



Rapport d'expérimentation

Étude sur la tolérance thermique de la reproduction du *Ptychochromis insolitus*

Michel LESTIN

2022-2023

Tutrice pédagogique : Marielle Thomas

Maître de stage : Charles-Edouard FUSARI

Aquarium Tropical du Palais de la Porte Dorée

293 Avenue Daumesnil, 75012 Paris

Institut Universitaire de Technologie Nancy-Brabois

Lieu-dit Le Montet, Rue du Doyen Urion, 54601 Villers-lès-Nancy

Je souhaite, tout d'abord, remercier Charles Edouard FUSARI, Directeur de l'Aquarium tropical de la Porte Dorée, ainsi que toute l'équipe de l'Aquarium, pour leur accueil, leur bienveillance ainsi que pour toutes les compétences et connaissances que j'ai pu acquérir à leur contact au cours de cette année.

Je remercie tout particulièrement Madame Valerie PILLET-DZIEDZICKI, Monsieur Jean-Daniel GALOIS et Monsieur Thierry CARRE pour leurs précieux conseils pour la rédaction de ce rapport et tout au long de mon apprentissage au sein de l'Aquarium Tropical.

Je remercie également mes enseignants de licence pour les connaissances qu'ils m'ont apportées et qui m'ont permis de rédiger ce rapport.

Je tiens, en outre, à adresser mes remerciements à Madame Marielle THOMAS, ma tutrice pédagogique, pour le temps qu'elle m'a consacré.

Enfin, je remercie également tous les responsables des Aquariums internationaux et aquariophiles privés qui ont pris le temps de répondre à mon enquête sur le *Ptychochromis insolitus*.

Résumé :

Ptychochromis insolitus est un poisson originaire de l'île de Madagascar classé en danger critique d'extinction par l'UICN (Union Internationale pour la Conservation de la Nature). Il est considéré comme une espèce micro-endémique à l'aire de répartition limitée à la rivière Amboabo, distribution confirmée par de multiples échantillonnages effectués entre 2013 et 2022 dans la région. De nombreuses menaces pèsent sur l'espèce à l'état sauvage, notamment l'assèchement des rivières, l'introduction d'espèces invasives et l'activité humaine.

Au vu de cette situation, un projet de migration assistée de l'espèce a été initié en 2013. Pour un tel projet de translocation, dans un site hôte où la température de l'eau est plus faible que les températures enregistrées dans l'habitat actuel, la conservation *in-situ* du *Ptychochromis insolitus* nécessite une étude de faisabilité.

Malgré l'absence de matériel biologique pour mener à bien l'expérimentation visant à tester et évaluer les capacités reproductrices de l'espèce à des températures plus basses, le projet a permis pour la première fois d'exploiter des données récoltées sur le terrain et de mener une réflexion concernant la mise en place d'un protocole expérimentale. Les données récoltées sur le terrain suggèrent que *P. insolitus* a la capacité de survivre, se reproduire et croître à des températures différentes comprises entre 21°C et 32 °C.

Des résultats obtenus grâce à une enquête auprès des détenteurs de populations captives sont, néanmoins, à modérer car les données communiquées n'ont pas été collectées dans le cadre d'un protocole expérimental strict et dans des conditions contrôlées. Toutefois, cette enquête a permis de mettre en avant l'importance du suivi et de la saisie régulière des données zootechniques lors de l'élevage des espèces captives pour la conservation de populations sauvages.

Abstract :

The freshwater fish *Ptychochromis insolitus* is endemic to the island of Madagascar and classified as Critically Endangered by the IUCN (International Union for Conservation of Nature). It is considered to be a micro-endemic with a range limited to the Amboaboa River, a distribution confirmed by multiple sampling surveys carried out between 2013 and 2022 in the region. The species faces numerous threats in the wild, including the drying up of rivers, the introduction of invasive species and human activities.

Given this situation, an assisted migration project of the species started in 2013. For such translocation project in a site where water temperatures are lower than the temperatures recorded in the current habitat, in-situ conservation of *Ptychochromis insolitus* requires a feasibility study.

Despite the lack of biological material to carry out the experiment aimed at testing and evaluating the reproductive capacities of the species at lower temperatures, the project has made it possible for the first time to use data collected in the field in order to implement an experimental protocol. The data collected in the field suggest that *P. insolitus* has the ability to survive, reproduce and grow at different temperatures between 21°C and 32°C.

The results obtained from a survey amongst the owners of captive populations should be treated with caution, as the data provided were not collected under strict experimental protocol and controlled conditions. However, the survey did highlight the importance of regular monitoring and data recording during the rearing of captive species for the conservation of their wild counterparts.

Table des matières

Résumé :	2
Abstract :	3
1 Introduction.....	5
1.1 Contextualisation du projet.....	5
1.2 La tolérance thermique	9
1.3 Les traits de vie biologiques et stratégie reproductive.....	10
1.4 Le Ptychochromis insolitus	11
2 Problématique et objectifs expérimentaux.....	12
3 Matériels et Méthodes.....	12
3.1 Dispositif expérimental.....	12
3.2 Évaluation des performances reproductrices	14
3.3 Enquête complémentaire sur les populations captives	15
4 Résultats.....	16
4.1 Travaux expérimentaux	16
4.2 Travaux d'enquête	17
5 Discussion	25
5.1 Travaux expérimentaux	25
5.2 Travaux d'enquête	25
6 Conclusion	27
Références Bibliographiques :	28
Annexe n°1	31
Annexe n°2.....	32
Annexe n°3.....	32
Annexe n°4.....	33
Annexe n°5.....	34
Annexe n°6.....	34
Annexe n°7.....	35
Annexe n°8.....	36

1 Introduction

1.1 Contextualisation du projet

Le phénomène d'érosion de la biodiversité est un enjeu mondial majeur qui se traduit par un déclin des populations animales avec notamment celle des vertébrés qui enregistre une chute de près de 69 % depuis les années 70 (figure 1). Les écosystèmes d'eau douce quant à eux sont particulièrement affectés avec un déclin des populations de vertébrés aquatiques de près de 83% (figure 2)(Living planet, 2022).

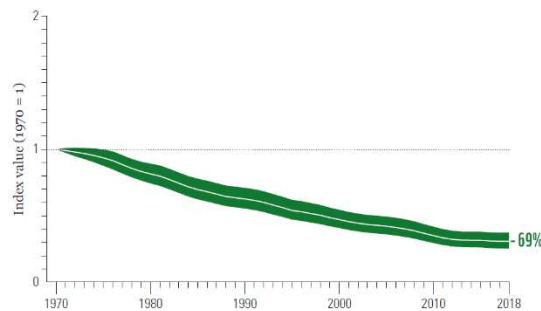


Figure 1 : L'Indice Planète Vivante (1970 à 2018). La variation moyenne de l'abondance relative de 31 821 populations, représentant 5 230 espèces surveillées dans le monde entier, était un déclin de 69 %. (Living planet, 2022)

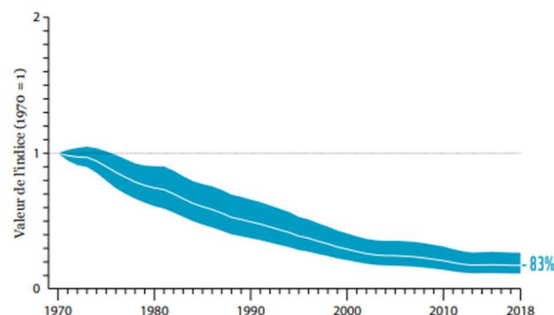


Figure 2 : Figure 1 : L'Indice Planète Vivante (1970 à 2018). La variation moyenne de l'abondance relative de 31 821 populations d'eau douce à travers le globe, représentant 1 398 espèces, a diminué de 83 %. (Living planet, 2022)

Située à 400 km des côtes africaines dans l'océan Indien, Madagascar n'échappe pas à ce phénomène global. La biodiversité de l'île rouge, constituée à 90% d'espèces endémiques (Goodman & Benstead, 2003), résultat d'une histoire géologique complexe et d'un isolement de 88 millions d'années, est affectée par l'activité humaine et grandement menacée. La surexploitation des ressources naturelles et les pratiques agricoles non durables affectent respectivement 62,1 et 56,8 % des vertébrés de l'île (Ralimanana et al., 2022).

La date à laquelle la présence humaine est devenue permanente à Madagascar est encore débattue. Cependant l'expansion démographique rapide datant d'il y a 1000 ans coïncide avec le phénomène de changement majeur des paysages de l'île et l'extinction de la mégafaune endémique (Alva et al., 2022).

Aujourd'hui, 123 espèces de poissons sont répertoriées comme évoluant uniquement dans les écosystèmes d'eau douce malgaches. 64% (79) d'entre elles sont endémiques, les familles Bedotiidae (16), Anchariidae (6) et Aplocheilidae (6) étant présentes uniquement sur l'île. 63% (50) des poissons d'eau douce endémiques sont menacés si l'on s'en réfère à la classification de la liste rouge de l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (6 Vulnérable, 30 En danger, 14 En danger critique) (figure 3) (leiss et al., 2022).

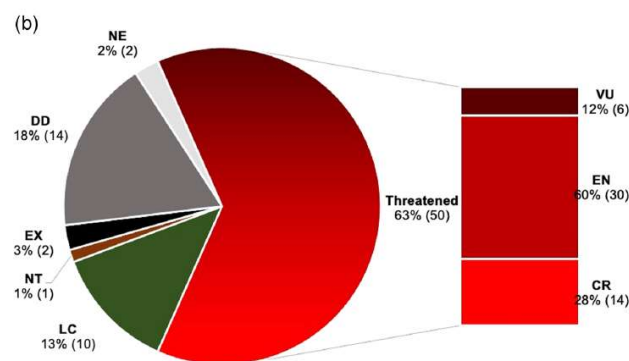


Figure 3 : Statut de menace (UICN) des espèces endémiques de poissons d'eau douce malgaches (en %) (Leiss al.,2022)

L'île de Madagascar abrite un certain nombre d'espèces aquatiques considérées comme micro-endémiques, c'est-à-dire que l'on ne peut retrouver que dans un lac ou un tronçon de rivière. Ces espèces, à l'aire de répartition très restreinte, sont assujetties à un fort risque d'extinction. Les principales raisons de ces risques de disparition sont la déforestation, la surpêche et l'introduction d'espèces invasives. (Pascal, 2015) (Rham, 1996)

C'est dans ce contexte d'érosion de la biodiversité malgache que s'inscrit le programme de conservation Fish Net Madagascar. Une collaboration pluridisciplinaire rassemblant l'expertise d'associations, d'organismes environnementaux, de laboratoires universitaires locaux et des aquariums publics. Cette alliance de compétences œuvre pour la préservation d'espèces de poissons du Bassin versant de la rivière Amboabo, près du village de Marotandrano dans le district de Mandritsara. Un bassin classé comme zone clé de biodiversité par l'IUCN (Laura Máiz-Tomé et al., 2018). Cet habitat représente le dernier bastion connu pour les espèces en danger critique d'extinction, *Ptychochromis insolitus*, *Paretroplus gymnopreopercularis* et *Rheocles derhami*.

La gestion *ex-situ* pour la conservation des espèces comme définie par l'IUCN (IUCN, 2014) est utilisée par Fish Net à travers l'élaboration de populations de secours permettant d'apporter

une réponse rapide, de cours terme, pour les espèces en danger critique d’extinction. Ainsi depuis 2013, des populations captives ont été établies et sont maintenues en étangs à Madagascar pour les espèces *P. insolitus*, *P. nourissati*. De plus, depuis l’exportation d’individus *P. insolitus* hors du pays, de nombreuses populations captives ont vu le jour au sein d’institutions zoologiques. D’après ZIMS (Zoological Information Management System), on recense ainsi 1139 *Ptychochromis insolitus* réparties dans 21 institutions zoologiques mondiales (figure 4).

