

Apport de la biologie moléculaire à la conservation de l'esturgeon européen

ACOLAS Marie-Laure

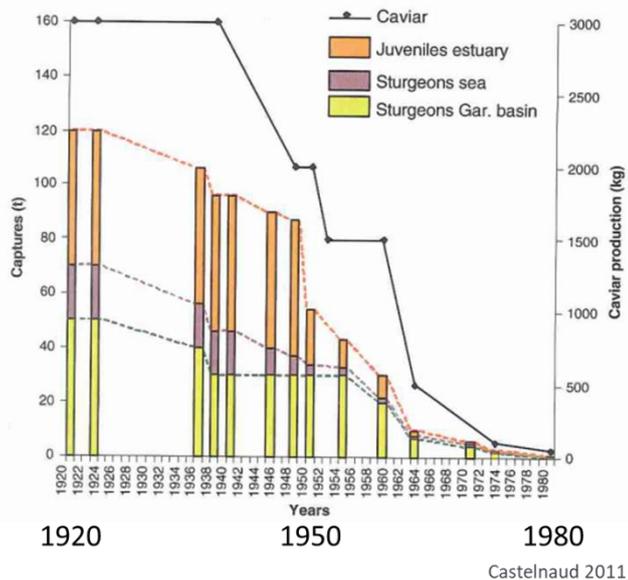
UR EABX Ecosystèmes aquatiques et changements globaux

L'UR EABX a rejoint le pôle MIAME en 2020, ces études n'ont donc pas été réalisées dans le cadre du pôle mais leur contenu correspond bien aux champs d'investigation potentiels de celui-ci, merci pour l'opportunité de présenter ces travaux lors de cette journée scientifique et technique

Une espèce en danger critique d'extinction

- ▶ En 1850 plusieurs populations dans les grands fleuves de la mer Noire à la mer Baltique
- ▶ En 2000 une seule population relictuelle issue du bassin de Gironde Garonne Dordogne GGD avec une aire de distribution du golfe de Gascogne à la mer du Nord

Evolution des captures dans le bassin GGD



- ▶ Signaux de déclin importants 1950s (mobilisations locales : associations, pêcheurs, administrations, scientifiques ...)
- ▶ Mesures réglementaires internationales et nationales depuis 1973
- ▶ Suivis scientifiques réguliers depuis 1980s
- ▶ Dernière reproduction naturelle observée en 1994
- ▶ Mise en place d'un stock captif en 1995

Pour en savoir plus : www.sturio.fr

Un stock captif pour la conservation et la restauration de l'espèce



**Stock captif en France
+ un stock "frère" en Allemagne**
(Elie et al., 1997; Williot et al. 2011)
Conservation de l'espèce



*Localisation des 2
stocks captifs en
Europe*



**Reproductions assistées
En 1995
Puis entre 2007 et 2014**
(Williot & Chèvre 2011)



©ML Acolas Inrae

Repeuplements en Garonne Dordogne
En 1995 : 9 000 juvéniles
De 2007 à 2015 : plus de 1,7 millions
d'individus lâchés à différents stades



©ML Acolas Inrae

**Suivis de l'état de la population
soutenue en milieu naturel**

*Sensibilisation
Observations
accidentelles*



*Suivis scientifiques :
échantillonnages réguliers dans
l'estuaire Gironde « Sturat » et
études ponctuelles*



©R. Le Barh Inrae

Stock captif à visée de conservation et de restauration de l'espèce : des avantages, des inconvénients, des défis

- ▶ Stock captif « sécurité pour l'espèce » et aide à la mise en place d'une population en milieu naturel par le biais des pratiques de repeuplements
- ▶ Captivité avec un nombre restreint de fondateurs, difficultés d'élever et de reproduire l'espèce en captivité, maturité tardive
- ▶ Outils génétiques utiles pour la gestion du stock (gestion génétique et démographique) et pour le suivi de la population en milieu naturel

