC	(CA) ₁₇	B	0,1	6-FAM
Lsou08	EF209003	F:GCGGTGAACAGGCTTAAGT R:TAGGAACGAAGAGCCTGTGG	(GT) ₁₇	B	0,05	NED
Lsou29	EF209011	F:AAAATGATGCTGTGCAATGG R:CCATCTTTGCCCCATAACG	(GT) ₁₀	B	0,1	6-FAM
Lsou34	EF209012	F:CCAGACAGGGTGATGATTC R:GTAGCGACGTTACAGTCTCG	(GT) ₁₅	B	0,075	VIC
Ppro132	AY254354	F:GCATTTCTTTTGCTTGAAGTCTCAA R:GGTTTAACCCGATCAATGGCTGTGC	(CT) ₁₈	B	0,15	PET
CnaB-030	GU254028	F:ACGAATGAGAAGCTCGTG R:TCGTGATGAGTTTCATCCT	(AC) ₆	C	0,05	VIC
CnaD-112	GU254029	F:AACTGCACCAATATGTCAAAG R:CTGTGAGTGATTCTGGGA	(CA) ₃ (AC) ₄	C	0,1	NED
CtoA-247	GU254031	F:TGCAAACATATAAACTGAAACAAGG R:GCAGGTATATCCCAGCC	(ATC) ₇	C	0,1	VIC
CtoA-256	GU254032	F:GCTGCTCAATACGATGACTAAA R:AAGGTCCTTAATCTGCGG	(GC) ₄ (GT) ₇	C	0,1	PET
CtoE-249	GU254033	F:ATGTTGGGATGGTGGAAAT R:CAGATGCTCTGTTGAGAGG	(TG) ₃ T(TG) ₅ N ₆₂ (ACG) ₃	C	0,1	6-FAM
LCO3	AY318779	F:GCAGGAGCGAAACCATAAAT R:AAACAGGCAGGACACAAAGG	(TG) ₉	C	0,4	NED
Rser10	AJ312850	F:TGCGTAATCGTGAAGCGGTG R:GCCACTAAAGCGCAGAAGCC	(GT) ₁₂	C	0,1	6-FAM

Annexe 2. Caractéristiques des 21 marqueurs microsatellites et conditions de PCR multiplex optimisées chez le barbeau fluviatile (*Barbus barbus*) (d'après Gettová et al., 2013).

Locus	Accession GenBank	Séquence primers (5' - 3')	Motif répété	PCRs multiplex		
				Kit	μM	Fluorochrome
Barbus28	HF975636	F: GATTGTTTGGAGAGGTGGGA R: GAAGGGAAGGAAGACCCATC	(GA) ₅	D	0,1	NED
Barbus32	HF975638	F: CGAATGATTGTGGGTGTTCA R: CATGCAGCTTCCAGAACAA	(CA) ₇	D	0,2	FAM
Barbus35	HF975640	F: GCAAATGAGAAGGGTCCAGA R: TCATTGGACTGCCTGTTGAA	(AC) ₁₀	D	0,4	VIC
Barbus37	HF975642	F: CCTGAACTTGGTGCCACTT R: TCATATGATGAAAACGCTGG	(CA) ₆	D	0,3	PET
Barbus4	HF975629	F: TTTGTCCATTACTGCCCTC R: CTCGTTTGGTCCAGGACAT	(CAT) ₆	E	0,45	PET
Barbus11	HF975630	F: AGCTGGAAGGCAGTTTCTCA R: TCTGACGTACACAACCGAGC	(TG) ₅	E	0,2	FAM
Barbus21	HF975632	F: CTGTGGGAGACACAAACACG R: AATCGCTTCCAGACTGATGG	(GT) ₁₁	E	0,3	FAM
Barbus26	HF975634	F: AATCGAGCATCAAAACGTCC R: ACTGAAGGAAACGTATGGG	(CA) ₁₁	E	0,2	FAM
Barbus27	HF975635	F: ATATCCAGCCACCTTACCC R: TGCTTTAGCTGCCAGACAGA	(CA) ₇	E	0,125	VIC
Barbus31	HF975637	F: ATGTAAGGTGACTGCTGGGC R: TGAATGCAGCTTGGTTTGAC	(GT) ₉	E	0,35	PET
Barbus47	HF975644	F: TTCCTCAGTGACCTATCGC R: ATGAACACTGGGAAAGCGAG	(TC) ₆	F	0,25	FAM
Barbus55	HF975650	F: ATGCACACCGACAACCTAAA R: AGGCCAGTTACACATCCTG	(AC) ₇	F	0,4	PET
Barbus56	HF975651	F: CAGCTAATCGCCAACACAAA R: TACATGGAACGCCAGCAATA	(TC) ₇	F	0,35	VIC
Barbus57	HF975652	F: CCTGATTGAGGCCAAGGTAA R: AATTGTTACGCCACCCTAC	(TG) ₇	F	0,2	NED
Barbus63	HF975654	F: CGTCATTTAATCCCGACGTT R: GCTCCAATCGACAGACAAT	(GT) ₈	F	0,25	FAM