Nom Scientifique	Nom commun	Sexe	Date De Naissance/Date Précise Établie	Dernière détenteur signalé	Dernier propriétaire signalé
Ptychochromis insolitus	Malagasy cichlid	0.0.19	Dec 01, 2022	ASKHAM	ASKHAM
		0.0.8	Nov 16, 2020	BELOWWAT	TORONTO
		0.0.11	Jan 01, 2020	BERLINZOO	BERLINZOO
		0.0.7	Feb 28, 2022	BERNBURG	BERNBURG
		0.0.17	Sep 12, 2022	BRISTOL	BRISTOL
		20.0.0		BRISTOL	BRISTOL
		0.0.40	Nov 07, 2021	COPEN AKV	COPEN AKV
		0.0.47	Jun 20, 2018	COPEN AKV	COPEN AKV
		-	Jul 14, 2020	DUISBURG	DUISBURG
		0.0.16	Dec 31, 2021	DUISBURG	DUISBURG
		0.0.375		KOLN	KOLN
		0.0.88		LEIPZIG	LEIPZIG
		0.0.24	Apr 21, 2021	MALMO AQ	MALMO AQ
		0.0.12	Apr 01, 2022	MALMO AQ	MALMO AQ
		0.0.29	Jul 13, 2020	NURNBERG	NURNBERG
		0.0.117	Jun 18, 2020	OSTRAVA	OSTRAVA
		0.0.20	Mar 04, 2020	Piotr J. Korzeniowski	KOLN
		-	Jun 08, 2023	PLZEN	PLZEN
		0.0.6	Mar 21, 2022	RHENEN	RHENEN
		0.0.100	Jun 25, 2022	RHENEN	RHENEN
		1.1.0	May 03, 2021	RHENEN	RHENEN
		3.2.0	May 05, 2022	RHENEN	RHENEN
		-	Jun 19, 2022	SCHWERIN	SCHWERIN
		0.0.50	Mar 19, 2020	STUTTART	STUTTART
		0.0.5	Feb 16, 2016	TORONTO	TORONTO
		Mâle	Sep 05, 2014	TORONTO	TORONTO
		0.0.4	Nov 17, 2016	TORONTO	TORONTO
		0.0.22	Feb 16, 2016	TORONTO	TORONTO
		0.0.2	Sep 05, 2014	TORONTO	TORONTO
		Mâle	Sep 05, 2014	TORONTO	TORONTO
		0.0.6	Aug 15, 2016	TORONTO	TORONTO
		0.0.30	Oct 15, 2020	VIENNA	VIENNA
		0.0.30	Jan 30, 2020	VIENNA	VIENNA
0.0.19	Aug 13, 2021	WARSAW	WARSAW		
4.4.0	Jan 06, 2020	WHIPSADE	WHIPSADE		

Figure 4 : Populations captives de l’espèce *P. insolitus* au sein des institution zoologiques (ZIMS, 2023)

Parallèlement, Fish Net Madagascar étudie la possibilité d’une migration assistée comme solution à moyen terme pour la conservation des espèces cibles en suivant les lignes directrices de l’IUCN pour les réintroductions et autres translocations à des fins de conservation (UICN,2014). L’état de santé de la rivière et des populations piscicoles a été effectué à travers des séances d’échantillonnages sur 6 sites répartis le long de la rivière (figure 5), cours supérieur de la rivière Amboaboia et situés dans la zone protégée de la réserve spéciale de Marotandrano, gérée par Madagascar National Parks (MNP). Les précédentes séances d’échantillonnage ont montré l’absence des espèces cibles dans cette section de la rivière (site 1), car des successions de barrages, de chutes d’eau et de rapides les empêchent de migrer vers l’amont. Néanmoins l’indice biotique relevé dans cette zone et les observations de terrain montrent une section de rivière en meilleur santé comparativement au site où les espèces sont actuellement présentes (figure 6).

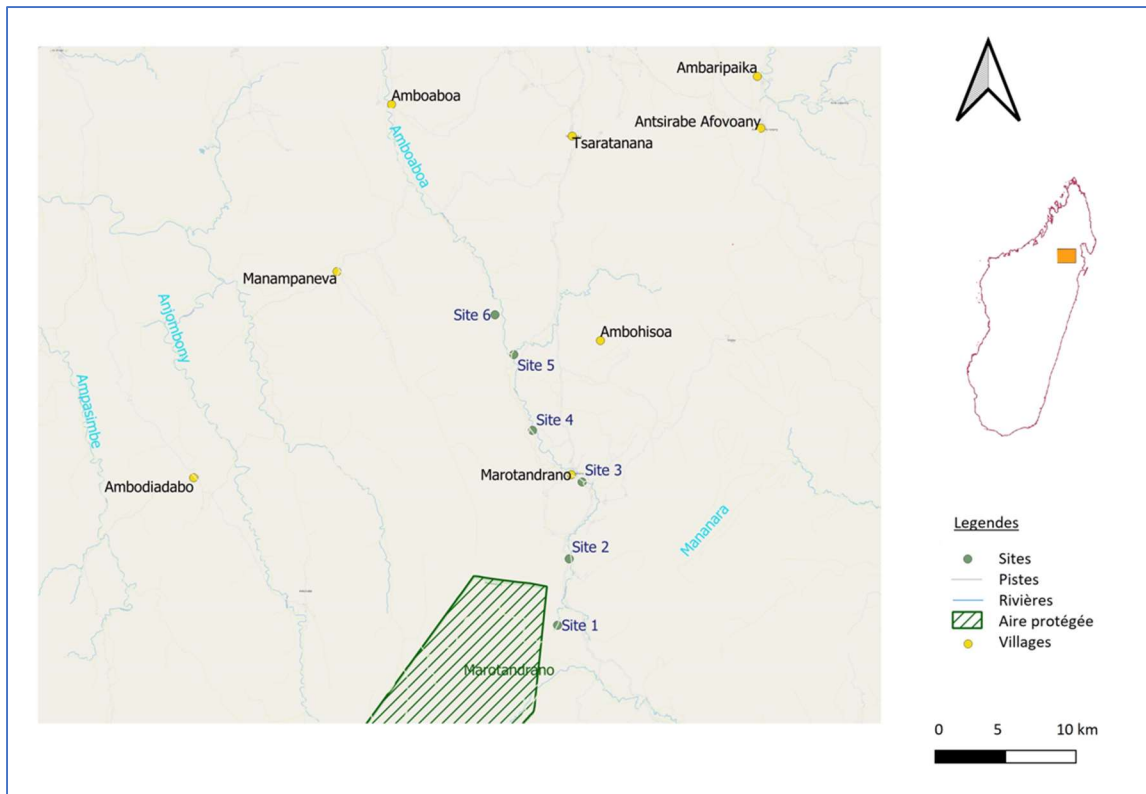


Figure 5 : carte des différents sites de la rivière Amboabo

Sites	Biotic Index					
1	13					
2	5					
3	4					
4	4					
5	5	IBGN	>17	16-13	12-9	8-5
6	6	Couleur	Very good	Good	Faire	Poor
						<4
						Very poor

Figure 6 : indice biotique des 6 sites le long de la rivière Amboabo (2017).

Pour évaluer la faisabilité d'une migration assistée des sites d'origines (3, 4, 5 et 6) vers le site hôte (1), plusieurs actions ont été entreprises. Une vétérinaire de la Société Zoologique de Londres (ZSL) spécialisée sur les maladies de la faune et les risques de maladies liées à la migration assistée a effectué une analyse des risques de maladies (DRA) à l'aide de techniques avancées, développées par ZSL (Sainsbury et Vaughan-Higgins 2012) et conformément aux directives de l'UICN. Le travail consiste à évaluer les points critiques au cours de la trajectoire de migration assistée lorsque les risques de maladie auront un impact sur la santé des espèces cibles.

Par ailleurs, un suivi des paramètres physico-chimiques de l'eau (température, pH, oxygène dissous, alcalinité) est réalisé chaque mois depuis septembre 2018 par les agents du MNP sur les 6 différents sites le long de la rivière Amboabo.

Ces relevés ont permis de mettre en évidence des différences dans les variations saisonnières des paramètres environnementaux entre les différents sites avec notamment une différence de température (figure 7).

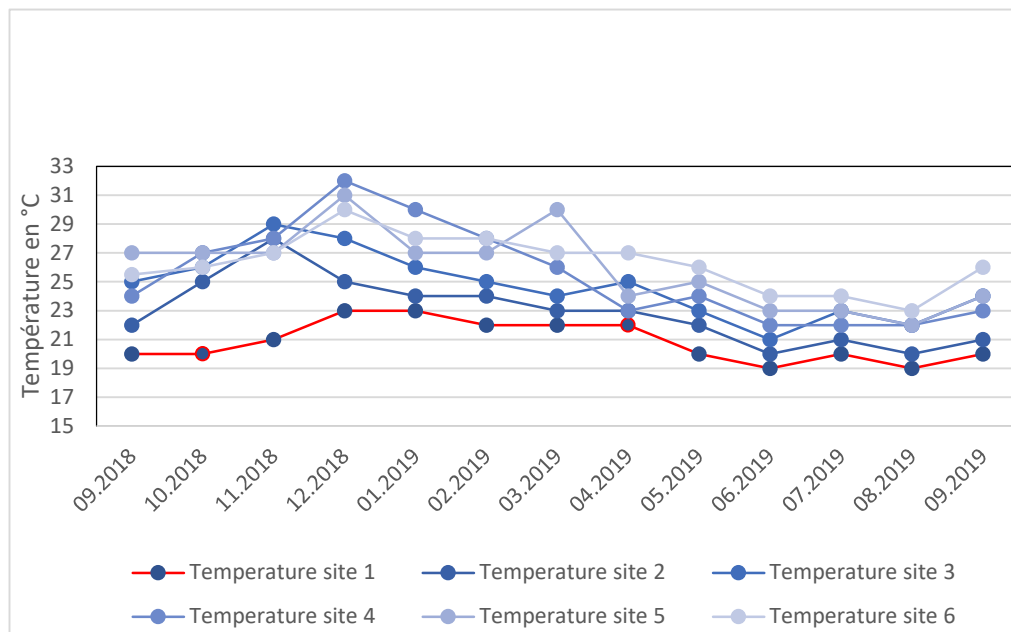


Figure 7 : Température de l'eau des 6 sites de collecte de la rivière Amboaboa entre septembre 2018 et septembre 2019 (Annexe n°6)

1.2 La tolérance thermique

La température est un facteur déterminant pour la physiologie des espèces animales, elle influence également le comportement, la reproduction, la taille des populations et parfois même la répartition géographique des espèces (Brett, 1971; Huey et Stevenson, 1979). Elle est un facteur majeur et plus particulièrement pour les poïkilothermes aquatiques.

La température influence les mécanismes qui sont liés à la reproduction. En effet, il a été notamment démontré que la température influence négativement ou positivement les processus hormonaux déclenchant le frai, les comportements reproducteurs et la maturation des gamètes. Chez les Cyprinidés, il a été observé que le frai a lieu au printemps en Europe quand la température de l'eau est uniquement à des températures comprises entre 15 et 18°C. (Billard et Gillet, 1984). Chez *Apistogramma cacatuoides*, des températures basses (20 à 22 °C) et élevées (29 à 30 °C) entraînent une diminution de la fertilité qui se traduit par la diminution de la production d'ovocyte. (Römer, 2001)

De plus, chaque espèce possède un préférentiel thermique en dehors duquel la température a des effets indésirables pouvant entraîner la mort. Par exemple, chez le Cichlidés *Oreochromis niloticus*, il a été démontré que des températures supérieures à 39°C, pour un poisson acclimaté à une température de 20°C, étaient mortelles (Azaza et Kraiem, 2007). Chez *Pseudocrenilabrus multicolor victoriae*, des températures supérieures à 34°C entraînent un déclin du métabolisme (McDonnell, 2015). Par ailleurs, chez les poissons, il existe des différences de tolérance thermique pour une espèce donnée en fonction des stades de vies. Ainsi, les adultes

reproducteurs et les embryons ont des plages de tolérance plus étroites que les larves et les adultes non reproducteurs (Dahlke et al., 2020).

Deux mécanismes influencent la tolérance thermique des poissons. Le premier intervient au cours du développement précoce des organismes, en réponse aux conditions environnementales produisant un changement phénotypique irréversible (West-Eberhard, 2005) Il s'agit, ici, de la plasticité développementale. Le second peut se produire tout au long de la vie de l'organisme de manière réversible, en réponse aux variations environnementales. On parle alors d'acclimatation (Angilletta, 2009) (Beitinger et al., 2000).