Intérêts des outils génétiques pour les suivis *ex situ* et *in situ*

- ▶ Caractériser la diversité génétique des individus



- ▶ Optimiser les croisements pour maintenir un maximum de diversité génétique

- ▶ Assigner l'origine des individus capturés

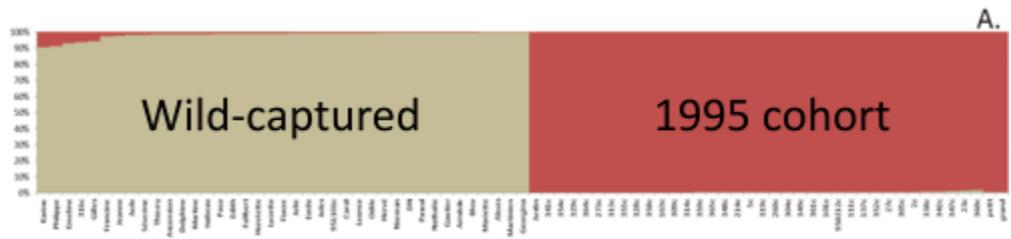
- ▶ Détecter la présence de l'espèce sans la capturer

Développement de marqueurs microsatellites (Roques *et al.* 2016)

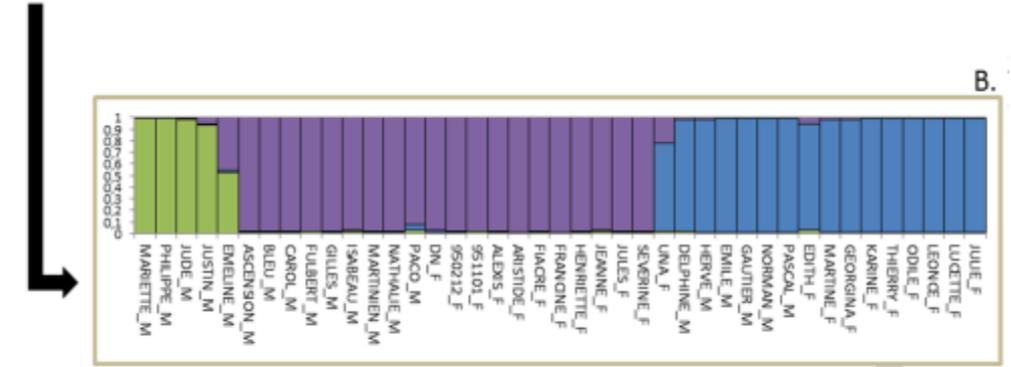
Groupes familiaux

- ▶ Rapport analyses préliminaires Berrebi & Cherbonnel, 2011
- ▶ Post-doctorat de Séverine Roques (INRAE UR EABX), collaboration avec Patrick Berrebi (ISEM Montpellier)

▶ Stock captif analysé en 2014 : 41 adultes d'origine sauvage (individus nés entre 1970s et 1994) + 31 adultes nés en captivité en 1995 (F1)