Barb59	U51663	F: CTGATCCATCACATAGGCT R: CATGATTTAATAGAACACACAC	(ATAG) ₆ (AAG) ₃ (ATAG) ₇ ATAT(CA) ₆	G	0,4	PET
Barb79	U51667	F: GAGTGAATCATTACATCCCT R: GCTTTTCTGTATTAGTATTT	(TACC) ₂ (TATC) ₁₉	G	0,8	NED
Barbus38	HF975643	F: CGTCTGCAAACCATGTGAGT R: AGATCCCCGTTTAGGCTGTT	(AG) ₅	G	0,2	FAM
Barbus39	HF975644	F: CTGCTGAGACGAGAAAGCAA R: AAAAGGTGCTGGTGTGGAAC	(TG) ₂ C(TG) ₆	G	0,15	VIC
Barbus50	HF975649	F: GTTACAGGCCAACGTCAAGG R: GTTAGTCTGCAATCCGCCAT	(TCT) ₁₂	G	0,2	NED
Barbus62	HF975653	F: CTCACATGATGCTGTGGCTT R: TGGAGACAGATCTGGGCTTT	(TG) ₁₁	G	0,25	NED

Annexe 3. Graphiques représentant la probabilité (avant et après correction d'Evanno) associée à la structuration génétique en un nombre K de clusters déterminée grâce à STRUCTURE HARVESTER.





XIV. BIBLIOGRAPHIE

- Baras E. 1997. Critères de sélection du gîte chez le barbeau fluviatile *Barbus barbus* dans l'Ourthe (Belgique). *Aquat Living Resour* 10:195–206.
- Baras E, Philippart J-C. 1999. Adaptive and evolutionary significance of a reproductive thermal threshold in *Barbus barbus*. *J Fish Biol* 55:354–375.
- Benitez JP, Dierckx A, Brédart D, Grandry L, Hanzen C, Ovidio M. 2013. Caractérisation des comportements de dévalaison et de montaison de poissons migrateurs en vue d'une optimisation et d'une conception des dispositifs de franchissement sur deux sites hydroélectriques de l'Amblève. Rapport final projet FEP/SPW-DGCENN (Code projet: 32-1002-004). LDPH, ULg, 214 pp.
- Bianco PG. 1998. Diversity of Barbinae fishes in southern Europe with description of a new genus and a new species (Cyprinidae). *Ital J Zool* 65:125–136.
- Billard R. 1995. Les carpes: biologie et élevage. Ed. Quae., INRA, 388 pp.
- Brett J, Groves T. 1979. Physiological energetics. In: Hoar WS, Randall DJ, Brett JR, eds. *Fish physiology*. New York: Academic Press. p 279–352.
- Briolay J, Galtier N, Brito RM, Bouvet Y. 1998. Molecular phylogeny of Cyprinidae inferred from cytochrome b DNA sequences. *Mol Phylogenet Evol* 9:100–108.
- Britton JR, Pegg J. 2011. Ecology of European barbel *Barbus barbus*: implications for river, fishery, and conservation management. *Rev Fish Sci* 19:37–41.
- Bruslé J, Quignard J-P. 2013. *Biologie des poissons d'eau douce européens (2e éd.)*. Ed. Tec et Doc Lavoisier, Cachan, 740 pp.
- Buonerba L, Zaccara S, Delmastro GB, Lorenzoni M, Salzburger W, Gante HF. 2015. Intrinsic and extrinsic factors act at different spatial and temporal scales to shape population structure, distribution and speciation in Italian *Barbus* (Osteichthyes: Cyprinidae). *Mol Phylogenet Evol* 89:115–129.