1.3 Les traits de vie biologiques et stratégie reproductive

Les traits d'histoire de vie des espèces désignent les caractéristiques des espèces liées à la croissance, à la survie et à la reproduction pour lesquelles ces espèces dépensent de l'énergie. Les données sur les traits de vie des espèces peuvent être utilisées de diverses manières en écologie aquatique : en dynamique des populations, en écologie des communautés, en bio-indication, en modélisation des préférences hydrauliques et en écologie évolutive (Blanck, 2007).

Les études sur la biologie de la reproduction des poissons sont indispensables et constituent une condition de base pour planifier de meilleures stratégies de conservation et de gestion des ressources aquatiques (Muchlisin et al., 2010 ; 2014). La stratégie reproductive d'une espèce peut être décrite par un ensemble de traits de vie lié à la reproduction, de la gamétogénèse à la fin des stades larvaires. Elle est classée en 4 catégories : l'œuf (diamètre de l'ovocyte, température d'incubation, etc.) ; la larve (taille initiale larvaire, résorption complète du sac vitellin, etc.) ; femelle et mâle sexuellement matures (âge à maturité sexuelle, poids à maturité sexuelle, etc.) ; conditions de ponte (température pendant la ponte, soins aux jeunes, etc.) (Teletchea et al., 2007).

Conditions environnementales et traits de vie sont étroitement liés. A l'échelle d'une rivière, les variations environnementales entre l'amont et l'aval se répercutent sur les traits de vie des poissons. Ainsi, dans les cours d'eau du Midwest des Etats-Unis, les espèces vivant en amont ont une durée de vie plus courte, une taille corporelle plus petite et une maturité sexuelle plus précoce que les espèces vivant en aval (I J. Schlosseur, 1990).

Lassala et Renesto (2007), en analysant la variabilité génétique de 84 espèces de poissons tropicaux d'eau douce, ont observé une différence significative de variabilité génétique des espèces ayant deux modes de stratégie de reproduction différents. Le groupe d'espèces qui pratique les soins aux jeunes possédait une plus faible variabilité génétique que les espèces qui ne pratiquent pas ces soins.

1.4 Le *Ptychochromis insolitus*

Ptychochromis insolitus est un poisson endémique de l'île de Madagascar appartenant à l'ordre des Cichliformes et à la sous famille des Cichlidae (Fishbase, 2023). L'espèce décrite en 2006 par M. Stiassny et J S. Sparks est également appelée « Cichlidé du Mangarahara » en référence au cours d'eau dont il est originaire. Son nom vernaculaire malgache « Joba Mena » signifie « La fille rouge » fait référence à la couleur rougeâtre des nageoires des mâles durant la période de reproduction.



Ptychochromis insolitus
(Photo prise par C.FUSARI)

Le *P. insolitus* est considéré comme une espèce micro-endémique limitée à la rivière Amboabo, distribution confirmée par de multiples échantillonnages effectués entre 2013 et 2022 dans la région (Fusari pers.com). Auparavant, *P. insolitus* était également présent dans la rivière Mangarahara, autre affluent de la rivière Sofia. Mais à présent cette rivière est en grande partie asséchée de septembre à novembre et l'espèce n'y est plus présente (UICN, 2023).

En ce qui concerne l'état des population sauvages, l'espèce est classée en danger critique d'extinction, selon la liste établie par l'UICN (dernière évaluation établie en juin 2016). En effet, l'espèce fait face à diverses menaces, notamment les modifications de son milieu par l'homme, qu'il s'agisse de la pêche artisanale locale, de la déforestation qui entraîne des modifications de son habitat, ou du drainage de l'eau pour l'irrigation des cultures. L'introduction d'espèces invasives indigènes, telles que *Oreochromis niloticus*, constitue également une menace pour le *P. insolitus* (Benstead et al., 2003) (Ravelomanana et al., 2016).

Dans son habitat naturel, *P. insolitus* vit dans des eaux claires avec un substrat sablonneux et rocailleux. L'eau y est peu profonde avec un courant rapide et une oxygénation importante (Stiassny & Sparks, 2006).

Pendant la période de reproduction en condition semi-naturelle d'étangs, des observations ont permis de constater, qu'un mâle peut se reproduire avec plusieurs femelles. Une fois les œufs pondus et fertilisés la femelle garde seule le nid, puis les alevins, pendant plusieurs jours (C. Fusari pers com).

Les différences entre le mâle et la femelle sont importantes. La femelle, de taille plus petite, est de couleur plutôt grise. Le mâle, plus grand, présente une coloration plus marquée, l'extrémité de ses longues nageoires devient rouge durant la période de reproduction (Ziegler et al. 2020)

Comme la plupart des cichlidés, le Joba Mena est territorial et peut se montrer agressif à l'égard d'un congénère ou d'un autre poisson qui viendrait menacer son territoire (Ziegler et al., 2020).

2 Problématique et objectifs expérimentaux

La conservation *in-situ* du *Ptychochromis insolitus* nécessite une étude de faisabilité pour une migration assistée de l'espèce dans un site hôte où la température de l'eau est plus faible que celles enregistrées dans son habitat actuel. La question de la capacité de cette espèce à survivre, croître et se reproduire à des températures plus faibles se pose donc. Afin de tenter d'apporter des éléments de réponse à cette question, le présent projet vise à étudier la tolérance thermique de la reproduction de l'espèce de cichlidé *Ptychochromis insolitus* et plus précisément sa capacité à se reproduire à des températures plus basses (site 1) que celles enregistrées dans son habitat actuel (sites 3, 4, 5 et 6).

De plus, comme indiqué dans les lignes directrices pour les réintroductions et autres migrations assistées à des fins de conservation de l'IUCN (2014), les projets de déplacement de population doivent s'appuyer sur les connaissances des traits de vie des espèces cibles dans le processus d'étude de faisabilité mais également au moment même de la planification de la délocalisation assistée (IUCN, 2014). En ce sens, la présente étude s'attachera également à récolter des données sur la stratégie reproductive de l'espèce *Ptychochromis insolitus*.

3 Matériels et Méthodes

3.1 Dispositif expérimental

Le modèle biologique utilisé est l'espèce *Ptychochromis insolitus*. Les individus sexuellement mûres proviennent de l'Aquarium National du Danemark (AND) et sont les descendants d'une souche sauvage de 19 individus (11 mâles et 8 femelles) capturés dans la rivière Amboaboa en 2013.

Le dispositif expérimental permet de tester deux températures différentes. La première, 28,6 C, correspond à la température moyenne du mois de novembre sur les sites 3 à 6 où l'espèce *P. insolitus* est présente naturellement. La deuxième, 22°C, correspond à la température moyenne du site 1 (site hôte du projet de migration assistée) durant le même mois. Le mois de novembre est choisi car il correspond au moment où ont lieu la majorité des pontes dans une période de reproduction qui s'étale d'octobre à mars pour les espèces de Cichlidés malgaches (Kiener, 1963).

Trois aquariums par température sont mis en place pour obtenir trois répliques par température pour un total de six aquariums. Chaque aquarium mesure 70 cm de large, 95 cm de profondeur et 50 cm de hauteur pour un volume de 266 Litres brut. Les bacs ont été dimensionnés en tenant compte des observations faites sur les populations captives européennes de l'espèce (Ziegler et al., 2020).

La répartition des températures à travers les 6 bacs expérimentaux a été randomisée (figure 6).

Pour commencer la reproduction, une population de géniteurs composée de deux mâles et quatre femelles par unité expérimentale est constituée et soumise à un régime de température

constant pour une durée indéterminée après une période d'acclimatation à raison d'1°C par jour. Le sexe-ratio est établi en prenant en compte les observations faites en étangs d'élevages à Madagascar (Fusari, pers com).

Unités expérimentales	Température appliquées	Dimensions (cm)	Sexe-ratio
1	28,6 °C	70*95*50	2 ♂ et 4 ♀
2	28,6 °C	70*90*50	2 ♂ et 4 ♀
3	22 °C	70*95*50	2 ♂ et 4 ♀
4	28,6 °C	70*95*50	2 ♂ et 4 ♀
5	22 °C	70*95*50	2 ♂ et 4 ♀
6	22 °C	70*95*50	2 ♂ et 4 ♀

Figure 8 : Dispositif expérimental mis en place

Les aquariums ont été dotés d'une fine couche de sable, de trois plantes artificielles de deux tronçons de tuyaux de 25 cm de diamètre, de 4 pierres d'environ 15 cm de diamètre et de 3 petites souches de bois.

Les tronçons de tuyaux ont pour but de servir de cachette et d'enrichissement pour les animaux afin de limiter tout stress lié à l'agressivité intraspécifique. Les pierres, souches, les plantes et tuyaux, ont pour but de servir d'option pour de support de ponte (Annexe n°1)

Tous les aquariums ont disposé des mêmes équipements.

Les aquariums sont filtrés à l'aide de filtres exhausteurs (modèle NSF-R380L de chez AQUA NOVA) reliés au circuit général d'air comprimé de la quarantaine.

En ce qui concerne la photopériode appliquée, les unités expérimentales étaient éclairées par des tubes de 28 W et d'une température de 4000K. Ils sont utilisés pour faciliter l'observation des poissons et pour reproduire une photopériode de 11h20 (8h40-20h).

La régulation de la température dans les aquariums est assurée à l'aide d'un thermoplongeur de 150 W (Vistherm VTX150, aquarium Systems) et d'un groupe froid (ICE 400, AQUAVIE). Tous deux sont réglés sur la même température. L'objectif est de garantir une température la plus stable possible. Les groupes froids étaient alimentés par une pompe de remontée de 600 L/h (Micra Plus, SICCE).

Pour le suivi de la température et s'assurer du bon fonctionnement des équipements, les aquariums ont été dotés de trois systèmes de lecture, situés à trois endroits différents des unités expérimentales :

- Une sonde, intégrée dans le groupe froid, donne la température de l'eau qui sort de ce-dernier
- Un thermomètre en verre, situé à droite sur la vitre de face (modèle premium de chez JBL).
- Un thermomètre électronique, équipé d'une sonde située à gauche sur la vitre de face (T-meter II de chez Aqua Medic).

En ce qui concerne la qualité d'eau des aquariums, ces-derniers ont été remplis avec 80 % d'eau osmosée et 20 % d'eau de ville afin d'obtenir des paramètres recommandés pour l'espèce (Ziegler et all, 2020) (Cf : annexe 6 Une eau peu alcaline, un pH de 7,3 et une eau fortement oxygénée).

Des changements d'eau ont été réalisés chaque semaine (à hauteur de 50 % du volume d'eau avec un mélange de 20 % d'eau de ville et 80 % d'eau osmosée).

Afin de s'assurer de la bonne qualité de l'eau et du bon fonctionnement de la filtration. Une série de tests physico-chimiques est réalisée chaque semaine. Les paramètres testés sont : pH, NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ , Conductivité, O_2 . (Protocole en Annexe n°3)

Quotidiennement, un relevé de température et un contrôle des équipements ont été pratiqués dans les aquariums (à 9h et 17h). Cela a permis de s'assurer que la température des aquariums correspondait à celle attribuée, tout en avertissant d'un éventuel dysfonctionnement du groupe froid ou du chauffage.

L'alimentation a été pensée selon un protocole de nourrissage (Annexe n°2). Il est composé de trois enrichissements par jour et d'une alternance entre nourriture sèche, nourriture vivante (congelée) et proies vivantes afin de stimuler la reproduction des individus (Ziegler et al., 2020).

3.2 Évaluation des performances reproductrices

Afin d'identifier une quelconque corrélation entre la température d'élevage et les performances reproductrices de l'espèce, un ensemble de données sur les traits de vie sont récoltées sur chaque unité expérimentale pendant la durée de l'expérience (Massey et al., 2022) (Storefish, 2023) :

-**La production ou non d'œufs** dans l'unité expérimentale.

-**Le temps d'incubation** correspond à la durée (nb de jour) observée qui est nécessaire aux ovocytes pour éclore une fois pondus. On estime que la fertilisation se produit le même jour que la ponte Jpf (Jours post-fertilisation).

-**Le taux d'éclosion**, permet de connaître le succès du développement embryonnaire. Il s'exprime en pourcentage et correspond au nombre d'œufs ayant éclos en fonction du nombre d'œufs pondus après un temps d'incubation. Il est déterminé par comptage des alevins à 0 jpe (Jours post-éclosion).

