# GIE RECHERCHE AQUACOLE

Groupement d'Intérêt Économique

Régi par l'ordonnance du 23 septembre 1967

Chemin de Maguelone 34250 PALAVAS-les-FLOTS □ 67.68.08.33

N/REF. DC/JFB/DL 90.10.864

> FICHE TECHNIQUE

# LA NOUVELLE GENERATION D'INCUBATEUR AUTONOME FONCTIONNANT EN CIRCUIT FERME

UNE NOUVELLE ETAPE DANS LA FIABILITE ET LE CONTROLE ZOOSANITAIRE DE L'ELEVAGE DES POISSONS MARINS

> D. COVES & J.F. BOUGET Equipe MEREA GIE Recherche Aquacole Chemin de Maguelone 34250 PALAVAS-les-FLOTS

## I - INTRODUCTION

De nombreux auteurs ont, ces dernières années, mis au point plusieurs formules d'incubateurs pour les oeufs de poissons marins comme le loup, *Dicentrarchus labrax*, la daurade, *Sparus auratus*, le turbot, *Scophtalmus maximus*.

Les oeufs de ces espèces sont la plupart du temps flottants, parfois aussi coulants et toujours sensibles aux chocs mécaniques, alors que le choix de travailler à concentration élevée impose un brassage continu.

Les paniers circulaires mobiles décrits par DEVAUCHELLE (1984), ainsi que les paniers cylindroconiques décrits par BEDIER et col (1984) et DEVAUCHELLE, COVES (1988) répondent en grande partie aux besoins, mais comportent encore quelques imperfections. Ainsi dans ces deux cas, la mise en oeuvre d'un nombre restreint d'incubateurs nécessite l'utilisation du bassin dans lequel ils sont immergés ; de plus, le fonctionnement de plusieurs moteurs ou bien la nécessité de nombreux réglages de débit d'eau et d'air sont autant de facteurs de variabilité. Le nouveau système d'incubateur est conçu pour limiter ces inconvénients.

Enfin, le modèle de dimensionnement des circuits de recyclage, en pisciculture marine, proposé par BLANCHETON (1987) nous offre la possibilité de contrôler et de stabiliser à leur niveau optimal certains paramètres physico-chimiques de l'eau au cours de l'incubation.

La nouvelle génération d'incubateur autonome et son circuit fermé décrits ci-après tente également d'apporter une solution originale au contrôle zoosanitaire de la filière intensive de production de juvéniles des poissons marins.

## II - LE PROTOTYPE D'INCUBATEUR (fig. 1)

Le prototype d'incubateur est conçu pour fonctionner à la manière de tout autre bassin d'élevage ; il est très proche de celui décrit par DEVAUCHELLE et COVES (1988). Ces parois sont pleines. Les arrivées d'eau et d'air ont été remaniées pour limiter les réglages et fiabiliser le fonctionnement. Il possède une crépine d'évacuation centrale. Son volume de 40 à 50 litres autorise un objectif de production de 200 à 300.000 larves par incubation.

L'alimentation en eau de mer thermorégulée se fait par gravité à partir d'un bassin de mise en charge ; le dénivelé ainsi créé, le diamètre et la longueur du tuyau d'alimentation fixent le débit au niveau voulu. L'arrivée d'eau située au fond de l'incubateur permet le brassage régulier des oeufs.

L'arrivée d'air située au même niveau provoque une remontée de bulles d'air dans l'incubateur le long de la crépine centrale, ce qui est essentiel pour éviter son colmatage par les oeufs ou les larves. Le débit d'air maximum est fixé par le diamètre intérieur d'une aiguille hypodermique (0,4 mm) plantée dans un tuyau de caoutchouc souple alimenté en air surpressé à 0,3 bar. Au besoin, le réglage du débit d'air est toujours possible grâce à un petit robinet à pointeau afin de limiter au maximum les risques de chocs mécaniques.

# III- PERFORMANCES D'INCUBATION ET EVALUATION DE L'EXCRETION AMMONIACALE

## III-1. CONDITIONS DES ESSAIS (TAB. 1)

L'installation précédemment décrite est utilisée pour réaliser plusieurs tests d'incubation d'oeufs de loup *Dicentrarchus labrax* et de daurade *Sparus aurat*a, afin de contrôler le fonctionnement du principe d'incubateur retenu, les performances d'éclosion et de mesurer l'excrétion ammoniacale.

22 essais sont effectués avec deux débits d'eau (175 à 600 % du volume renouvelé par heure) et des concentrations en oeufs de 7.000 à 20.000 par litre.

Les taux d'éclosion en larves viables sont évalués pour chaque essai. L'excrétion ammoniacale est calculée à partir de prélèvements d'eau faits dans le volume de l'incubateur au moment de l'éclosion.

La concentration d'azote ammoniacale (N-NH4) de chaque échantillon est mesurée sur une chaîne automatique technicon par la méthode de KOROLEFF (1969).

## III-2. RESULTATS (TAB. 1)

Les taux d'éclosion mesurés sont compris entre 48 et 99 % avec une moyenne à 88 %. Ces résultats sont très proches de ceux cités par DEVAUCHELLE (1984) et DEVAUCHELLE, COVES (1988).

La phase de mise au point de la crépine s'est soldée par quelques débordements accidentels après colmatage. Les corrections apportées à son positionnement, sa taille et à la maille ont permis de fiabiliser l'évacuation de l'eau.

Les valeurs d'excrétions ammoniacales calculées, pour chaque incubateur, sont extrèmement variables avec un facteur 10 entre la plus petite et le plus grande valeur.

#### III-3. CONCLUSIONS

A l'issue de ces tests préliminaires, nous pouvons considérer que l'incubateur prototype donne satisfaction.