▶ 18 marqueurs microsatellites ont été développés

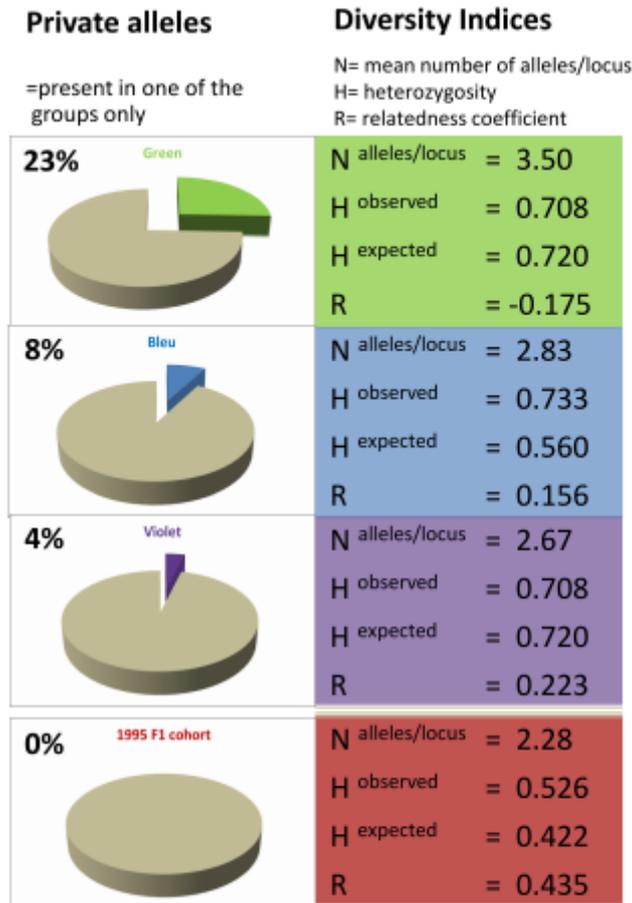


▶ 4 groupes familiaux distincts

K=3, program STRUCTURE

Développement de marqueurs microsatellites (Roques *et al.* 2016; Roques *et al.* 2018)

Indices de diversité au sein du stock captif



► Faible diversité génétique

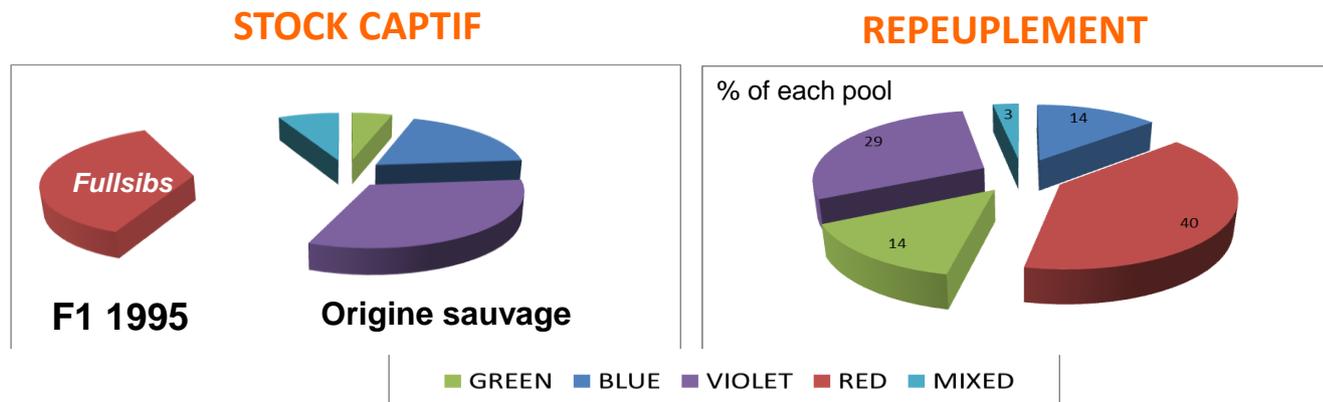
► Variabilité au sein du stock similaire à celle des dernières générations de la population naturelle (comparaison échantillons issus d'individus sauvages échantillonnés)

► La plupart de la diversité est partagée (65%) entre les groupes cependant le groupe vert présente un nombre important d'allèles uniques (private alleles)

Développement de marqueurs microsatellites (Roques *et al.* 2016; Roques *et al.* 2018)

Indices de diversité des individus repeuplés recapturés en milieu naturel

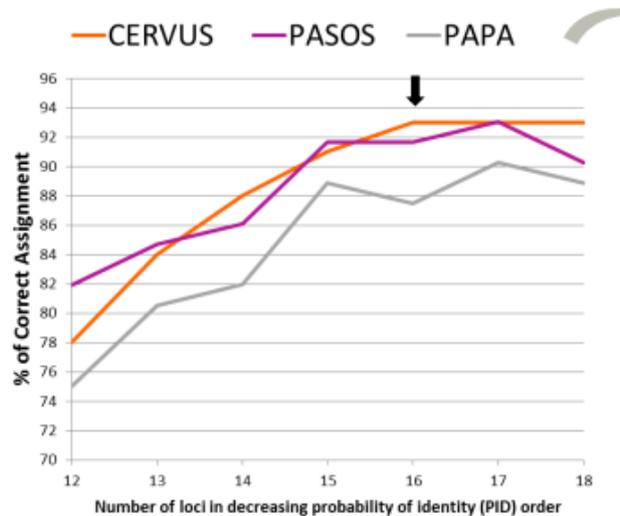
- ▶ Analyses sur un échantillon de 255 individus capturés au stade juvéniles dans l'estuaire de la Gironde (2007-2013)
 - ▶ Maintien de la diversité du stock captif au sein des juvéniles recapturés (perte de 5 % de la diversité)
 - ▶ Consanguinité pour 10% des individus testés
 - ▶ 70 % des croisements qui ont participé aux reproductions assistées sont représentées
 - ▶ Les 4 groupes familiaux sont représentés