-**Le taux de survie** des alevins. Ces-derniers sont capturés à 0 jpe et placés dans un pondoir immergé situé dans le bac des géniteurs. Il est déterminé par un comptage des alevins à 15 et 30 jpe et s'exprime en pourcentage. Les deux étapes pour le calcul du taux de survie sont choisies en tenant compte des informations récoltées au sein des divers aquariums publics suggérant une maturité sexuelle de l'espèce à partir de 22 mois. Cependant, pour avoir une idée du taux de survie lié à la qualité de la reproduction et non à la qualité de l'élevage des alevins, ces jours ont été fixés à 15 et 30 jpe.

- **La fécondité relative** permet aussi d'estimer la capacité d'une femelle à produire des ovocytes. Elle est déterminée par le nombre d'ovocytes qu'est capable de produire une femelle.

- **La fécondité absolue** permet d'estimer la capacité d'une femelle à produire des ovocytes. Elle est calculée par le rapport du nombre d'ovocytes produit sur la masse de la femelle

Les données récoltées sont soumises à une analyse de la variance (ANOVA). Les données de chaque trait de vie sont analysées en utilisant une ANOVA unidirectionnelle avec deux niveaux de variation (22°C et 28,6°C).

En outre, afin d'accroître les connaissances sur la stratégie reproductive de *P. insolitus*, des observations sont réalisées quotidiennement à raison de deux unités expérimentales par jour pendant une durée de 20 minutes chacune. Ces observations permettent la récolte de données sur les traits de vie suivants (Storefish, 2023) :

-La préparation du site de ponte permet de déterminer si l'espèce disperse ses œufs dans la colonne d'eau, directement sur un ou plusieurs substrats, ou à l'intérieur d'un nid construit par un ou les deux parents.

-Le substrat de ponte qu'utilise le *P. insolitus* afin de pondre ces œufs.

-La durée de la période de frai qui correspond à la durée de la période de reproduction évaluée en jours.

-Le schéma d'accouplement permet de déterminer le type d'accouplement du *P. insolitus* : la monogamie (un mâle et une femelle), la polygamie (un individu, mâle ou femelle, a plusieurs partenaires) et la promiscuité (les deux sexes ont plusieurs partenaires au cours d'une même période de reproduction).

-Les soins parentaux permettent de savoir si l'un ou les deux parents s'occupent de la progéniture. Si ces soins sont existants, la durée des soins parentaux est estimée en jours.

3.3 Enquête complémentaire sur les populations captives

Depuis 2018, l'espèce *Ptychochromis insolitus* est largement distribuée, maintenue et reproduite dans les institutions zoologiques (Figure 4). Des données peuvent être générées dans chaque institution à travers la gestion zoologique de ces populations captives et les observations faites pendant l'élevage. Pour récolter ces données afin d'en apprendre plus sur la biologie et les traits de vie de l'espèce, une enquête a été menée. Un questionnaire en ligne a été réalisé via l'application Google Forms et a été envoyée par courriel à 21 institutions Zoologiques et aquariophiles privées détenteurs de l'espèce (cf Annexe n° 7 et 8).

L'enquête comporte à la fois des questions à choix multiples et des questions ouvertes.

Le questionnaire a été structuré selon les trois catégories suivantes :

- Taille des aquariums et taille de leurs populations
- Le comportement et la physiologie de *P. insolitus* pendant la reproduction
- La qualité de l'eau dans lequel le poisson est maintenu

4 Résultats

4.1 Travaux expérimentaux

Le matériel biologique nécessaire n'a pas pu être obtenu pour l'expérimentation. En effet le Zoo-Aquarium de Cologne et l'Aquarium National du Danemark, n'ont pas pu envoyer les spécimens comme convenu, respectivement pour des raisons administratives d'exportation et des raisons sanitaires. Néanmoins, le dispositif expérimental a été mis en place et le suivi des paramètres physico-chimiques a tout de même été effectué (Figure 9) :

	Aquarium 1	Aquarium 2	Aquarium 3	Aquarium 4	Aquarium 5	Aquarium 6
NH ₃ (mg.L ⁻¹)	0	0	0	0	0	0
NO ₂ (mg.L ⁻¹)	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
KH (mg.L ⁻¹)	3	3	3	3	3	3
Conductivité (μS.cm ⁻¹)	182(±2,8)	179(±3,5)	169(±2,6)	170(±1,6)	160(±2,9)	168(±2,6)
pH	7,77(±0,05)	7,60(±0,08)	7,62(±0,03)	7,59(±0,02)	7,66(±0,03)	7,60(±0,05)
Oxygène dissous (mg.L ⁻¹)	> 8	>8	>8	>8	>8	>8

Figure 9 : Moyenne des paramètres physico-chimiques des unités expérimentales sur 5 semaines

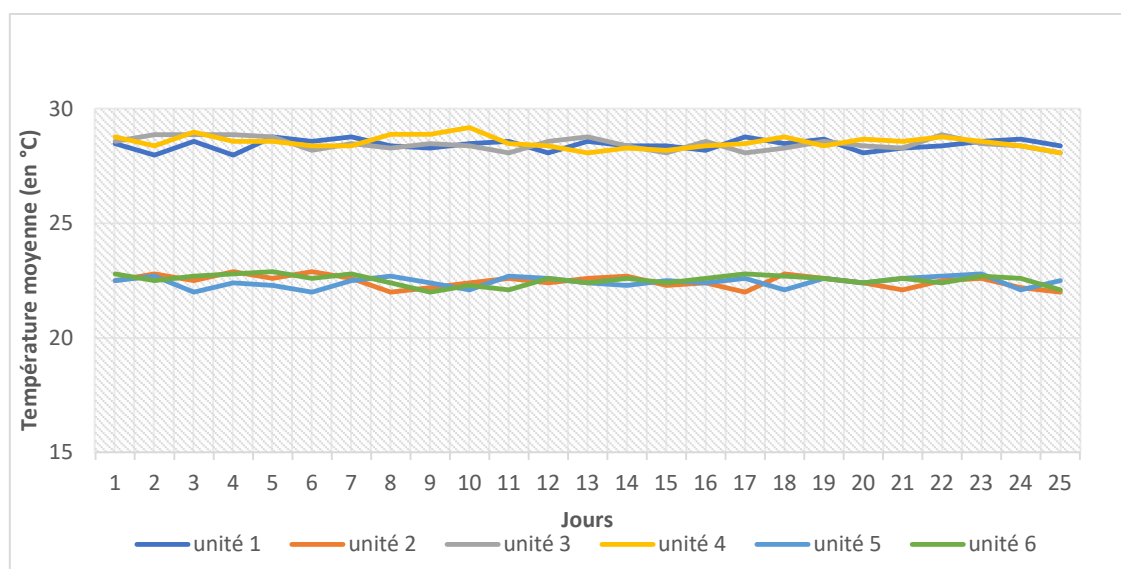


Figure 10 : Température moyenne exprimée en °C sur 5 semaines pour chaque unité expérimentale.

Les résultats indiquent une qualité d'eau sans ammonium (0 mg.L⁻¹), sans nitrite (<0.01 mg.L⁻¹) avec une conductivité de 171(±2,7) μS.cm⁻¹ un pH de 7,64(±0,04) (Figure 9). Les résultats montrent également une température moyenne de 28,6(±0,26) °C pour les unités expérimentales 1,3 et 4. De plus, les unités expérimentales 2, 5 et 6 ont eu une température moyenne de 22,5(±0,25) °C (Figure 10).

4.2 Travaux d'enquête

Sur les 21 questionnaires envoyés aux institutions Zoologiques détenant *P. insolitus*, il y a eu 11 réponses d'établissement. Soit un pourcentage de réponse de 36,7 %.

De plus, le propriétaire privé de *P. insolitus* a également répondu à l'enquête.

➤ Taille des aquariums et leur population

- Question n°1 : Pouvez-vous nous donner le nombre et les dimensions de vos aquariums contenant *P. insolitus* ?
- Question n°2 : Quel est le nombre d'individus par aquarium et le sex-ratio ?

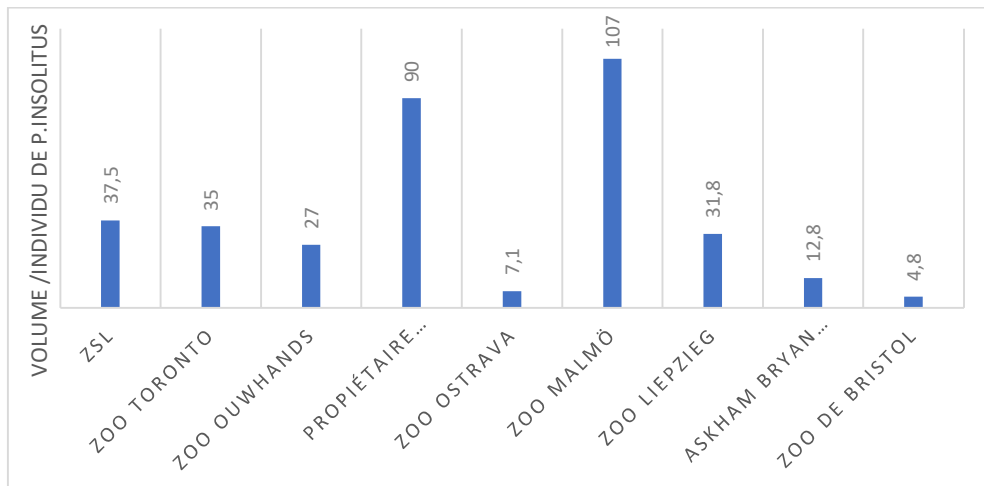


Figure 11 : Densité des populations captives de *P. insolitus* dans différentes institutions zoologiques, en litre par individu.

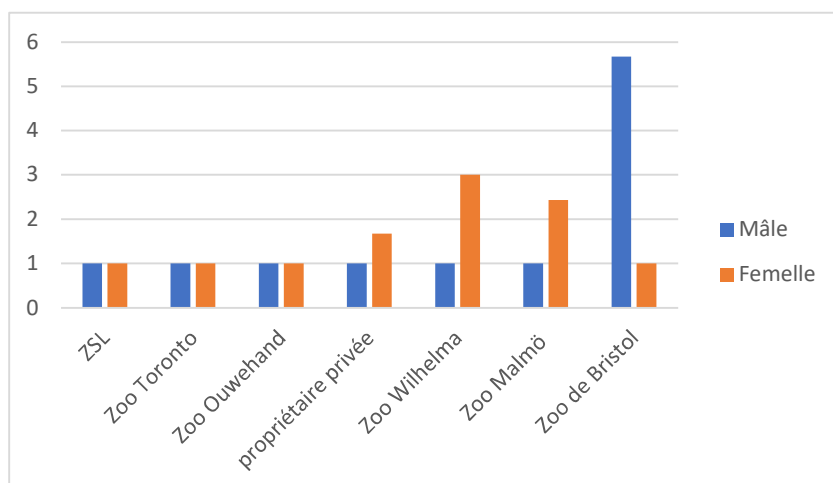


Figure 12 : Sex-ratio de *P. insolitus* dans différentes institutions zoologiques

Les résultats obtenus aux questions 1 et 2 (Annexe n°4) ont permis de calculer la densité, par institution, exprimée en litre par individu (Figure 11). On observe une disparité des résultats avec 107 litres par individu au zoo de Malmö contre 4.8 litres au Zoo de Bristol. Les données

montrent également (Figure 12) trois institutions présentant un sex-ratio de 1:1, trois institutions avec un sex-ratio comportant plus de femelles que de mâles. Enfin, le Zoo de Bristol indique un sex-ratio inverse avec plus de mâles que de femelles. L'aquarium National du Danemark (AND), le Zoo de Wilhelma et le Zoo de Cologne n'ont pas totalement répondu à la question n°2. En outre, le zoo d'Ostrava n'a pas communiqué de sex-ratio.

➤ **Le comportement et la physiologie de *P. insolitus* pendant la reproduction**

- Question n°3: Quel schéma observez-vous lors du comportement reproducteur ?

