ZA du Grand Bois Est
Route de Créon
33750 SAINT-GERMAIN-DU-PUCH
Tél 05 57 24 57 21
Fax 05 57 24 57 20
contact@aquabio-conseil.com

10 rue Hector Guimard
ZAC les Acilloux
63800 COURNON D'AUVERGNE
Tél 04 73 24 77 40
Fax 04 73 25 11 49
clermont-fd@aquabio-conseil.com

7 rue des Cours Roulleaux
35440 FEINS
Tél 02 99 69 73 77
Fax 02 99 69 02 71
feins@aquabio-conseil.com

8 Avenue de la République
92130 ISSY LES MOULINEAUX
Tél : 01 41 31 04 92
paris@aquabio-conseil.com

11 Rue de la charrette bleue
26110 NYONS
Tél : 04 75 26 03 32
Fax : 04 75 26 32 88
nyons@aquabio-conseil.com

Ferme du Marot
D14
25870 CHATILLON-LE-DUC
Tél : 03 81 52 97 46
besancon@aquabio-conseil.com

Agence de l'Eau Artois-Picardie

Identification d'espèces piscicoles à partir d'échantillons d'eau, sur les cours d'eau et plans d'eau du bassin Artois-Picardie, par une technique utilisant l'ADN contenu dans les échantillons

2017

RÉDACTEUR
Nom : MATTHIEU BLANCHARD
Date : 07 février 2018
Visa :

VERIFICATEUR et APPROBATEUR
Nom : BRUNO FONTAN
Date : 07 février 2018
Visa :

RAPPORT
PA178-21

myclimate
Cette étude fait l'objet d'une compensation Carbone

VERSION 2
07/02/2018

SOMMAIRE

SOMMAIRE....2
INTRODUCTION....3
MÉTHODOLOGIE....4
I.Protocole de prélèvement....4
I.1. Prélèvement en petit milieu aquatique stagnant....4
I.2.Prélèvement en milieu courant et grand milieu stagnant....4
I.3.Conditions d'applications....5
II.Protocole d'analyse....5
DÉROULEMENT DE LA CAMPAGNE....6
RÉSULTATS ET INTERPRÉTATIONS....7
I.Résultats des analyses ADN environnemental....7
II.Résultats de la pêche aux filets maillants (AFB 2017)....8
III.Comparaison des résultats....9
ANNEXE....10

INTRODUCTION

Dans le cadre de la mise en œuvre de la Directive Cadre Européenne sur l'eau (DCE), l'Agence de l'Eau Artois-Picardie est responsable de la production de données d'observation de l'ensemble des éléments de qualité des écosystèmes aquatiques. Elle s'appuie notamment pour cela sur d'autres services de l'état dont l'AFB (Agence Française de la Biodiversité) pour la réalisation d'inventaires piscicoles sur les cours d'eau, canaux et plans d'eau du bassin Artois-Picardie.

Dans le cadre de la mise en œuvre de ces inventaires piscicoles, de nombreuses interrogations ont été énoncées quant à l'exhaustivité de ceux-ci. Les méthodes employées et la période de réalisation des inventaires ne permettant souvent pas de révéler toutes les espèces piscicoles présentes.

L'Agence de l'Eau Artois-Picardie a donc diligenté une étude d'identification des espèces piscicoles à l'aide de l'ADN contenu dans des prélèvements d'eau réalisés sur les cours d'eau, canaux et plans d'eau de son bassin.

Les sociétés AQUABIO (prélèvement et interprétation) et SPYGEN (Analyse ADN) ont été mandatées par l'Agence de l'Eau Artois-Picardie pour réaliser cette étude.

En 2017, seul l'Etang du Vignoble à Valenciennes a fait l'objet de prélèvements. En parallèle, l'Agence Française de la Biodiversité a réalisé une pêche aux filets maillants.

Ce rapport présente un descriptif de la méthodologie employée, un déroulé de la campagne de prélèvement ainsi que les résultats obtenus et l'interprétation qui peut en être faite.

Le Tableau I ci-dessous donne la liste du personnel d'AQUABIO ayant participé à l'étude.