- Chenuil A, Galtier N, Berrebi P. 1999. A test of the hypothesis of an autopolyploid vs. allopolyploid origin for a tetraploid lineage: Application to the genus *Barbus* (Cyprinidae). *Heredity* 82:373–380.
- Du Z-Y, Liu Y-J, Tian L-X, He J-G, Cao J-M, Liang G-Y. 2005. The influence of feeding rate on growth, feed efficiency and body composition of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Aquac Int* 14:247–257.
- Dubut V, Sinama M, Martin J-F, Meglecz E, Fernandez J, Chappaz R, Gilles A, Costedoat C. 2010. Cross-species amplification of 41 microsatellites in European cyprinids: A tool for evolutionary, population genetics and hybridization studies. *BMC Res Notes* 3:135.
- Earl DA, vonHoldt BM. 2011. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conserv Genet Resour* 4:359–361.
- Evanno G, Regnaut S, Goudet J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol Ecol* 14:2611–2620.
- Excoffier L, Lischer HEL. 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol Ecol Resour* 10:564–567.

- Gettová L, Gilles A, Berrebi P, Šimková A. 2013. The 454 GS-FLX isolation and characterisation of microsatellites in *Barbus meridionalis* and cross-species amplification in three European tetraploid *Barbus* species: a tool for studying population genetics in hybrid zones. In: Molecular Ecology Resources Primer Development Consortium (2013). *Mol Ecol Resour* 13: 966-969.
- GIPPA. 2009. Vers une nouvelle politique des rempoissonnements. Document de synthèse du colloque de novembre 2006. Issus des travaux du Groupe de Travail « Rempoissonnements » supervisé par le Groupe d'Intérêt pour les Poissons, la Pêche et l'Aquaculture (GIPPA asbl), 220 pp.
- Van Houdt JKJ, Pinceel J, Flamand M-C, Briquet M, Dupont E, Volckaert FAM, Baret P V. 2005. Migration barriers protect indigenous brown trout (*Salmo trutta*) populations from introgression with stocked hatchery fish. *Conserv Genet* 6:175–191.
- Hudson AG, Vonlanthen P, Seehausen O. 2014. Population structure, inbreeding and local adaptation within an endangered riverine specialist: the nase (*Chondrostoma nasus*). *Conserv Genet* 15:933–951.
- Jones OR, Wang J. 2010. COLONY: a program for parentage and sibship inference from multilocus genotype data. *Mol Ecol Resour* 10:551–555.
- Keenan K, McGinnity P, Cross TF, Crozier WW, Prodöhl PA. 2013. diveRsity : An R package for the estimation and exploration of population genetics parameters and their associated errors. *Methods Ecol Evol* 4:782–788.
- Kopelman NM, Mayzel J, Jakobsson M, Rosenberg NA, Mayrose I. 2015. Clumpak: a program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. *Mol Ecol Resour* 15:1179–1191.
- Kotlík P, Berrebi P. 2001. Phylogeography of the barbel (*Barbus barbus*) assessed by mitochondrial DNA variation. *Mol Ecol* 10:2177–2185.
- Kotlík P, Bogutskaya NG, Ekmekçi FG. 2004. Circum Black Sea phylogeography of *Barbus* freshwater fishes: Divergence in the Pontic glacial refugium. *Mol Ecol* 13:87–95.
- Kottelat M, Freyhof J. 2013a. *Chondrostoma nasus*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.3. <www.iucnredlist.org>.
- Kottelat M, Freyhof J. 2013b. *Barbus barbus*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.3. <www.iucnredlist.org>.
- Kraiem MM. 1980. Structure et fonctionnement des écosystèmes du Haut-Rhône français. XXI Contribution à l'étude du régime alimentaire de *Barbus barbus* (L. 1758) (poissons, cyprinidae). *Bull Français Piscic* 278 :1–10.
- De Leeuw JJ, Winter H V. 2008. Migration of rheophilic fish in the large lowland rivers Meuse and Rhine, the Netherlands. *Fish Manag Ecol* 15:409–415.
- Livi S, de Innocentiis S, Longobardi A, Cataudella S, Tancioni L, Rampacci M, Marino G. 2013. Genetic structure of *Barbus* spp. populations in the Marche Region of central Italy and its relevance to conservation actions. *J Fish Biol* 82:806–26.