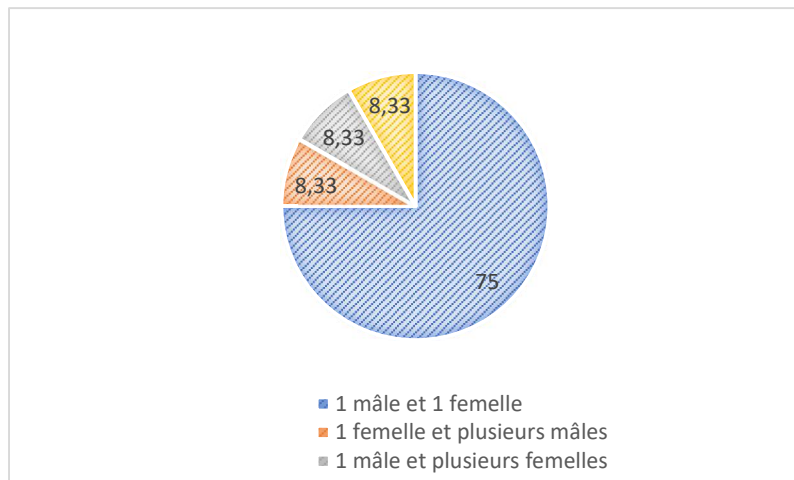


Figure 13 : Schéma comportemental observé pendant l'accouplement de *P. insolitus*.

75 % des enquêtés disent avoir observé un comportement reproducteur composé d'un seul mâle et d'une seule femelle (Figure 13).

- Question n° 4: Qui garde les oeufs ?

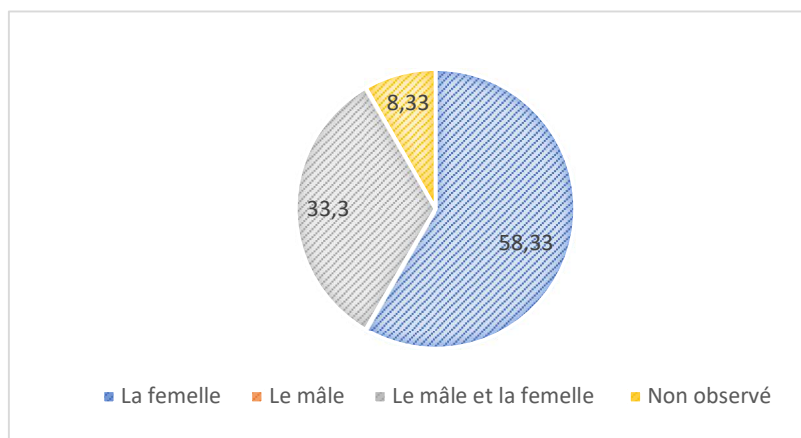


Figure 14 : Schéma comportemental des géniteurs *P. insolitus* concernant la garde des œufs.

58,33 % des questionnés affirment que les œufs sont gardés uniquement par la femelle (Figure 14).

- Question n°5: Qui garde les alevins ?

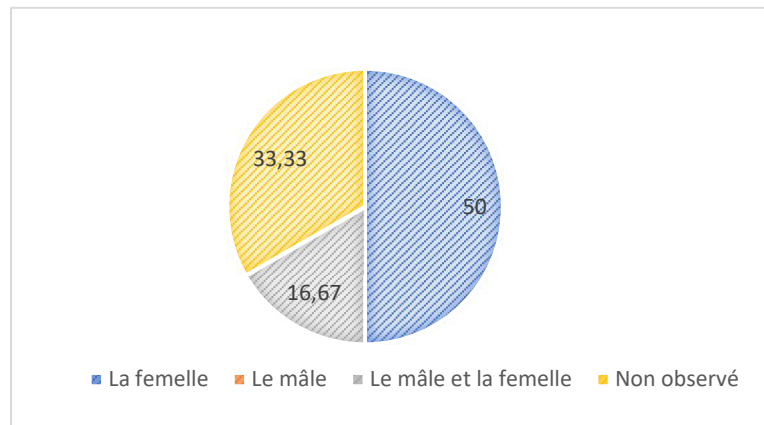


Figure 15 : Schéma comportemental observé chez des géniteurs *P. insolitus* pour la garde des alevins.

50 % des questionnés, ayant observé une ponte aboutie de *P. insolitus*, affirment que la femelle est la seule à garder les alevins (Figure 15).

- Question n°6 : À quel âge les individus mâles atteignent-ils la maturité sexuelle ?
- Question n°7 : À quel âge les individus femelles atteignent-ils la maturité sexuelle ?

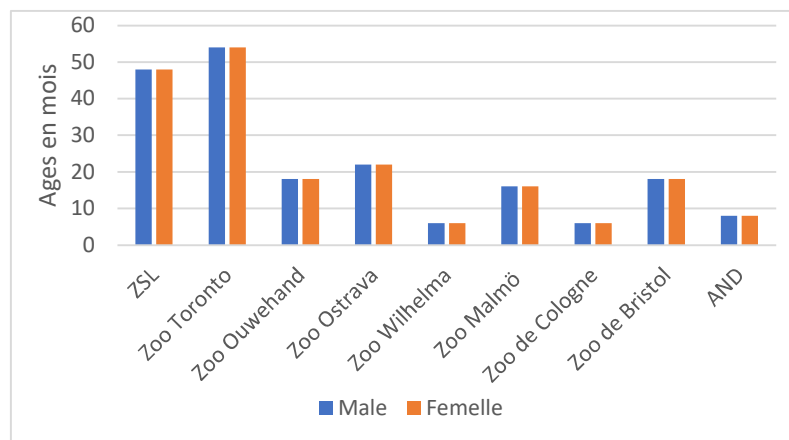


Figure 16 : Age des individus mâles et femelles *P. insolitus* à maturité sexuelle dans différentes institutions zoologiques

Le propriétaire privé, le Zoo de Leipzig et Ashkam Brian Collège ont répondu qu'ils n'avaient pas observé de ponte de *P. insolitus*. Ils n'ont donc pas pu répondre à la question n°6 et n°7 et aux questions qui suivront.

- Question n° 8 : Quelle est la taille des individus mâles à la maturité sexuelle ?
- Question n° 9 : Quelle est la taille des individus femelles à la maturité sexuelle ?

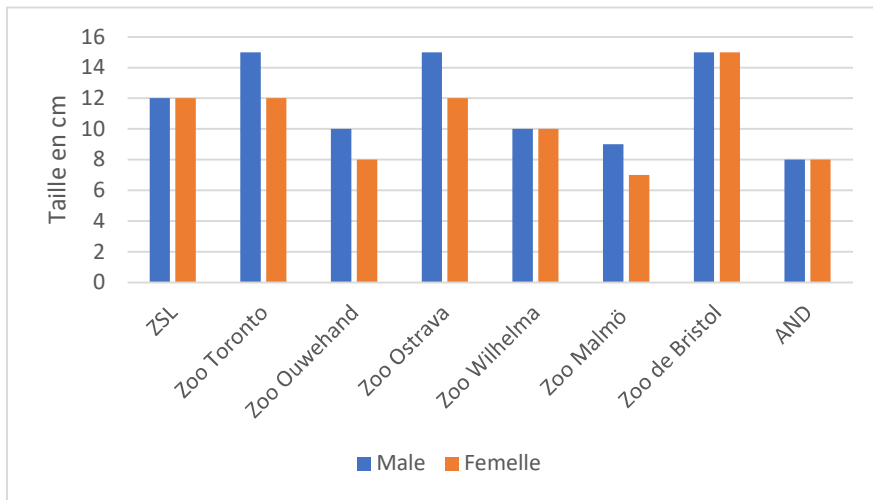


Figure 17 : Taille des individus mâles et femelle de *P. insolitus* à maturité sexuelle dans différentes institutions zoologiques

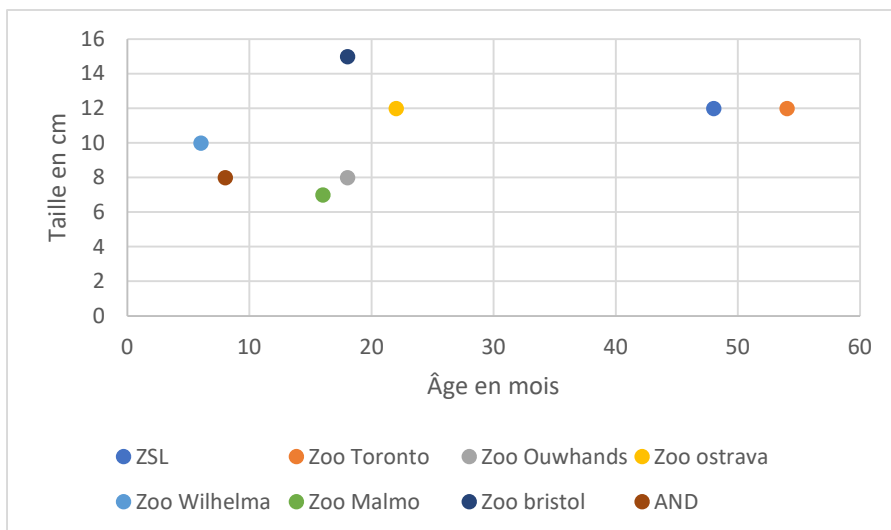


Figure 18 : Taille moyenne des femelles *P. insolitus* à l'âge de la maturité sexuelle selon l'institution zoologique

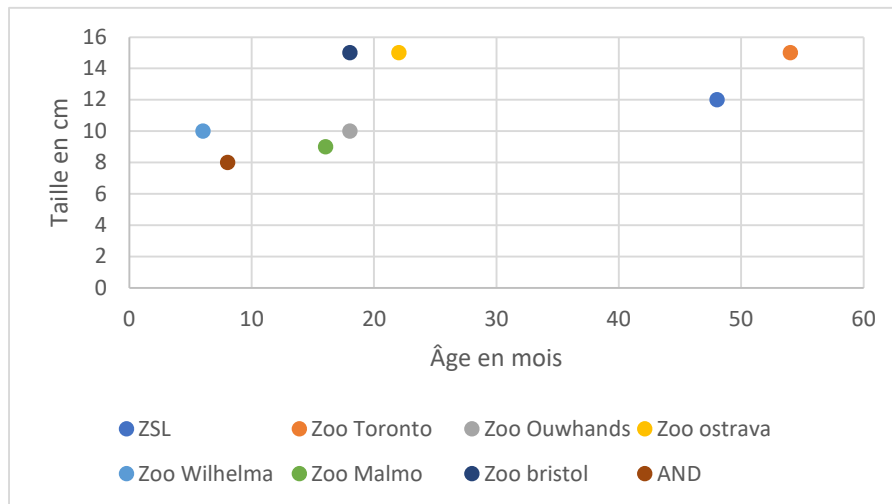


Figure 19 : Taille moyenne des mâles *P. insolitus* à l'âge de la maturité sexuelle selon l'institution zoologique

Les données (Annexe n° 4) en figure 16, 17, 18 et 19 mettent en évidence une disparité des résultats. Les résultats en figure 18 et 19 montrent une distribution des réponses non homogène. De plus, sur la figure 16, on observe trois groupes de résultats avec un âge d'arrivée à la maturité sexuelle compris entre 54 et 48 mois pour un premier groupe (ZSL et Zoo de Toronto), un second groupe de résultats avec un âge compris entre 16 mois et 22 mois (Zoo Ouwehand, Zoo d'Ostrava, Zoo de Bristol) et enfin un troisième groupe de résultats montrant une maturité sexuelle atteinte à un âge compris entre 6 mois et 8 mois (Zoo Wilhelma, Zoo de Cologne et AND).

Les données indiquent que pour la moitié des institutions, le mâle et la femelle ont la même taille à la maturité sexuelle tandis que pour l'autre moitié, le mâle est plus grand que la femelle. Les femelles sont très légèrement plus petites que les mâles à l'âge de la maturité sexuelle. Elles mesurent en moyenne $10,5(\pm 2,55)$ cm, tandis que les mâles mesurent $11,75(\pm 2,73)$ cm.

Par ailleurs, le Zoo de Cologne n'a pas communiqué de réponse concernant la taille et l'âge à maturité sexuelle.

- Question n°10 : Quelle est la durée d'incubation des œufs avant l'éclosion ?