Tableau I : Personnel ayant participé à l'étude

		Prélèvements	Analyses ADN	Rapport d'étude
Directeur Technique	FONTAN Bruno			X (validation)
Hydroécologues	BLANCHARD Matthieu	X		X
	DAVID Ritchie	X		
SPYGEN			X	

MÉTHODOLOGIE

L'ADN environnemental est défini comme l'ADN pouvant être extrait à partir d'échantillons environnementaux (sol, eau, air, *etc.*) sans avoir besoin d'isoler au préalable des individus cibles[1]. Avant de pouvoir extraire et analyser l'ADN environnemental présent, il convient donc de réaliser des prélèvements d'échantillons environnementaux dans lesquels l'ADN de notre groupe ou espèce d'intérêt peut se retrouver. Notre groupe d'intérêt étant ici les poissons, nous ne nous intéresserons qu'aux milieux aquatiques.

Le méthodologie ci-dessous présente donc les différents protocoles de prélèvements en milieux aquatiques puis le principe de l'analyse ADN réalisée.

I. PROTOCOLE DE PRÉLÈVEMENT

Pour les milieux aquatiques nous disposons de deux protocoles de prélèvement, le premier pour les petits milieux stagnants et le second pour les milieux courants. Ce protocole est adaptable aux grands milieux stagnants. Notons que pour les deux protocoles, l'ensemble du matériel mentionné est stérile (pour les parties touchant aux échantillons) et fourni par la société SPYGEN.

I.1. Prélèvement en petit milieu aquatique stagnant

Le protocole de prélèvement en petit milieu aquatique stagnant se divise en deux étapes.

La première étape consiste à prélever 20 échantillons de 100ml d'eau tout autour de la pièce d'eau. Ces échantillons sont réalisés à l'aide d'une louche jaugée à 100ml. Les 20 échantillons sont répartis sur l'ensemble du site étudié en veillant à échantillonner préférentiellement les habitats propices au développement des groupes ciblés.

Après avoir choisi la localisation d'un échantillon, la colonne d'eau est homogénéisée à l'aide de la louche de prélèvement sans remettre en suspension la matière organique du fond. Le prélèvement est ensuite réalisé dans la partie supérieure de cette colonne d'eau. 100ml sont récoltés et versés dans un contenant stérile. Ce contenant sert à l'ensemble des 20 échantillons.

La seconde étape débute une fois que les 20 échantillons sont récoltés. Les 2 litres ainsi obtenus sont homogénéisés et l'ensemble de l'eau est passé dans une capsule de filtration à l'aide d'une seringue stérile. Les fragments d'ADN environnemental présents dans l'eau sont retenus au niveau de la membrane de la capsule. Une fois l'ensemble du volume d'eau filtré, la capsule de filtration est rempli d'un tampon de conservation. Celui-ci permet d'empêcher la détérioration de l'ADN filtré. La capsule de filtration est identifiée par un numéro unique permettant de ne pas confondre les sites étudiés entre eux. La capsule ainsi identifiée est envoyée au laboratoire pour analyse.

I.2. Prélèvement en milieu courant et grand milieu stagnant

Le second protocole de prélèvement est préconisé pour les milieux aquatiques courants et peut s'adapter aux grands milieux stagnants en adaptant quelques points afin de limiter les contaminations croisés avec d'autres sites.

La méthode de prélèvement en milieu courant consiste à filtrer à travers la capsule de filtration et durant 30 minutes l'eau du milieu. Pour réaliser cette filtration nous nous positionnons dans le cours d'eau à échantillonner, de préférence en aval d'un radier afin de disposer d'une eau homogénéisée. Le préleveur a au préalable désinfecté ses bottes , cuissardes ou wadders afin de limiter les contaminations croisées entre site et l'introduction d'invasifs ou de pathogènes. Lors de le filtration, le préleveur se positionne face au courant et toujours derrière la crépine de filtration afin de limiter les risques de contamination.

L'ensemble des manipulations est réalisé à l'aide de gants stériles. La capsule de filtration est ainsi reliée via un tuyau à une crépine immergée en continue dans le cours d'eau. Un dispositif placé sur le tuyau permet d'aspirer l'eau du milieu et de la faire transiter par la capsule de filtration. Les fragments d'ADN environnemental présents dans l'eau sont retenus au niveau de la membrane de la capsule.

[1] P. TABERLET, E. CROISSAC, M. HAJIBABAEI, L. H. RIESEBERG « Environnemental DNA », Molecular Ecology (2012), 21, 1789-1793

Une fois le temps de filtration requis atteint, la capsule de filtration est rempli d'un tampon de conservation. Celui-ci permet d'empêcher la détérioration de l'ADN filtré. La capsule de filtration est identifiée par un numéro unique permettant de ne pas confondre les sites étudiés entre eux. La capsule ainsi identifiée est envoyée au laboratoire pour analyse.