- Lusk S, Luskova V, Halacka K, Smutny M. 2003. Anglers' catches as an indicator of fish population status. *Ecology Hydrobiol* 3:111–119.
- Maier K-J, Zeh M, Ortlepp J, Zbinden S, Hefti D. 1995. Distribution et reproduction des espèces du genre *Chondrostoma* en Suisse: le nase (*C. nasus*) - la sofie (*C. toxostoma*) - la savetta (*C. soetta*). Informations concernant la pêche no 53. Office fédéral de l'environnement, des forêts et du paysage (OFEEP), Berne, 64 pp.

- Marée R, Stévens B, Rollus L, Rocks N, Lopez X, Salmon I, Cataldo D, Wehenkel L. 2013. A rich internet application for remote visualization and collaborative annotation of digital slides in histology and cytology. *Diagn Pathol* 8:S26.
- Marková S, Sanda R, Crivelli A, Shumka S, Wilson IF, Vukić J, Berrebi P, Kotlík P. 2010. Nuclear and mitochondrial DNA sequence data reveal the evolutionary history of *Barbus* (Cyprinidae) in the ancient lake systems of the Balkans. *Mol Phylogenet Evol* 55:488–500.
- Meraner A, Venturi A, Ficetola GF, Rossi S, Candiotta A, Gandolfi A. 2013. Massive invasion of exotic *Barbus barbus* and introgressive hybridization with endemic *Barbus plebejus* in Northern Italy: where, how and why? *Mol Ecol* 22:5295–312.
- Mousadik A El, Petit RJ. 1996. High level of genetic differentiation for allelic richness among populations of the argan tree [*Argania spinosa* (L.) Skeels] endemic to Morocco. *Theor Appl Genet* 92:832–839.
- Nei M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc Natl Acad Sci USA* 70:3321–3323.
- Nelva A. 1997. La pénétration du Hotu, *Chondrostoma nasus nasus* (Poisson Cyprinidé), dans le réseau hydrographique français et ses conséquences. *Bull Fr Pêche Piscic* 344/345:253–269.
- Ovidio M, Philippart JC. 2002. The impact of small physical obstacles on upstream movements of six species of fish: Synthesis of a 5-year telemetry study in the River Meuse basin. *Hydrobiologia* 483:55–69.
- Ovidio M, Parkinson D, Philippart JC, Baras E. 2007. Multiyear homing and fidelity to residence areas by individual barbel (*Barbus barbus*). *Belgian J Zool* 137:183–190.
- Ovidio M, Philippart JC. 2008. Movement patterns and spawning activity of individual nase *Chondrostoma nasus* (L.) in flow-regulated and weir-fragmented rivers. *J Appl Ichthyol* 24:256–262.
- Ovidio M, Philippart JC, Neus Y, Rimbaud G, Paquer F, Dierckx A. 2009. Développement d'une méthodologie de fixation des conditions d'installation des centrales hydroélectriques sur les cours d'eau non navigables de Wallonie afin de limiter leur impact sur la qualité écologique et les ressources piscicoles des milieux. TOME 3. Convention SPW-ULg, LDPH, 75 pp.
- Ovidio M, Hanzen C, Gennotte V, Michaux J, Benitez J-P, Dierckx A. Is adult translocation a credible way to accelerate the re-colonization process of *Chondrostoma nasus* in a rehabilitated river? *Cybiu*, sous presse.
- Peñáz M. 1996. *Chondrostoma nasus* - its reproduction strategy and possible reasons for a widely observed population decline - a review. In: Kirchhofer A, Hefti D, eds. *Conservation of Endangered Freshwater Fish in Europe*. Basel : Birkhäuser, p 279–285.
- Person-Le Ruyet J, Le Bayon N. 2009. Effects of temperature, stocking density and farming conditions on fin damage in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquat Living Resour* 22:349–362.
- Philippart JC. 1977. Contribution à l'hydrobiologie de l'Ourthe. Dynamique des populations et production de quatre espèces de poissons cyprinidae: *Barbus barbus* (L.), *Leuciscus cephalus* (L.), *Chondrostoma nasus* (L.) et *Leuciscus leuciscus* (L.). Thèse de doctorat, ULg, 225 pp.