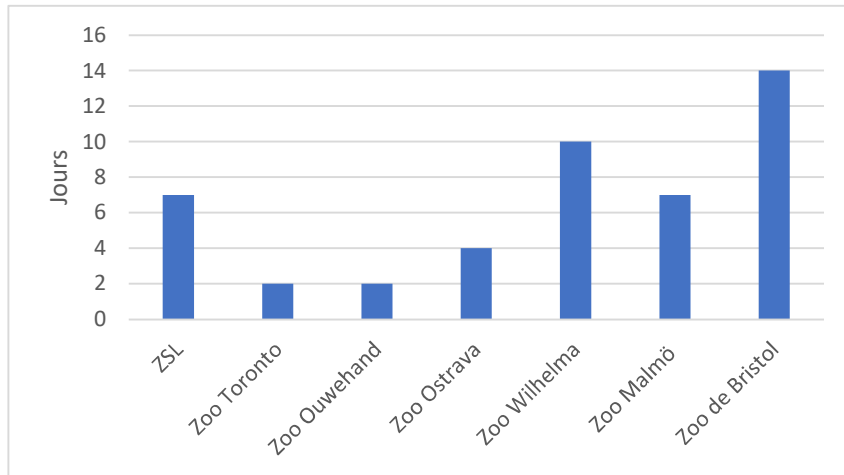


Figure 20 : Durée d'incubation des œufs par les géniteurs *P. insolitus* avant leur éclosion

Les données montrent (Figure 20) une disparité des résultats avec une durée d'incubation s'étalant de 2 jours (Zoo de Toronto et de Ouwehand) à 14 jours (Zoo de Bristol).

- Question n°11 : Quelle est la durée des soins parentaux prodigués aux alevins ?

	Institutions aquariologiques/Propriétaires privés											
	ZSL	Zoo Toronto	Zoo Ouwehand	P.P	Zoo Ostrava	Zoo Wilhelma	Zoo Malmö	Zoo Liepzig	Ashkam Bryan collège	Zoo de Cologne	Zoo de Bristol	AND
Durée des soins parentaux	N.O	N.O	2-4 Semaines	N.O	N.O	N.O	N.O	N.O	N.O	N.I	7 jours	N.O

N.I : Non informé (pas de réponse)

N.O : Non observé

Figure 21: Tableau récapitulatif des réponses à la question n° 11

La majorité des enquêtés n'ont pas observé de soins parentaux chez *P. insolitus*. (Figure 21). Le Zoo de Cologne n'a pas répondu à cette question. Seuls les Zoo de Ouwehand et de Bristol indiquent avoir observé des soins parentaux s'étalant respectivement sur 2 à 4 semaines et 7 jours.

- Question n°12 : Nombre d'œufs produits par ponte par le *P. insolitus* ?

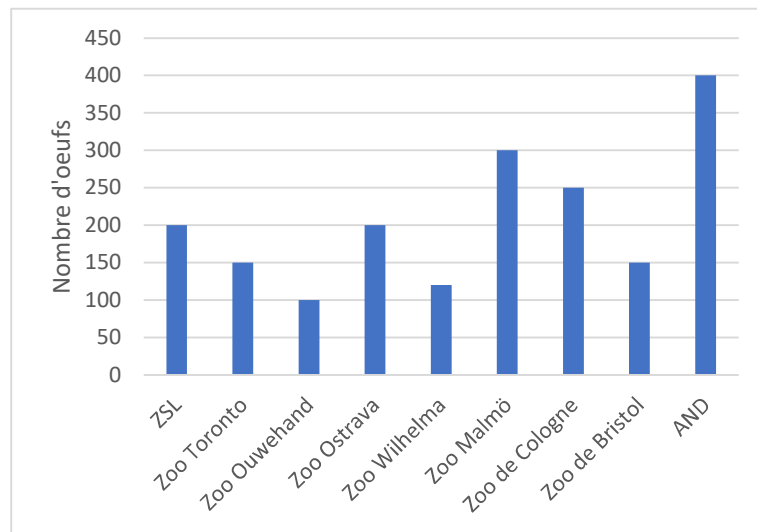


Figure 22 : Nombre d'œufs pondus par une femelle *P. insolitus* lors d'une ponte.

Les résultats indiquent une disparité des résultats. Le nombre moyen d'œufs pondus est de 207,8(±90,28) œufs avec un minimum de 100 œufs au Zoo de Ouwehand et de 400 œufs à l'Aquarium National du Danemark (Figure 22).

- Question n°13 : Quel est le substrat de ponte utilisé par *P. insolitus* ?

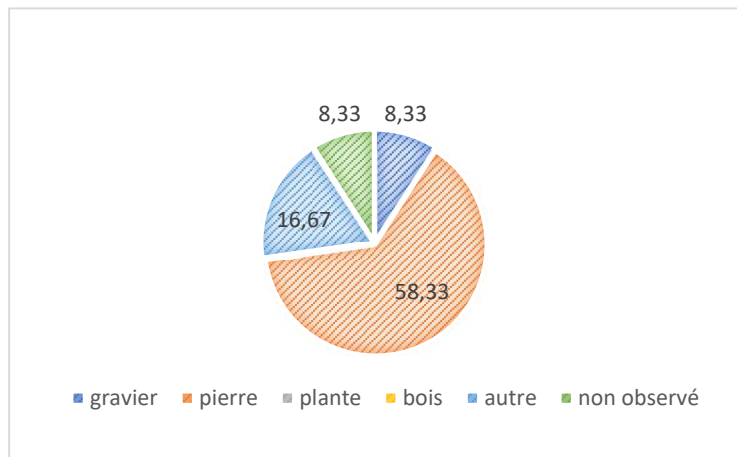


Figure 23 : Support de ponte utilisé par des géniteurs *P. insolitus* pendant la ponte.

58,33 % des enquêtés affirment que le *Ptychochromis insolitus* pond sur des roches (Figure 23).

➤ **La qualité de l'eau dans lequel le *P. insolitus* est reproduit**

- **Question n°14** : Pouvez-vous nous fournir les dates de frai réussi et les paramètres au cours des deux dernières années ?
- **Question n°15** : Changez-vous les paramètres pour provoquer une reproduction ? Si oui, quels sont les paramètres ?

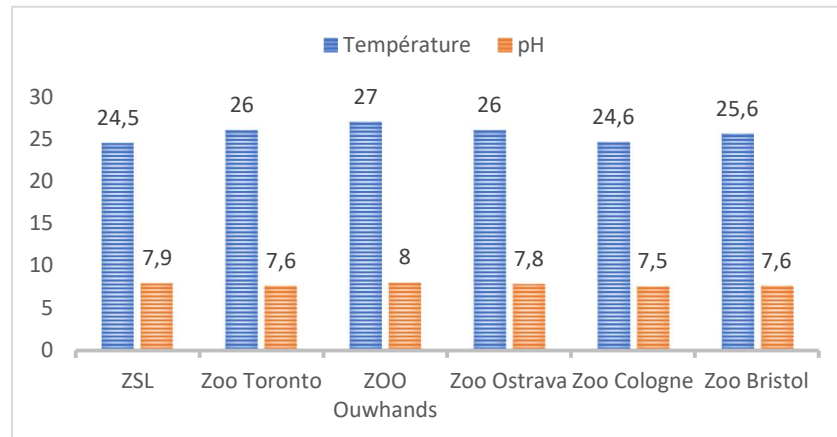


Figure 24 : pH et température (exprimé en °C) enregistrés lors de la reproduction de *P. insolitus* selon l'institution zoologique.

Les données (Annexe n°5) indiquent des températures de reproduction comprises de 24,5°C à 27 °C et un pH compris entre 7.5 et 8 selon l'institution zoologique (Figure 24). De plus, les questionnés qui ont répondu à la question ont indiqué qu'il n'est pas nécessaire d'avoir un changement des paramètres physico-chimiques pour provoquer la reproduction. Toutefois, le Zoo de Toronto suggère une augmentation de la température de 2°C pour provoquer la ponte de *Ptychochromis insolitus*.

L'Aquarium National du Danemark (AND), Ashkam Bryan Collège les Zoos de Cologne et n'ont pas renseigné de réponse concernant des paramètres physico-chimiques correspondant au frai du *P. insolitus*.

5 Discussion

5.1 Travaux expérimentaux

L'absence du matériel biologique n'as pas permis le bon déroulé de l'expérience et par conséquence ne permet pas de répondre à l'interrogation de départ : l'espèce *Ptychochromis insolitus* peut-elle se reproduire à des températures plus basses (22°C) que celles enregistrées dans son habitat actuel (28,6 C°) ?

Néanmoins le dispositif expérimental mis en place a permis le maintien stable des températures de consigne. On remarque, toutefois, que selon la température attribuée, la température relevée est de 28,5(±0.26) et de 22.5(±0.25) (cf : figure 10). Cette légère variation de la température par rapport à la température de consigne est due aux limitations des équipements et aux contraintes de variation de la température ambiante des locaux techniques.

Pour des raisons pratiques d'espace pour le dispositif expérimental et de temps disponible, le protocole a été conçu pour tester 2 températures en effectuant une moyenne des températures des sites 3 à 6. Cependant, d'après les données de terrain, on observe des différences de température tout au long de l'année entre ces sites (Annexe 5) et il serait sans doute opportun de pouvoir les tester séparément. Ainsi, un protocole prenant en compte ce gradient de température serait plus représentatif de la distribution de l'espèce.

Par ailleurs, le protocole expérimental à température constante conçu pour ce projet ne prend pas en compte les variations saisonnières tels qu'elles sont observées sur le terrain (figure 7) et notamment celles d'octobre à mars, période de reproduction pour les espèces de Cichlidés malgaches (Kiener, 1963). Andrea J. Morash et al (2018) encouragent l'utilisation de profils de températures réalistes prenant compte des variations en biologie expérimentale et donnent des exemples où la croissance et le métabolisme sont différents chez les animaux exposés à des variations thermiques. De plus, des régimes de températures statiques peuvent être stressants et engendrer des pathologies qui masquent les réels objectifs de ce type d'expérimentation. (Massey, 2022)

Pour cette étude, la seule variable testée est la température. Cependant il a été suggéré que d'autres facteurs environnementaux tels que la photopériode, la salinité et le pH de l'eau influencent la qualité des ovules et des spermatozoïdes (Brown et al., 1995). Une étude multifactorielle permettrait donc de prendre en compte l'ensemble des paramètres environnementaux récoltés depuis 2018 (pH, oxygène dissous, alcalinité) et de comprendre leur impact sur la fonction reproductrice du *P. insolitus*.

5.2 Travaux d'enquête

La disparité des densités à laquelle *Ptychochromis insolitus* est élevé en captivité est importante. Notons que certains individus captifs évoluent avec d'autres espèces dans des bacs de présentations aux volumes importants. C'est le cas à Malmö, ce qui explique un volume par individu élevé. Le questionnaire ne prend donc pas en compte les populations maintenues à des fin de présentation et celles maintenues en monospécifique dans des bacs de quarantaines pour

l'élevage à des fins de conservation. Notons également les densités de 4, 8, 7, 1 et 12,8 L/individu respectivement pour les Zoos de Bristol, Ostrava et Ashkam Bryan College. Ces densités semblent bien basses pour maintenir un cichlidé en captivité. Elles peuvent cependant s'expliquer s'il s'agit d'alevins ou de juvéniles en bac de grossissement.

La majorité des populations au sex-ratios paritaire (43%) ou à dominance de femelle (43%) communiqués ne reflètent pas le comportement lors de l'accouplement dans les diverses institutions sondées où est observé principalement un système d'accouplement monogame (75%). Cependant des observations à Madagascar en étangs d'élevages extérieurs suggèrent un système d'accouplement polygame, un mâle dominant se reproduisant avec plusieurs femelles (Fusari, pers. com). Se pose donc la question de la variabilité du comportement reproducteur de l'espèce en fonction des conditions de captivité et notamment de la densité et du sex-ratio imposé sur une surface restreinte.

Cependant, concernant les soins parentaux aux œufs et aux larves, les institutions sondées répondent respectivement « la femelle » uniquement à 58,33% et 50 %. Ces données confirment les observations faites en étangs d'élevages tout comme l'utilisation de pierre comme support de ponte observé à 58,33% des sondés. De plus, La différence de taille observée entre mâles et femelles se retrouve de manière générale dans le milieu naturel avec des femelles plus petites que les mâles (Fusari, pers. com).