> Adaptation aux grands milieux stagnants

Ce protocole peut s'adapter aux grands milieux stagnants. Nous réalisons ainsi la filtration en continu en réalisant une prospection du site étudié depuis une embarcation en veillant :

- à ce que l'embarcation utilisée ne navigue que dans le site étudié
- à ne pas repasser deux fois au même endroit
- à ce que la crépine soit positionnée en tête de bateau.
- à filtrer l'eau des habitats les plus propices au développement des groupes ciblés.

Figures 1 et 2 : *Prélèvement avec filtration en continu sur L'Etang du Vignoble à Valenciennes* *(Crédit :C. Lesniak)*

I.3. Conditions d'applications

Ces deux protocoles peuvent être réalisés sans contraintes de période. Il convient cependant d'adapter la période de prélèvement aux périodes d'activité des groupes ciblés. Ainsi, il sera plus facile de récupérer de l'ADNe durant la période de reproduction d'une espèce cible.

II. PROTOCOLE D'ANALYSE

Pour analyser les échantillons d'ADN environnemental obtenus à l'aide des protocoles présentés ci-dessus nous disposons de deux types d'approche. Une approche spécifique aussi appelée Barcoding ADNe ou VigiDNA S et une approche multispécifique aussi appelée Metabarcoding ADNe ou VigiDNA M.

Pour l'approche spécifique, le laboratoire dispose d'un couple d'amorces spécifiques qui permettent d'amplifier uniquement l'ADNe de l'espèce ciblée. Cette méthode permet ainsi de déterminer la présence ou l'absence d'une espèce au sein d'un site étudié.

Pour l'approche multispécifique, le laboratoire dispose d'un couple d'amorces « universelles » qui permettent d'amplifier l'ADNe de l'ensemble des espèces d'un groupe données (les poissons par exemple). L'ADNe ainsi amplifié est ensuite séquencé à l'aide d'une méthode de séquençage nouvelle génération. Les séquences obtenues sont comparées à une base de données de référence contenant les espèces du groupe ciblé. Nous obtenons ainsi une liste d'espèce à partir des échantillons réaliser sur notre site d'étude. De plus, la proportion des séquences par espèce contactée et par échantillon est aussi calculée. Ceci permet d'apporter une aide à l'interprétation des résultats.

DÉROULEMENT DE LA CAMPAGNE

Pour l'année 2017, seul l'étang du Vignoble à Valenciennes a fait l'objet d'un échantillonnage en vu d'analyse ADN. La carte ci-dessous présente l'étang du Vignoble ainsi que le protocole d'échantillonnage mis en place.