Développement de marqueurs microsatellites (Roques *et al.* 2016)

Assignment parentale

- ▶ Estimation du taux d'erreur d'assignation à l'aide de 72 juvéniles de parents connus, tests avec 3 programmes



- ▶ Premiers tests d'assignations sur des juvéniles capturés en milieu naturel (N=194)



- ▶ 95 % d'assignement validé (5% erreur) avec Cervus

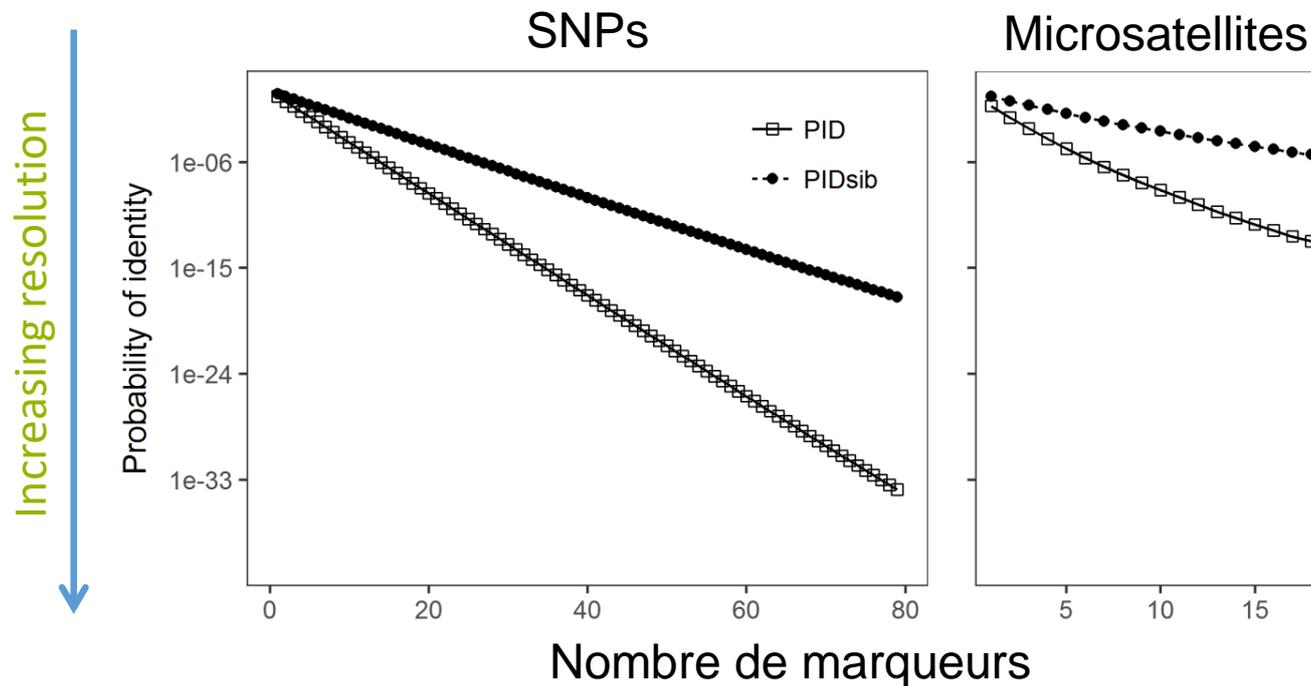
- ▶ 93% d'individus assignés à des parents connus

Développement de marqueurs SNP (Roques *et al.* 2018)

Assignation parentale

► Post-doctorat de Séverine Roques, collaboration avec Franck Salin et Emilie Chancerel (plateforme PGTB)