- Philippart JC. 1981. Démographie du hotu, *Chondrostoma nasus* (Linné) (Teleostei: Cyprinidae) dans l'Ourthe (Bassin de la Meuse, Belgique). *Ann Soc R Zool Belg* 110:199–219.
- Philippart JC. 1982. Mise au point de l'alevinage contrôlé du barbeau, *Barbus barbus* (L.), en Belgique. Perspectives pour le rempoissonnement des rivières. *Cah Ethol appliquée* 2:173–202.
- Philippart JC. 1987. Démographie, conservation et restauration du barbeau fluviatile, *Barbus barbus* (Linné) (Teleostei, Cyprinidae) dans la Meuse et ses affluents. Quinze années de recherches. *Ann Soc Roy Zool Belg* 117:49–62.

- Philippart JC. 1990. Le repeuplement en barbeaux fluviatiles, [*Barbus barbus* (L.)] d'élevage dans les cours d'eau de Wallonie. Analyse approfondie des résultats obtenus dans la Méhaigne et la Meuse liégeoise en 1983-1989. Cah Ethol appliquée 10:451–548.
- Philippart JC. 1994. Convention relative à la mise au point des techniques de production du hotu, du chevaine, de la vandoise et de l'ablette spirilin en vue du repeuplement et de la restauration des rivières. Rapport au comité central du Fonds Piscicole. ULg, 19 pp.
- Philippart JC. 1995. Is captive breeding an effective solution for the preservation of endemic species? Biol Conserv 72:281–295.
- Philippart JC. 2005. Obstacles à aménager en priorité en Région wallonne. Réunion DCENN-ULg, LDPH, 22 juin 2005.
- Philippart JC. 2007. Etat de l'environnement wallon. L'érosion de la biodiversité: les poissons. Dossier scientifique réalisé dans le cadre de l'élaboration du rapport analytique 2006-2007 sur l'état de l'environnement wallon. ULg, 306 pp.
- Philippart JC, Vranken M. 1983. Atlas des poissons de Wallonie. Distribution, écologie, éthologie, pêche, conservation. Cah Ethol appliquée 3:395 pp.
- Philippart JC, Mélard C, Poncin P. 1984. Réussite de la reproduction artificielle de barbeaux [*Barbus barbus* (L.)] élevés en captivité. Perspective pour la mise en place d'un programme de restauration des populations dans le bassin de la Meuse. Cah Ethol appliquée 4:271–278.
- Philippart JC, Mélard C, Poncin P, Libois M. 1986. Développement et optimisation de la pisciculture industrielle du barbeau et du chevaine en région wallonne. Convention RW-ULg, rapport final, 50 pp.
- Philippart JC, Ovidio M. 2007. Définition de bases biologiques et éco-hydrauliques pour la libre circulation des poissons dans les cours d'eau non navigables de Wallonie. Volume 3: Identification des priorités d'action d'après les critères biologiques et piscicoles. Convention RW, DGRNE, DCENN-ULg, 71 pp.
- Philippart JC, Ovidio M. 2009. L'impact des prises d'eau industrielles et des turbinages hydroélectriques sur la dynamique des populations de poissons et la qualité de leur habitat dans les cours d'eau navigables. Le cas de la Meuse et de l'Ourthe en Wallonie. In: Journées scientifiques du GIPPA, 6 mars 2009, Gembloux.
- Policar T, Podhorec P, Stejskal V, Hamackova J, Alavi SMH. 2010. Fertilization and hatching rates and larval performance in captive common barbel (*Barbus barbus* L.) throughout the spawning season. J Appl Ichthyol 26:812–815.
- Policar T, Podhorec P, Stejskal V, Kozák P, Švinger V, Hadi Alavi SM. 2011. Growth and survival rates, puberty and fecundity in captive common barbel (*Barbus Barbus* L.) under controlled conditions. Czech J Anim Sci 56:433–442.
- Poncin P. 1984. Observations sur le contrôle environnemental de la reproduction du barbeau fluviatile *Barbus Barbus* en captivité. Effet de la température et de la photopériode. Cah Ethol appliquée 4:357–358.
- Poncin P. 1988. Le contrôle environnemental et hormonal de la reproduction en captivité du barbeau et du chevaine. Cah Ethol appliquée 8:168–337.