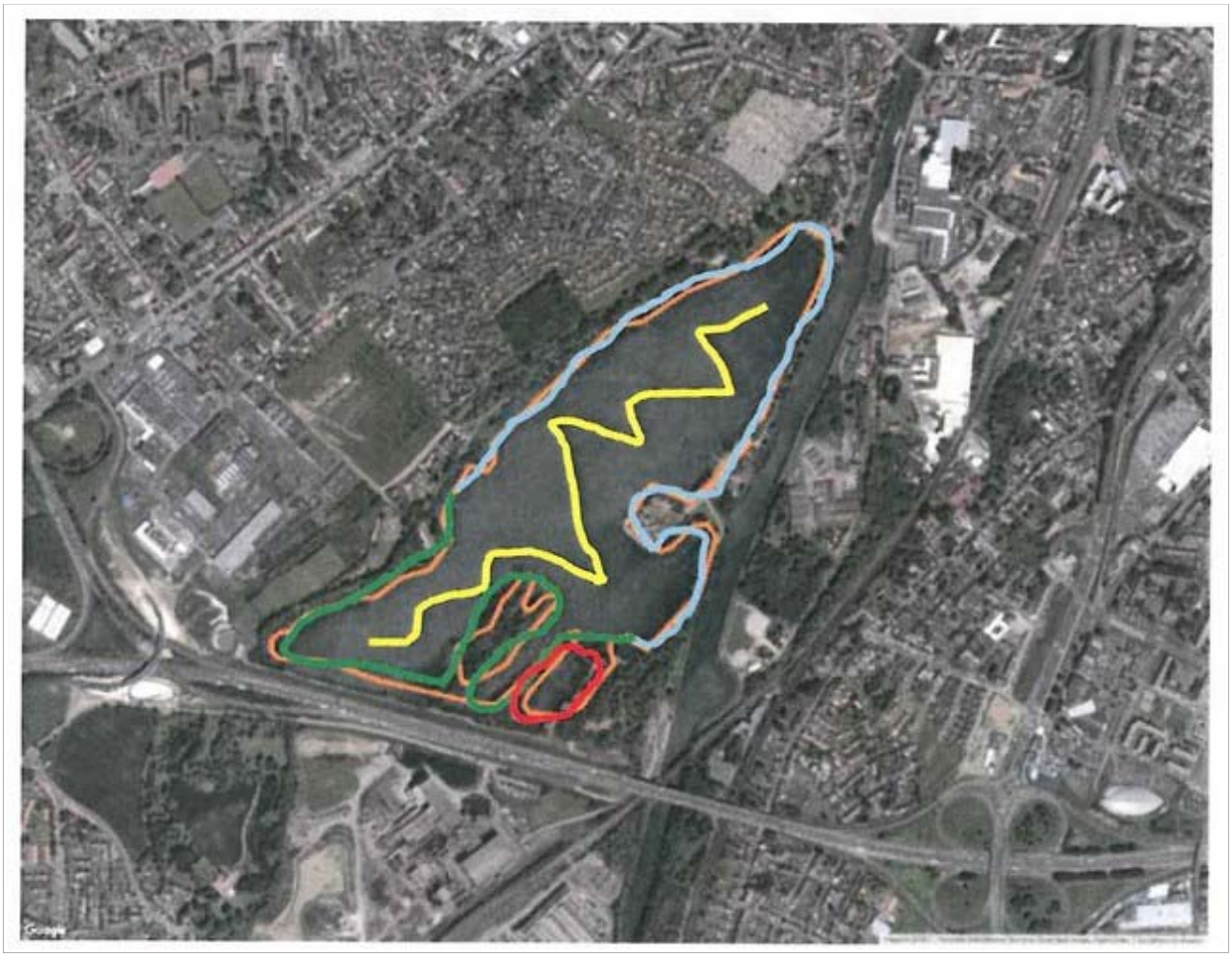

Figure 3 : *L'Etang du Vignoble à Valenciennes : Localisation et échantillonnage proposé (Source : SPYGEN)*

La pièce d'eau principale a été échantillonnée le 13 septembre 2017 selon la méthode de prélèvement en milieu courant adaptée aux grands milieux stagnants. Deux échantillons ont été réalisés en bordure et un troisième en cheminant au centre de l'étang en évitant de trop se rapprocher des berges. Ces échantillons ont été réalisés depuis une embarcation.

La turbidité du milieu n'a pas permis de filtrer l'eau de façon optimale. Ainsi, pour le premier échantillon (cheminement bleu ciel), seule la moitié du cheminement a pu être réalisée. La membrane de la capsule était saturée au bout de 12 minutes 30 secondes de filtration du fait d'une turbidité importante de l'eau. La filtration du premier échantillon s'est donc terminée juste après la pointe Nord de l'Etang du Vignoble.

Pour le second échantillon nous avons adapté le protocole en accord avec SPYGEN. Le reste du tour de l'étang a été réalisé en 1H 00. Durant tout le trajet de l'eau a été collectée avec le même matériel que pour la filtration en continu mais sans filtrer l'eau. Celle-ci était conservée dans un contenant non contaminé. Une fois le tour terminé, le volume d'eau récoltée a été homogénéisé. Puis, le système de filtration a été mis en place afin de filtrer ce volume homogénéisé. La filtration a duré 15 minutes jusqu'à ce que la membrane soit saturée. Tout le volume d'eau récolté n'a pas pu être filtré mais l'homogénéisation avant filtration de l'eau récoltée a permis de limiter la perte d'information.

Pour le troisième échantillon dans la pièce d'eau principale nous avons procédé de la même façon que pour le second. Le temps de récolte de l'eau a été de 25 minutes et le temps de filtration de 15 minutes.

La petite pièce d'eau au sud (figuré rouge) est connectée à l'étang principal par une buse ne permettant pas le passage d'une embarcation. L'échantillonnage de cette pièce d'eau a donc été réalisé selon le protocole de prélèvement en petit milieu stagnant.