- Améliorer l'assignation parentale pour l'avenir car il faudra distinguer les descendants des F1 repeuplés (cohortes 2007 à 2014) qui vont se reproduire en milieu naturel (« nouveaux sauvages »)



- Développement de 79 marqueurs SNPs ce qui augmente le pouvoir de résolution X3 comparé aux microsatellites

Utilisation des marqueurs pour optimiser la gestion du stock captif

- ▶ Il s'agit d'orienter les croisements entre des parents les plus éloignés possibles afin de limiter la consanguinité et de maintenir un maximum de diversité génétique
- ▶ **Création d'un studbook génétique: répertoire qui regroupe l'ensemble des spécimens en captivité et les semences congelées ainsi qu'une série d'indices génétiques permettant de sélectionner les paires de géniteurs à privilégier pour conserver la diversité**
 - ▶ En 2018 : 351 individus soit 61425 paires d'individus issus de 7 cohortes depuis 2007
 - ▶ 4 indices génétiques utilisés
 - Parenté moyenne (MK, Mean kinship), plus elle est faible et plus l'individu considéré est éloigné génétiquement des autres individus ($< 0,075$)
 - Coefficient de parenté (R, Parenté Pair) ($< 0,075$)
 - Consanguinité (F, inbreeding) qui dépend de la parenté qui existe entre les parents de l'individu considéré ($< 10\%$)
 - Groupe familial défini selon les marqueurs microsatellites (vert, bleu, violet, rouge) quand c'est possible privilégier les croisements avec le groupe vert.
- ▶ **Transfert du studbook aux gestionnaires de la reproduction (Inrae transfert de compétences vers l'association Migado en 2012 pour la gestion du stock captif et en 2018 pour la reproduction)**

Intérêts des outils génétiques pour les suivis *ex situ* et *in situ*

- ▶ Caractériser la diversité génétique des individus



- ▶ Optimiser les croisements pour maintenir un maximum de diversité génétique

- ▶ Assigner l'origine des individus capturés

- ▶ Détecter la présence de l'espèce sans la capturer

Détecter la présence de l'espèce de manière non invasive : ADN environnemental

► Projet R &D INRAE/OFB MOMIE (MOuvements MIgratoires de l'Esturgeon européen) en cours

- **Objectif de suivi du retour des géniteurs en rivière**
 - Signalement de captures accidentelles de 2 grands individus en fleuves en 2019 et 2020
 - Quelques grands individus également échantillonnés dans l'estuaire

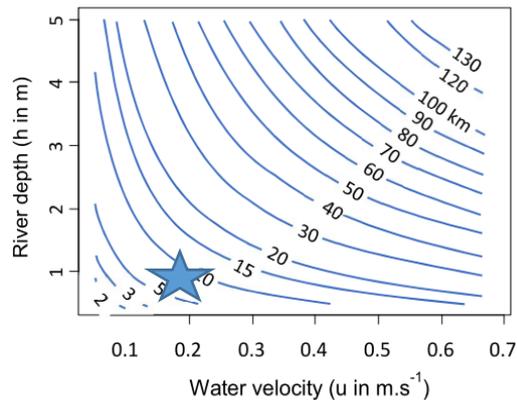
- **Détecter de manière non invasive si des reproductions naturelles ont eu lieu en Dordogne et en Garonne via l'ADNe**
 - Rechercher la signature ADNe de l'espèce en début d'automne ce qui correspondrait à la présence de juvéniles

- **Même s'il faut rester précautionneux dans les interprétations des résultats de cette méthode (Roussel *et al.*, 2015) elle semble prometteuse et a été testée en fleuve pour détecter des espèces d'esturgeons en Amérique du nord (Bergamnn *et al.*, 2016; Pflieger *et al.*, 2016)**

Détecter la présence de l'espèce de manière non invasive : ADN environnemental

- ▶ Tests préliminaires de détection du signal sur la rivière Isle à l'aval du rejet de la station d'expérimentation INRAE où est conservé le stock captif

Distance de détection théorique notamment fonction de la vitesse du courant et de la profondeur



★ Isle

Diagramme de Pont et al. (2018)