Chaque institution ayant répondu au questionnaire estime que femelles et mâles atteignent la maturité sexuelle au même âge. Néanmoins, l'âge de maturité sexuelle diffère grandement selon l'institution allant de 6 mois pour le Zoo de Whilhelma à 54 mois pour le Zoo de Toronto. Au regard des résultats, l'âge moyen à maturité sexuelle est de 21,7 mois. Mais l'écart-type élevé de $\pm 16,6$ mois ne permet pas de conclure. Il est difficile, dans ce cas, d'expliquer cette variabilité des résultats. Elle peut être attribuée aux conditions de captivité mais également au manque d'exactitude dans la prise de donnée initiale.

En ce qui concerne la durée d'incubation des œufs et le nombres d'œufs pondus, on observe également une grande disparité des réponses. Les durées d'incubation indiquées vont de 2 à 14 jours, avec une moyenne du temps d'incubation de 6,57 ($\pm 4,1$) jours. Quant au nombre d'œufs pondus la moyenne est de 207,8 ($\pm 90,28$) œufs. Ici aussi la variance des résultats ne permet pas de conclure et est difficilement explicable.

Concernant les paramètres physico-chimiques d'élevage, la température moyenne et le pH moyen, entre les différentes institutions, auxquels l'espèce est reproduite, est respectivement 25,36 ($\pm 0,73$) °C et 7,67 ($\pm 0,03$) pH. Notons que seulement le Zoo de Toronto procède à un changement de paramètre, ici une élévation de la température de 2°C, pour déclencher la reproduction. En captivité, des paramètres physico-chimiques constants ne semblent pas empêcher la reproduction de l'espèce.

6 Conclusion

Malgré l'absence de matériel biologique pour mener à bien l'expérience, le présent projet a permis de faire avancer la réflexion sur la conception d'un protocole expérimental afin de savoir si *Ptychochromis insolitus* peut se reproduire à des températures plus basses. Ces travaux permettent de progresser dans l'étude de faisabilité d'une migration assistée nécessaire à la conservation de l'espèce. De plus, cette étude a permis d'exploiter pour la première fois les données de terrain recueillies depuis 2017 et de les valoriser pour la conservation de l'espèce.

La distribution de l'espèce le long de la rivière Amboaboa et le gradient de température enregistré au cours des saisons (figure 5 et 7) suggèrent que le *P. insolitus* a la capacité de survivre, de se reproduire et de croître à des températures différentes comprises entre 21°C (site 3 ; 06.2019) et 32°C (site 4 ; 12.2018) (annexe n°6). Notons que la température de l'eau de 21°C du site 3 est enregistrée au mois de juillet, ce qui ne correspond pas à la période de reproduction. Il est difficile de savoir quels mécanismes permettent cette capacité d'adaptation. La plasticité développementale, l'acclimatation ou les deux. Ces différences de conditions environnementales, soulèvent la question du changement des niveaux de référence des paramètres physico-chimiques dû aux changements climatiques et aux modifications anthropiques du milieu. En effet, les données récemment collectées depuis 2018 sur le milieu de vie du *P. insolitus* et sur lesquelles cette étude se base, proviennent d'un milieu largement altéré par l'activité humaine et ne reflète peut-être en rien les conditions du milieu « d'origine ».

Les résultats obtenus à travers l'enquête auprès des détenteurs de populations captives sont à modérer car les données communiquées n'ont pas été collectées dans le cadre d'un protocole expérimental et dans des conditions contrôlées. De plus, cette enquête met en avant l'importance du suivi et de la saisie régulière des données zootechniques lors de l'élevage des espèces captives pour la conservation de leurs homologues sauvages. Pour bon nombre d'entre elles, il existe peu de données dans le milieu naturel et seules les institutions zoologiques qui les détiennent peuvent à travers leur gestion en captivité participer à accroître les connaissances à leur sujet (Teletchea et al, 2023).

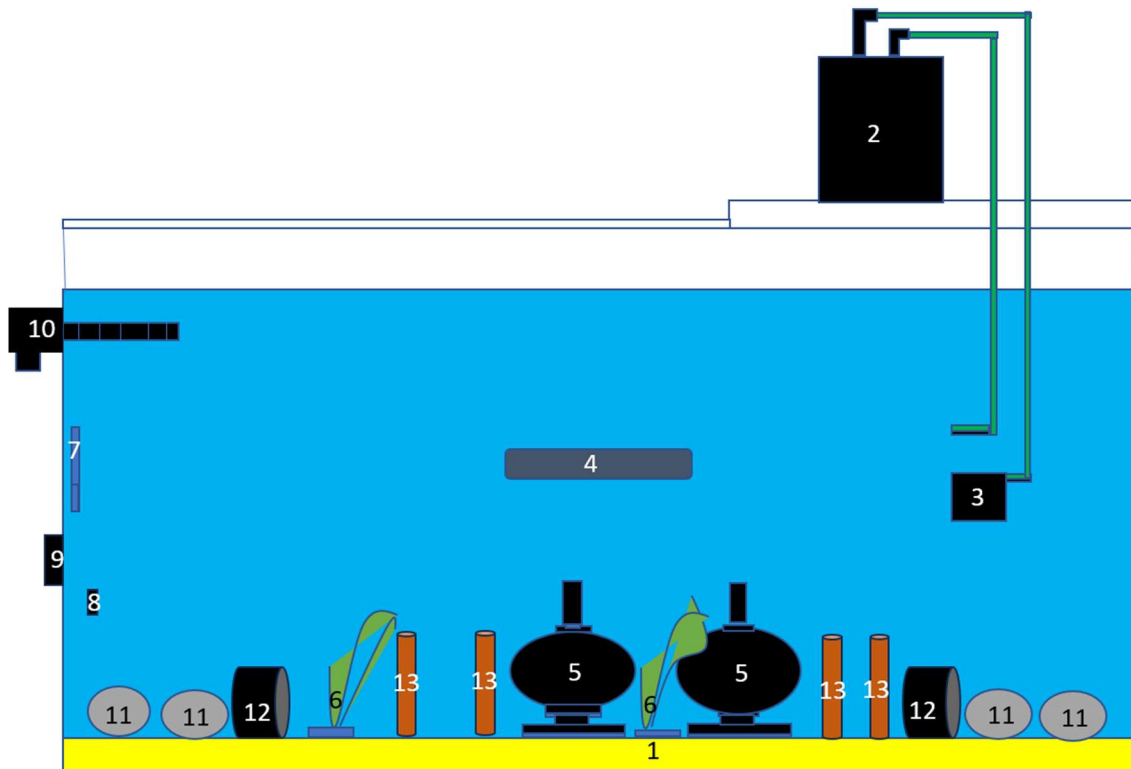
Références Bibliographiques :

- Alva, O., Leroy, A., Heiske, M., Pereda-Loth, V., Tisseyre, L., Boland, A., ... & Pierron, D. (2022). The loss of biodiversity in Madagascar is contemporaneous with major demographic events. *Current Biology*, 32(23), 4997-5007
- Angilletta Jr MJ. 2009 Thermal adaptation: a theoretical and empirical synthesis. Oxford, UK: Oxford University Press.
- Beitinger, T. L., Bennett, W. A., & McCauley, R. W. (2000). Temperature tolerances of North American freshwater fishes exposed to dynamic changes in temperature. *Environmental biology of fishes*, 58, 237-275.
- Benstead, J. P., De Rham, P. H., Gattolliat, J. L., Gibon, F. M., Loiselle, P. V., Sartori, M., ... & Stiassny, M. L. (2003). Conserving Madagascar's freshwater biodiversity. *BioScience*, 53(11), 1101-1111.
- Billard, R., & Gillet, C. (1984). Influence de quelques facteurs de l'environnement sur la fonction de reproduction chez les poissons. *Cahiers du Laboratoire d'Hydrobiologie de Montereau*, 15, 45-54.
- Blanck, A. (2007). Variabilité des traits d'histoire de vie de poissons d'eau douce Européens à différentes échelles spatiales et niveaux biologiques (population et espèce) (Doctoral dissertation, Thèse de doctorat, Université Claude Bernard Lyon I).
- Brett, J. R. (1971). Energetic responses of salmon to temperature. A study of some thermal relations in the physiology and freshwater ecology of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*). *American zoologist*, 11(1), 99-113.
- Brown, N. P., Bromage, N. R., & Shields, R. J. (1995). The effect of spawning temperature on egg viability in the Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Aquaculture*, 261, 993-1002.
- Communication personnelle avec Charles-Edouard FUSARI capacitaine de l'aquarium Tropical de la Porte d'orée
- Dahlke, F. T., Wohlrab, S., Butzin, M., & Pörtner, H. O. (2020). Thermal bottlenecks in the life cycle define climate vulnerability of fish. *Science*, 369(6499), 65-70.
- Daufresne, M., & Renault, O. (2006). Population fluctuations, regulation and limitation in stream-living brown trout. *Oikos*, 113(3), 459-468.
- Goodman, S. M., & Benstead, J. P. (eds.). (2003). *The Natural History of Madagascar*. University of Chicago Press.
- <https://www.fishbase.se/summary/Ptychochromis-insolitus.html> site consulté le 25/08/2023
- <https://www.iucnredlist.org> Ptychochromis insolitus (iucnredlist.org) site consulté le 23/06/2023
- <https://www.Generalindex.storefish.org> site consulté le 20/07/2023

- Huey, R. B., & Stevenson, R. D. (1979). Integrating thermal physiology and ecology of ectotherms: a discussion of approaches. *American Zoologist*, 19(1), 357-366.
- IUCN/SSC (2014). Guidelines on the Use of *Ex Situ* Management for Species Conservation. Version 2.0. Gland, Switzerland: IUCN Species Survival Commissio
- Kiener.A (1963). Poissons, Pêche et Pisciculture à Madagascar.Publication N°24 du Centre Technique Forestier Tropical, p.33-36.
- Kraïem, M. M., & Azaza, M. S. (2007). Etude de la tolérance à la température et à la salinité chez le Tilapia du Nil *Oreochromis niloticus* (L.) élevé dans les eaux géothermales du Sud tunisien.
- Lassala, M. D. P., & Renesto, E. (2007). Reproductive strategies and genetic variability in tropical freshwater fish. *Genetics and Molecular Biology*, 30, 690-697.
- Leiss, L., Rauhaus, A., Rakotoarison, A., Fusari, C., Vences, M., & Ziegler, T. (2022). Review of threatened Malagasy freshwater fishes in zoos and aquaria: The necessity of an ex situ conservation network—A call for action. *Zoo Biology*, 41(3), 244-262.)
- Logiciel (ZIMS) Zoological Information Management System consulté le 18/08/2023
- Máiz-Tomé, L., Sayer, C., & Darwall, W. R. T. (2018). The status and distribution of freshwater biodiversity in Madagascar and the Indian Ocean islands hotspot. Gland: IUCN.
- Massey, M. D., Fredericks, M. K., Malloy, D., Arif, S., & Hutchings, J. A. (2022). Differential reproductive plasticity under thermal variability in a freshwater fish (*Danio rerio*). *Proceedings of the Royal Society B*, 289
- McDonnell, L. (2015). Effects of elevated temperature on metabolic performance and thermal tolerance of a widespread African cichlid. McGill University (Canada).
- Morash, A. J., Neufeld, C., MacCormack, T. J., & Currie, S. (2018). The importance of incorporating natural thermal variation when evaluating physiological performance in wild species. *Journal of Experimental Biology*, 221(14).
- Muchlisin, Z. A., Munazir, A. M., Fuady, Z., Winaruddin, W., Sugianto, S., Adlim, M., ... & Hendri, A. (2014). Prevalence of ectoparasites on mahseer fish (*Tor tambra Valenciennes*, 1842) from aquaculture ponds and wild population of Nagan Raya District, Indonesia. *Human and Veterinary Medicine*, 6(3), 148-152.
- Muchlisin, Z. A., Musman, M., & Azizah, M. S. (2010). Spawning seasons of *Rasbora tawarensis* (Pisces: Cyprinidae) in Lake Laut Tawar, Aceh Province, Indonesia. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 8, 1-8.;
- Ralimanana.H., Antonelli, A., Smith, R. J., Perrigo, A. L., Crottini, A.,Hackel, J., Testo, W., ... (2022). Madagascar's extraordinary biodiversity: Evolution, distribution, and use. *Science*, 378