RÉSULTATS ET INTERPRÉTATIONS

I. RÉSULTATS DES ANALYSES ADN ENVIRONNEMENTAL

Le rapport d'analyse de SPYGEN est fourni en annexe. Le tableau ci-dessous reprend les résultats obtenus.

Tableau II : Résultats des analyses ADNe sur l'Etang du Vignoble à Valenciennes

			Berges 1		Berges 2		Centre		Etang annexe	
			SPY173097		SPY173098		SPY173099		SPY173100	
Nom scientifique	**Nom vernaculaire**	**Base de référence**	**Nombre de réplicats positifs (/12)**	**Nombre de séquences ADN**	**Nombre de réplicats positifs (/12)**	**Nombre de séquences ADN**	**Nombre de réplicats positifs (/12)**	**Nombre de séquences ADN**	**Nombre de réplicats positifs (/12)**	**Nombre de séquences ADN**
Abramis brama	Brème commune	SPYGEN	12	22566	12	23613	12	37212	11	5781
Anguilla anguilla	Anguille européenne	SPYGEN	2	258	6	410	5	475		
Blicca bjoerkna	Brème bordelière	SPYGEN	3	349	6	992				
Carassius sp.	-	SPYGEN			*				*	
Cyprinidae - Complexe 2	-	SPYGEN			4	128			8	1800
Cyprinus carpio	Carpe commune	SPYGEN	11	2623	11	1668	12	1760	12	1797
Esox lucius	Brochet	SPYGEN	10	2473	9	4739	6	2337	6	1573
Gymnocephalus cernuus	Grémille	SPYGEN	12	9015	12	3828	12	10816	10	1766
Lepomis gibbosus	Perche soleil	SPYGEN	3	254	4	454	3	337	5	1970
Leuciscus sp.	-	SPYGEN	6	271	3	309	*			
Perca fluviatilis	Perche	SPYGEN	12	66872	12	45480	12	35576	12	63994
Rutilus rutilus	Gardon	SPYGEN	12	11266	12	5707	12	6815	12	16778
Sander lucioperca	Sandre	SPYGEN	12	11367	12	12171	12	10830	12	2936
Scardinius erythrophthalmus	Rotengle	SPYGEN	11	977	*		4	468	2	106
Silurus glanis	Silure glane	SPYGEN	*		2	156	*			
Tinca tinca	Tanche	SPYGEN	12	1390	12	1529	7	625	9	1404

" * " : Quantité d'ADN insuffisante pour certifier la détection du taxon dans l'échantillon.

Certains taxons sont identifiés au genre ou à la famille :

Carassius sp. : Carassius auratus, Carassius carassius ou *Carassius gibelio*

Cyprinidae - Complexe 2 *: Ctenopharyngodon idella* ou *Hypophthalmichthys molitrix*

Leuciscus sp. : Leuciscus idus ou *Leuciscus leuciscus*

Les analyses ADN réalisées sur les échantillons prélevés le 13 septembre 2017 sur l'Etang du Vignoble à Valenciennes semblent révéler la présence de 13 espèces et 2 groupes d'espèces. Un troisième groupe d'espèces (*Carassius sp.*) semble présent mais la quantité d'ADN récoltée était insuffisante pour le certifier.

Les données les plus marquantes des analyses réalisées sont :

- la présence de l'ADN d'une espèce invasive, la perche soleil (*Lepomis gibbosus*) sur l'ensemble des échantillon réalisés.
- la présence de l'ADN d'un groupe d'espèce *Leuciscus sp.* qui regroupe des espèces plutôt inféodées aux cours d'eau. L'ADN récolté est cependant peu présent en comparaison des autres Cyprinidés. La présence d'une connexion entre le canal de l'Escaut et l'Etang au niveau de l'échantillon berges 1 pourrait expliquer la présence de cet ADN dans le milieu. La présence de l'une des espèces appartenant à ce groupe est donc à prendre avec précaution.
- La présence de l'ADN de silure glane (*Silurus glanis)* mais en très faible quantité. Ce poisson restant principalement au fond, il peut être difficile de récupérer de son ADN. La pratique de la pêche et la connexion avec le canal de l'Escaut ont pu aussi contaminer le plan d'eau. Il semble donc ici difficile de déterminer avec certitude la présence de cette espèce dans le milieu. Des prélèvements au cours de sa période de reproduction pourraient permettre de valider ou non sa présence.
- La présence, en très faible quantité, de l'ADN du groupe d'espèces Cyprinidae – complexe 2 qui est constitué d''espèces allochtones qui ont probablement été l'objet de relâchement « sauvage » dans le milieu.
- La présence certaine des 11 espèces suivantes : Brême commune, Anguille européenne, Carpe commune, Brochet, Grémille, Perche soleil, Perche, Gardon, Sandre, Rotengle, Tanche