Echantillonnage en métabarcoding (analyse BE Spygen)

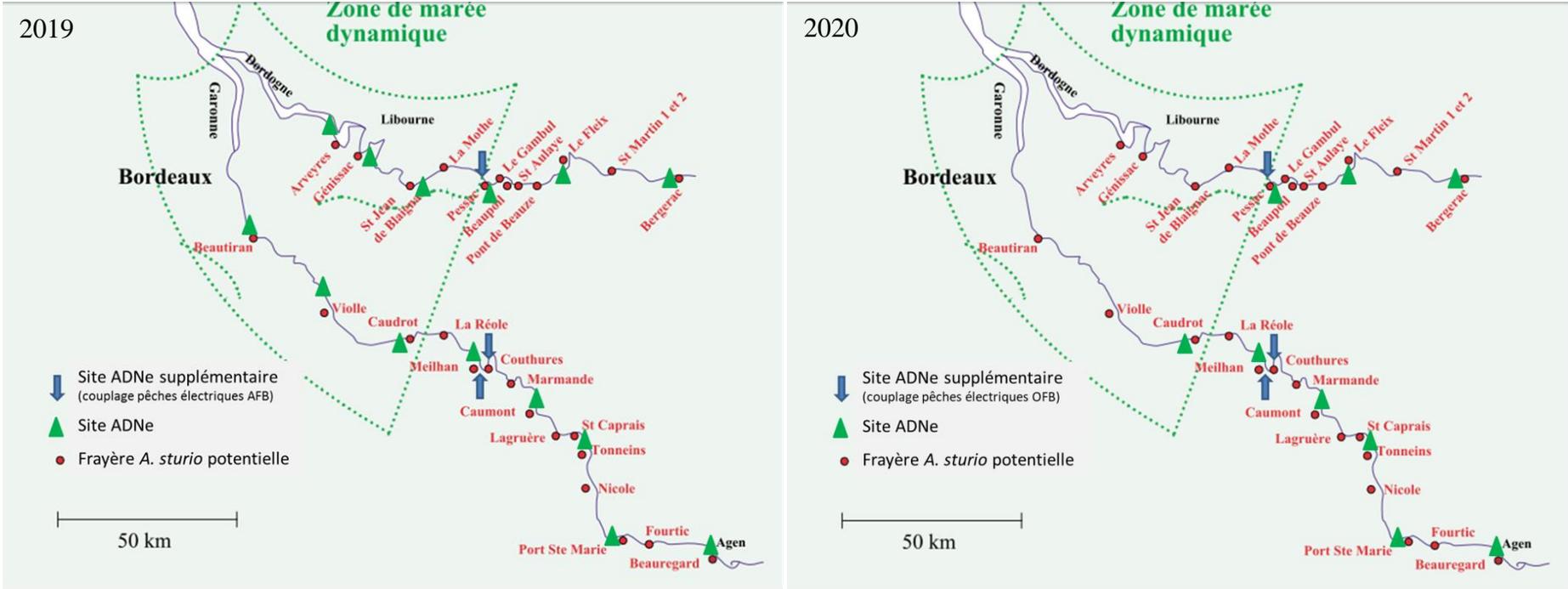
Base de référence toutes espèces esturgeons

- ▶ Connaissances sur la dévalaison des juvéniles de 3 mois repeuplés : 82 % des individus restent dans un rayon de 13 km à l'aval des sites de fraye pendant au moins 1 mois (Carrera-Garcia et al. 2017)

- ▶ Tests concluants, adaptation du protocole d'échantillonnage en Dordogne et en Garonne

Détecter la présence de l'espèce de manière non invasive : ADN environnemental

Sites d'échantillonnage ADN e automne 2019 et 2020



Figures modifiées d'après Jego et al. (2002)

- Résultats moins fiables en zone de marée dynamique donc restrictions des échantillonnages aux secteurs avec une turbidité <180NTU en 2020
- Pas de signal ADN e correspondant à l'esturgeon européen
- Pas de signes de reproductions naturelles de grande ampleur en 2019 et en 2020

- Tests de faisabilité d'une analyse ADNe *in situ* permettant la détection rapide de l'espèce *A. sturio* : échantillonnage et filtration de l'eau puis résultats obtenus en quelques heures avec un kit terrain
 - Un résultat rapide de présence absence
 - Ouvre la possibilité de réaliser des suivis temporels de localisation des individus
 - Tests d'extraction de l'ADNe et de détection spécifique de *A. sturio* en cours avant une réalisation complète sur le terrain

Références bibliographiques

Bergman P.S., Schumer G., Blankenship S., Campbell E. 2016. Detection of adult green sturgeon using environmental DNA analysis. *PLoS ONE* 11, n° 4. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153500>.