- Poncin P. 1989. Effects of different photoperiods on the reproduction of the barbel, *Barbus barbus* (L.), reared at constant temperature. J Fish Biol 35:395–400.
- Poncin P. 1993a. Biologie de la reproduction du barbeau (*Barbus barbus*) en captivité. Influence des facteurs environnementaux et hormonaux. Cah Ethol 13:171–173.
- Poncin P. 1993b. La reproduction des poissons de nos rivières. Cah Ethol 13:317–342.

- Poncin P, Castelli M. 1990. Manipulation photopériodique des saisons de reproduction chez le barbeau (*Barbus barbus*). Bilan de deux années d'application des techniques. Cah Ethol appliquée 10:447–450.
- Poncin P, Philippart J-C, Mélard C, Gillet A. 1990. Note sur une expérience de production artificielle et d'alevinage du hotu (*Chondrostoma nasus*). Perspectives pour le repeuplement des rivières. Cah Ethol appliquée 10:161–168.
- Poncin P, Philippart JC. 2002. The role of aquaculture in fish conservation: a case study of *Barbus barbus* in Belgium. In: Collares-Pereira MJ, Cowx IG, Coelho MM, eds. Conservation of Freshwater Fishes : Options for the Future. Fishing News Books. London: Blackwell Science. p 402–413.
- Povz M. 1995. Status of freshwater fishes in the Adriatic catchment of Slovenia. Biol Conserv 72:171–177.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics 155:945–959.
- Van Puyvelde K, Van Geert a., Triest L. 2010. Atetra, a new software program to analyse tetraploid microsatellite data: Comparison with tetra and tetrasat. Mol Ecol Resour 10:331–334.
- Rimbaud G, Ovidio M, Dierckx A, Benitez J-P, Philippart J-C, Poncin P. 2011. Evaluation de la qualité biologique des rivières wallonnes sur base des indices biologiques poissons. Support technique aux inventaires 2011. Rapport ULG-DGARNE/SPW, 216 pp.
- Rimbaud G, Ovidio M, Dierckx A, Philippart J-C. 2010. Evaluation de la qualité biologique des rivières wallonnes sur base des indices biologiques poissons. Support technique aux inventaires 2010. Rapport ULG-DGARNE/SPW, 61 pp.
- Schiemer F, Keckeis H, Kamler E. 2002. The early life history stages of riverine fish: ecophysiological and environmental bottlenecks. Comp Biochem Physiol A 133:439–449.
- Sinama M. 2009. Utilisation de l'ADN mitochondrial et nucléaire dans la mise en évidence de structure génétique et de dynamique populationnelle chez *Chondrostoma toxostoma toxostoma* et *Chondrostoma nasus nasus* (Cyprinidae). Rapport de stage, Université Paul Cézanne-Aix Marseille III, 49 pp.
- Targońska K, Żarski D, Kucharczyk D. 2008. A review of the artificial reproduction of asp, *Aspius aspius* (L.), and nase, *Chondrostoma nasus* (L.). Arch Pol Fish 16:341–354.
- Tsigenopoulos CS, Berrebi P. 2000. Molecular phylogeny of north mediterranean freshwater barbs (genus *Barbus*: cyprinidae) inferred from cytochrome b sequences: biogeographic and systematic implications. Mol Phylogenet Evol 14:165–79.
- Weir B, Cockerham C. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. Evolution 38: 1358–1370.
- Welsh A, May B. 2006. Development and standardization of disomic microsatellite markers for lake sturgeon genetic studies. J Appl Ichthyol 22:337–344.
- Żarski D, Targońska K, Ratajski S, Kaczkowski Z, Kucharczyk D. 2008. Reproduction of nase, *Chondrostoma nasus* (L.), under controlled conditions. Arch Pol Fish 16:355–362.
- Zbinden S, Delarue D, Hefti E. 2005. Monitoring du nase (*Chondrostoma nasus*) en Suisse. 1995-2004. Populations d'importance nationale. Informations concernant la pêche no 82. Office fédéral de l'environnement, des forêts et du paysage (OFEEP), Berne, 37 pp.
- Zitek A. 2009. Studies on nase populations (*Chondrostoma nasus*, L.) in Austria: migration, habitat use and effects of river rehabilitation measures. In: Colloque, 25.05.2009, EAWAG, Forschungszentrum für Limnologie, Kastanienbaum, Suisse.