II. RÉSULTATS DE LA PÊCHE AUX FILETS MAILLANTS (AFB 2017)

La pêche aux filets maillants de l'AFB s'est déroulée les 13 et 14 septembre 2017 à la suite des prélèvements d'eau dédiés aux analyses ADN environnemental. Ceci afin de ne pas polluer les analyses avec de l'ADN pouvant être amené par les filets et bateaux nécessaires à la mise en place du protocole.

Tableau III : Résultats de la pêche aux filets maillants sur l'Etang du Vignoble à Valenciennes (Source : AFB)

Nom scientifique	Nom vernaculaire	Effectif pêché
Blicca bjoerkna	Brême bordelière	3
Abramis brama	Brême commune	12
Cyprinus carpio	Carpe commune	1
Rutilus rutilus	Gardon	117
Gymnocephalus cernuus	Grémille	189
/	Hybride brême-gardon	4
Perca fluviatilis	Perche	227
Scardinius erythrophthalmus	Rotengle	1
Sander lucioperca	Sandre	151

9 espèces, dont une hydride ont été pêchées en 2017 sur l'Etang du Vignoble.

III. COMPARAISON DES RÉSULTATS

La comparaison des résultats permet de mettre en avant la complémentarité des deux protocoles afin d'obtenir une donnée plus fiable du peuplement piscicole. Les analyses ADNe révèlent une diversité piscicole plus importante que la pêche aux filets maillants. Elles ont en effet mis en évidence la présence certaine de 11 espèces contre 8 pour la pêche, sachant que de l'ADNe de toutes les espèces pêchées a bien été retrouvé.

La pêche a permis de confirmer la présence de Brême bordelière, espèce dont l'ADN avait été retrouvé mais pour laquelle un doute subsistait.

Certaines espèces, du fait de leurs caractéristiques (taille, mode de vie, etc.) sont très difficiles à pêcher à l'aide de la pêche aux filets maillants. Les analyses ADN mettent cependant clairement en évidence leur présence dans le milieu. Il s'agit ici de l'Anguille européenne, du Brochet, de la Perche soleil et de la Tanche. La gestion des milieux aquatiques et les actions qui sont menés en leur faveur sont souvent liées à la présence ou à l'absence des trois premières espèces et plus particulièrement du Brochet. Il est donc dommageable que ces 3 espèces soient absentes des pêches. Les analyses ADN permettent de répondre à ce manque.

En revanche, aucune des deux techniques ne semble idéale pour mettre en évidence la présence certaine d'espèces en faible effectif ou présentant des caractéristiques écologiques rendant très difficile leur capture au filet ou la récupération de leur ADNe. Nous pensons ici au Silure glane et à d'éventuelles espèces rejetées dans le milieu.

ANNEXE

RAPPORT D'ANALYSE

Analyses VigiDNA M pour l'inventaire des Poissons en milieu aquatique stagnant

Aquabio – 14 décembre 2017

1°) Description du projet :

Code étude : Commande Agence de l'Eau Artois Picardie « 17 ORD 0000641 Suivi ADN Environnemental »

Client : Aquabio

- **Adresse :** 8 Avenue de la République, 92130 ISSY-LES-MOULINEAUX
- **Contact :** Matthieu BLANCHARD
- **Téléphone :** 01 41 31 04 92 - **Email :** matthieu.blanchard@aquabio-conseil.com

Responsable de l'étude : Pauline JEAN, Chef de projet – pauline.jean@spygen.com

Type d'analyse : Analyses VigiDNA M pour l'inventaire des Poissons en milieu aquatique stagnant

Nombre d'échantillons : 4

2°) Protocole d'analyse et contrôles qualité :

Les extractions d'ADN ont été réalisées dans une salle dédiée à l'ADN rare ou dégradé. Une amplification de l'ADN a ensuite été effectuée avec un couple d'amorces universel pour les Poissons (12 réplicats par échantillon) puis les échantillons amplifiés ont été séquencés à l'aide d'un séquenceur nouvelle génération (MiSeq - Illumina). À chaque étape du protocole des témoins négatifs ont été analysés en parallèle aux échantillons, afin de contrôler la pureté des consommables utilisés et de détecter d'éventuelles contaminations croisées au cours de la manipulation (*cf. Extraction (-) & PCR (-) dans Contrôles qualité*).