Castelnaud G. 2011 Chapter 13: Sturgeon fishing, landings and caviar production during the twentieth century in the Garonne basin and the coastal sea. In *Biology and conservation of the Atlantic European sturgeon Acipenser sturio L., 1758*, édité par P. Williot, E. Rochard, N. Desse-Berset, F. Kirschbaum, et J. Gessner, 177-94. Springer Berlin Heidelberg.

Carrera-García E., Rochard E., Acolas M.L. 2017. Effects of rearing practice on post-release young-of-the-year behavior: *Acipenser sturio* early life in freshwater. *Endangered Species Research* 34, 269-281.

Elie, P. 1997. Restauration de l'esturgeon européen *Acipenser sturio*. Contrat Life rapport final du programme d'exécution. Bordeaux: Cemagref de Bordeaux.

Pfleger M.O., Steven J. R., Johnston C.E. , Janosik A.M. 2016. Saving the doomed: Using eDNA to aid in detection of rare sturgeon for conservation (Acipenseridae). *Global Ecology and Conservation* 8 : 99-107. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2016.08.008>.

Roques S., Berrebi P., Chevre P., Rochard E., Acolas M.L. 2016. Parentage Assignment in the Critically Endangered European Sturgeon (*Acipenser Sturio*) Based on a Novel Microsatellite Multiplex Assay: A Valuable Resource for Restocking, Monitoring and Conservation Programs . *Conservation Genetics Resources* 8, n° 3: 313-22. <https://doi.org/10.1007/s12686-016-0538-7>.

Roques S., Berrebi P., Rochard E., Acolas M.L. 2018. Genetic monitoring for the successful re-stocking of a critically endangered diadromous fish with low diversity. *Biological Conservation* 221 : 91-102. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2018.02.032>.

Roques S., Chancerel E., Boury C., Pierre M., Acolas M.L. 2019. From Microsatellites to Single Nucleotide Polymorphisms for the Genetic Monitoring of a Critically Endangered Sturgeon. *Ecology and Evolution* 9, n° 12 : 7017-29. <https://doi.org/10.1002/ece3.5268>.

Roussel J. M., Paillisson J.M., Treguier A., Petit E. 2015. The Downside of EDNA as a Survey Tool in Water Bodies . *Journal of Applied Ecology* 52, n° 4 : 823-26. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12428>.

Williot P., Chèvre P. 2011 Reproduction of the cultured brood fish. In *Biology and conservation of the Atlantic European sturgeon Acipenser sturio L., 1758*, édité par P. Williot, E. Rochard, N. Desse-Berset, F. Kirschbaum, et J. Gessner, 439-48. Springer.

Williot P., Rouault T., Brun R., Pelard M., Mercier C., Jacobs L., Kirschbaum F. 2011. Chapter 31. Building a brood stock of *Acipenser sturio* in France. In In: Williot, P., Rochard, E., Desse-Berset, N., Kirschbaum, F., Gessner, J. (Eds.), *Biology and conservation of the Atlantic European sturgeon Acipenser sturio L., 1758*. Springer.



Ces études ont été réalisées dans le cadre du premier Plan National d'Actions (PNA) en faveur de la restauration de l'esturgeon Européen, Merci aux financeurs :



Merci de votre attention

Et MERCI aux participants des différents projets :

*Séverine Roques
Patrick Berrebi
Patrick Chèvre
Romaric Le Barh
Stéphane Bons
Maud Pierre
Mélissa Eon
Eric Rochard
Emilie Chancerel
Frank Salin
Olivier Lepais*