- Ravelomanana, t., sparks, j.s. & loiselle, p.v. 2016. *Ptychochromis insolitus*. the iucn red list of threatened species (2016):
- Rham P.H. de. (1996). Poissons des eaux intérieures de Madagascar. In : Lourenço W.R. (ed.). Biogéographie de Madagascar = Biogeography of Madagascar. Paris : ORSTOM, p. 423-440.
- Römer, U. (2001). Influence of temperature on fertility, growth rates, and reproductive success on selected species of Apistogramma (Teleostei, Cichlidae). Verhandlungen der Gesellschaft für Ichthyologie, 2, 87-106.
- Sainsbury, A. W., & VAUGHAN-HIGGINS, R. J. (2012). Analyzing disease risks associated with translocations. Conservation Biology, 26(3), 442-452.
- Schlosser, I. J. (1990). Environmental variation, life history attributes, and community structure in stream fishes: implications for environmental management and assessment. Environmental Management, 14(5), 621-628.
- Stiassny, M. L., & Sparks, J. S. (2006). Phylogeny and taxonomic revision of the endemic Malagasy genus *Ptychochromis* (Teleostei: Cichlidae), with the description of five new species and a diagnosis for *Katria*, new genus. American Museum Novitates, 2006(3535), 1-55.
- Teletchea F., Bailly N., Bun O., Degors M., De Wever T., François V., Husson L., Le Yannou T., Loyau R., Marc T., Marteau E., Sinthes M., UCA Consortium , Barthelemy D. (2023) Aquariums and FishBase partnership to increase knowledge of fish biology
- Teletchea, F., Fostier, A., Le Bail, P. Y., Jalabert, B., Gardeur, J. N., & Fontaine, P. (2007). STOREFISH: A new database dedicated to the reproduction of temperate freshwater teleost fishes. Cybium, 31(2), 227-235.
- West-Eberhard, M. J. (2005). Developmental plasticity and the origin of species differences. Proceedings of the National Academy of Sciences, 102(suppl_1), 6543-6549.
- Westveer, J., Freeman, R., McRae, L., Marconi, V., Almond, R. E. A., & Grooten, M. (2022). A deep dive into the Living Planet Index: a technical report.
- Ziegler, T., Frank-Klein, N., Ommer, S., Hürche, R., Loiselle, P. V., & Vences, M. (2020). Keeping and breeding of threatened endemic Malagasy freshwater fishes at Cologne Zoo (Germany): a contribution towards the advancement of a conservation breeding network. Der Zoologische Garten, 88, 123-155.
- Zlatanova, D. iucn guidelines for reintroductions and conservation translocations of species—problems and solutions. -(UICN,2013)

Annexe n°1



- 1- couche de sable
- 2- groupe froid
- 3- Pompe de remonter de l'eau vers le groupe froid
- 4- thermoplongeur
- 5- filtre exhausteur
- 6- plante en plastique
- 7- thermomètre en verre
- 8- Sonde du thermomètre électronique
- 9- lecteur du thermomètre électronique
- 10- Surverse
- 11- Pierre
- 12- Tuyaux
- 13- Souche de bois

Annexe n°2

Protocole de nourrissage du matériel biologique

Lundi	Mardi	Mercredi	Jeudi	Vendredi	Samedi	Dimanche
Matin	Matin	Matin	Matin	Matin	Matin	Matin
Flocon de spiruline	Granulé pour Cichlidés	Flocon pour poisson tropicaux	Flocon de spiruline	Granulé pour Cichlidés	Flocon pour poisson tropicaux	Flocon de spiruline
Midi	Midi	Midi	Midi	Midi	Midi	Midi
Artémia Surgelé	Vers de vase Surgelé	Daphnie Surgelé	Artémia surgelé	Vers de vase Surgelé	Daphnie Surgelé	Artémia surgelé
Après-midi	Après-midi	Après-midi	Après-midi	Après-midi	Après-midi	Après-midi
Vers de vase vivant	Artémia Vivant	Broyat moule/crevette	Artémia vivant	Vers de vase vivant	Broyat Moule/crevette	Broyat Moule/crevette

Annexe n°3

Protocole des tests physico-chimique

Paramètre	Matériel utilisé	Méthode
pH	pH mètre Milwaukee	Le pHmètre est à étalonner une fois par semaine avant les tests (dans une solution à pH 4 et 7). Il suffit, ensuite, de tremper la sonde dans un échantillon de l'eau du bac pour en connaître son pH.
KH	Tes en goutte JBL	Par Test colorimétrique, dans 5 mL d'eau du bac, on ajoute des gouttes qui colorent l'eau en rouge. Le virage de l'eau du bleu au jaune et le nombre de gouttes injectées correspondent à la dureté carbonatée du bac. (1 goutte = 1°dH)
NO ₂ ⁻	Spectrophotomètre	Dans 10 mL d'eau de l'aquarium, on ajoute 2 cuillères d'acide sulfalinique. On agite jusqu'à dissolution totale de la poudre. On laisse, ensuite, reposer 10 minutes avant de tester l'échantillon.
NO ₃	Spectrophotomètre	Dans 50 mL d'eau de l'aquarium, on ajoute 1 mL d'acide chlorhydrique à 1 mol.L ⁻¹ pour ensuite procéder au test de l'échantillon. Avant de tester l'eau de l'aquarium, l'appareil est d'abord étalonné en utilisant un mélange d'eau déminéralisé et 1 mL chloridrique à 1 mol.L ⁻¹ .
Oxygène dissous	Oxymètre	On plonge la sonde de l'oxymètre dans un échantillon de l'eau à analyser avant de lire la valeur du taux d'oxygène dissous
Conductivité	Conductivimètre	On plonge la sonde du conductivimètre dans un échantillon d'eau à analyser avant de lire la valeur de conductivité

Annexe n°4

Institutions aquariologiques/Propriétaires privés												
	ZSL	Zoo Toronto	Zoo Ouwhands	P.P	Zoo Ostrava	Zoo Wilhelma	Zoo Malmö	Zoo Liepzig	askham bryan college	Zoo de Cologne	Zoo de Bristol	AND
Volume des aquariums	750L	6*(182 L ou 243L)	735L 720L 3*216L	720L	2*315L	2 *1000L	2100L 188L	3120L	243 L	720 L 20000L	192L	10 * 1600L
Le nombre d'individus	20	41	78	8	89	N.I	41	98	19	N.I	40	N.I
sex- ratio	4♂ 4♀	1♂ 1♀	1♂ 1♀	3♂ 5♀	N.D	3♂ 6♀ ou 4♂ 6♀	7♂ 17♀	N.I	N.D	N.I	17♂ 3♀	N.I

N.I : non informé (pas de réponse)

Réponses des enquêtés aux question 1 et 2

Institutions zoologiques/propriétaire privé												
	ZSL	Zoo Toronto	Zoo Ouwhands	P.P	Zoo Ostrava	Zoo Wilhelma	Zoo Malmö	Zoo Liepzig	askham bryan college	Zoo Cologne	Zoo Bristol	AND
Âge de maturité sexuelle des mâles	36-48 mois	54 mois	12-18 mois	N.O	20-22 mois	6 mois	16 mois	N.O	N.O	6 mois	18 mois	6-8 mois
Âge de maturité sexuelle des femelles	36-48 mois	54 mois	12-18 mois	N.O	20-22 mois	6 mois	16 mois	N.O	N.O	6 mois	18 mois	6-8 Mois
Taille des mâles à maturité sexuelle	12 Cm	12-15 Cm	10 cm	N.O	15 cm	8 à 10 Cm	8-9 cm	N.O	N.O	N.I	12-15 cm	7-8 Cm
Taille des femelles à maturité sexuelle	12 cm	10-12 Cm	8 cm	N.O	12 cm	8 à 10 Cm	6-7 cm	N.O	N.O	N.I	12-15 cm	7-8 Cm
Durée d'incubation des œufs	7 jours	2 jours	2 jours	N.O	4 Jours	8-10 jours	5-7 Jours	N.O	N.O	N.I	10-14 jours	N.O
Nombre d'œufs et d'alevins produits	200 Œufs	100 à 150 œufs Et 22 alevins	100 œufs Et 50 alevins	N.O	200 œufs	100 à 120 œufs	300 œufs	N.O	N.O	100 à 250 œufs	150 oeufs	400 oeufs

N.O : non observé

P.P : propriétaire privé de P.insolitus

N.I : non informé (pas de réponse)

Réponse aux questions 6, 7, 8, 9,10 et 12 les réponses des enquêtés sont indiquées dans le tableau ci-dessous (figure 11)

Annexe n°5

	Temperature site 1	Temperature site 2	Temperature site 3	Temperature site 4	Temperature site 5	Temperature site 6
09.2018	20	22	25	24	27	25,5
10.2018	20	25	26	27	27	26
11.2018	21	28	29	28	27	27
12.2018	23	25	28	32	31	30
01.2019	23	24	26	30	27	28
02.2019	22	24	25	28	27	28
03.2019	22	23	24	26	30	27
04.2019	22	23	25	23	24	27
05.2019	20	22	23	24	25	26
06.2019	19	20	21	22	23	24
07.2019	20	21	23	22	23	24
08.2019	19	20	22	22	22	23
09.2019	20	21	24	23	24	26

Température moyenne de l'eau de la rivière Amboaboia selon les sites de collecte (**09.2018 au 09.2019**)

Annexe n°6

Date	Heure	Temperature	O ₂ (mg.L-1)	pH	KH (mg.L-1)
12.11.2018	11h 15'	20	8	7	0,6
17.11.2019	10h 49'	20	8	7	1,6
16.11.2021	09h 49'	21	8	7	1,2
18.11.2022	12h 07'	23	8	8	1,9

Paramètre physico-chimique de la rivière Amboaboia sur le site n°1

Annexe n°7

Hello,

As part of the FishNet Madagascar in situ conservation programme, we are investigating the feasibility of translocation for the cichlid species *Ptychochromis insolitus*.

We have collected water quality data for 3 years in its wild environment and now plan to conduct an ex-situ study that will investigate the ability of *P. insolitus* to reproduce at lower temperatures. We also plan to use this study to examine the life history traits of this species.

As the species is now well distributed in zoological institutions as well as specialist private hobbyists, we are looking to gather informations and data to inform future conservation actions for the species.

It appears that you have *P. insolitus*. We hope you will take a few minutes to complete the questionnaire and share your data by following this link to help us in our conservation efforts to save this critically endangered species.

Click the link here : <https://forms.gle/X1ckpLvWuW8H3XPX9>

Best regards,

Michel Lestin

Apprenti Technicien Aquariologiste de l' Aquarium Tropical

michel.lestin@palais-portedoree.fr

Établissement public du Palais de la Porte Dorée

Musée national de l'histoire de l'immigration – Aquarium tropical

293, avenue Daumesnil – 75012 Paris

www.palais-portedoree.fr

Annexe n°8

Ptychochromis insolitus survey

➤ Tank size and demographics

- ✓ Can you tell us the number of the tanks and their dimensions in which you hold *P. insolitus* (L*W*H) ?
- ✓ Can you tell the number of individuals per tank with the sex ratio ?

➤ Water quality

- ✓ What are the water quality parameters of the tanks (Temperature, pH, conductivity, Alkalinity, oxygen ? Can you send us the data over 2 years to observe any variation ?
- ✓ Can you provide the datas of successful spawning in the last 2 years and the water quality parameters recorded during spawning ?
- ✓ Do you change the parameters to induce reproduction ? If yes, which one?

➤ Le comportement pendant la reproduction

- ✓ What pattern do you observe during reproductive behaviour ?
 - One male and one female
 - One female for several males
 - One male for several females
 - Other
- ✓ Who guards the eggs ?
 - The female
 - The male
 - Both
 - Other
- ✓ Who looks after the fry ?
 - The female
 - Le mâle
 - Les deux
 - Autre
- ✓ Do you observe any differences in the above question (6-7-8) depending on the tanks and/or the population ?
- ✓ At what age do males individuals reach sexual maturity ?
- ✓ At what age do females individuals reach sexual maturity ?
- ✓ At what size do males individuals reach sexual maturity ?
- ✓ At what size do females individuals reach sexual maturity ?
- ✓ How long do eggs incubate before hatching (recorded or approximate) ?
- ✓ How long does parental care of the fry last (recorded or approximate) ?
- ✓ Number of eggs and fry produced per clutch (recorded or approximate) ?
- ✓ What spawning substrate is used?
 - Gravel
 - Rocks
 - Plants
 - Woods
 - Other