Les séquences obtenues ont été analysées avec des outils bio-informatiques permettant d'éliminer les erreurs dues à l'amplification ou au séquençage (à l'aide de différents filtres) et de comparer chaque séquence avec les bases de référence Poissons SPYGEN® et GenBank®. Une liste d'espèces a ensuite été établie pour chaque échantillon avec la base de référence utilisée ainsi que le nombre de séquences ADN et le nombre de réplicats positifs attribués à chaque espèce.

Certaines espèces de Poissons présentent des séquences ADN identiques sur la région d'ADN étudiée, ce qui ne permet pas de les différencier. Ces espèces sont donc identifiées au genre ou à la famille (*cf. 3°) Résultats* pour plus de détails).

- **Contrôles qualité :**

Groupe taxonomique	Type de contrôle	Nombre	Résultat	Commentaires
Poissons	Extraction (-)	2	Négatif	Aucune contamination détectée lors de l'analyse
	PCR (-)	1	Négatif	

3°) Résultats :

Les résultats sont présentés ci-dessous dans le tableau I.

Certains taxons sont identifiés au genre ou à la famille : *Carassius sp.* (*Carassius auratus, Carassius carassius* ou *Carassius gibelio*), *Cyprinidae* - Complexe 2 (*Ctenopharyngodon idella* ou *Hypophthalmichthys molitrix*) et *Leuciscus sp. (Leuciscus idus* ou *Leuciscus leuciscus*).

Tableau I : Liste des espèces de Poissons détectées, nombre de réplicats positifs et nombre de séquences ADN associés à chaque espèce pour les échantillons SPY173097 à SPY173100 (« * » : Quantité d'ADN insuffisante pour certifier la détection du taxon dans l'échantillon).

			Berges 1		Berges 2		Centre		Etang annexe	
			SPY173097		SPY173098		SPY173099		SPY173100	
Nom scientifique	**Nom vernaculaire**	**Base de référence**	**Nombre de réplicats positifs (/12)**	**Nombre de séquences ADN**	**Nombre de réplicats positifs (/12)**	**Nombre de séquences ADN**	**Nombre de réplicats positifs (/12)**	**Nombre de séquences ADN**	**Nombre de réplicats positifs (/12)**	**Nombre de séquences ADN**
Abramis brama	Brème commune	SPYGEN	12	22566	12	23613	12	37212	11	5781
Anguilla anguilla	Anguille européenne	SPYGEN	2	258	6	410	5	475		
Blicca bjoerkna	Brème bordelière	SPYGEN	3	349	6	992				
Carassius sp.	-	SPYGEN			*				*	
Cyprinidae - Complexe 2	-	SPYGEN			4	128			8	1800
Cyprinus carpio	Carpe commune	SPYGEN	11	2623	11	1668	12	1760	12	1797
Esox lucius	Brochet	SPYGEN	10	2473	9	4739	6	2337	6	1573
Gymnocephalus cernuus	Grémille	SPYGEN	12	9015	12	3828	12	10816	10	1766
Lepomis gibbosus	Perche soleil	SPYGEN	3	254	4	454	3	337	5	1970
Leuciscus sp.	-	SPYGEN	6	271	3	309	*			
Perca fluviatilis	Perche	SPYGEN	12	66872	12	45480	12	35576	12	63994
Rutilus rutilus	Gardon	SPYGEN	12	11266	12	5707	12	6815	12	16778
Sander lucioperca	Sandre	SPYGEN	12	11367	12	12171	12	10830	12	2936
Scardinius erythrophthalmus	Rotengle	SPYGEN	11	977	*		4	468	2	106
Silurus glanis	Silure glane	SPYGEN	*		2	156	*			
Tinca tinca	Tanche	SPYGEN	12	1390	12	1529	7	625	9	1404

Tél. : +33 (0)4 79 26 15 83
contact@spygen.com

SPYGEN S.A.S.
Savoie Technolac - BP274
17, rue du Lac Saint-André
73375 Le Bourget du Lac Cedex
FRANCE

www.spygen.com