Les données d'excrétion ammoniacale sont utilisées pour dimensionner le volume du filtre biologique compris dans le circuit de recyclage du module d'incubation pilote.

#### IV - LE MODULE D'INCUBATION PILOTE

## IV-1. ORGANISATION GENERALE (fig. 2)

La boucle de recyclage est composée d'un compartiment de traitement de l'eau et d'un compartiment d'élevage. Le premier comprend un filtre mécanique, un stérilisateur U.V. KATADYN\*\* et un filtre biologique CHF\*. Le deuxième comprend le bassin de mise en charge, les incubateurs, le bassin de pompage et la pompe qui assure la mise en pression du circuit d'eau. Dans la cuve de pompage se situe la thermorégulation électrique ainsi que la sécurité de niveau protégeant la résistance de chauffage et la pompe en cas de fuite accidentelle d'eau. La jauge de niveau est reliée à une alarme.

Une dérivation installée sur cette boucle permet d'alimenter une cuve de prémélange oeufs-eau filtrée stérilisée U.V. dans le cas de transport d'oeufs (voir paragraphe V).

### IV.2. <u>DIMENSIONNEMENT DU COMPARTIMENT TRAITEMENT DE L'EAU</u>

### IV.2.1. La filtration mécanique (CHF - Modèle AHF 450)

La filtration mécanique employée est du type pression sur lit de silice. La qualité de ce type de filtration dépend de trois paramètres principaux : la forme et le volume du filtre, la granulométrie de la silice ainsi que la vitesse de passage de l'eau. Dans notre cas, le débit total circulant est de 2 m³/h soit une vitesse de passage lente de 10,5 m/h et la silice 30/50 (Doc. n° 2) employée devrait permettre une filtration à environ 10 µm.

La performance de ce premier traitement est importante pour deux raisons essentielles que sont la transparence optique de l'eau, qui conditionne l'efficacité du stérilisateur U.V., et la quantité de matière particulaire restant en suspension qui influe sur le rendement de la filtration biologique.

<sup>\*</sup> CHF : Avenue de la Borde - 06110 LE CANNET - Tél. 93.90.32.45 - Fax 93.47.93.50 - Télex 462123

<sup>\*\*</sup> KATADYN-FRANCE S.A. : Rue Lavoisier - B.P. 39 - 77680 ROISSY EN BRIE - Tél. (16.1) 60.28.21.96 - Fax (16.1) 60.29.40.74 - Télex 691055

#### IV.2.1. La stérilisation U.V. (KATADYN - Modèle J1 PE)

L'unité de stérilisation U.V. est choisie en tenant compte du débit circulant maximal de 2 m³/h et de la transparence optique supposée de l'eau de recyclage après filtration mécanique.

L'objectif est de disposer d'un pouvoir germicide suffisant pour éliminer le cas échéant au moins 99,9 % de la quantité de *Vibrio anguillarum* circulant.

Ce germe est dans l'état actuel de nos connaissances l'agent pathogène le plus risqué pour l'élevage du loup *Dicentrarchus labrax*.

## IV.2.3. La filtration biologique (CHF - Modèle AHF 760)

Le filtre est du type filtre pression classique, mais dans ce cas il est rempli d'argile expansé de type BIOGROG\* de granulométrie 3/5 mm.

Son montage dans le circuit ne lui permet de recevoir que de l'eau filtrée et stérilisée U.V. Il peut également être courcircuité dans le cas d'un fonctionnement en circuit ouvert.

Le volume de Biogrog est calculé suivant le modèle de dimensionnement réalisé par BLANCHETON (1987). Ce modèle prend en compte les données d'excrétions ammoniacales, le débit d'eau circulant la température, la quantité maximale d'oeufs mis en incubation (2 millions), ainsi que la concentration maximale en azote ammoniacal (N-NH4) que nous avons fixée à 0,1 mg/l à l'entrée de l'incubateur.

Les résultats donnent pour une température d'incubation de 12°C (mini dans le cas du loup) un volume de Biogrog compris entre 15 et 144 litres et pour 20°C (maxi dans le cas de la daurade) un volume de 9 à 86 litres. Nous avons opté pour un volume de 150 litres afin d'être sûr de notre capacité de filtration biologique, malgré la grande variabilité des résultats d'excrétions ammoniacales obtenus.

#### IV.3. VALIDATION DU NOUVEAU MODULE D'INCUBATION

#### IV.3.1. Conditions des tests de validation

Les oeufs utilisés dans ces tests sont obtenus à partir de stocks de reproducteurs captifs selon la méthode décrite par DEVAUCHELLE et CÔVES 1988. Ils sont ensuite comptés à la pipette après dilution (GRENZ, 1985) puis mis en incubation à une température comprise entre 14 et 16°C. Le débit par incubateur est fixé à 100 l par heure. Le débit total circulant est de 2 m³ par heure et le circuit d'eau est totalement fermé.

<sup>\*</sup> ARGILES ET MINERAUX : Clérac, 17270 MONTGUYON - Tél. 46.04.17.11 - Télex 790297

Trois essais successifs sont réalisés avec des quantités d'oeufs allant de 1 à 2106 et des charges comprises entre 2.500 et 6.000 oeufs par litre (TAB. 2). L'essai III correspond aux prévisions de validation du module d'incubation.

Après l'éclosion totale les larves des incubateurs, ayant la même concentration en oeufs de départ, sont récoltées et regroupées pour comptage à la pipette après dilution (GRENZ, 1985). Pendant le comptage sont distinguées les larves viables de celles présentant une anomalie (torsion ou globule lipidique décroché). Le taux d'éclosion est défini par le rapport entre le nombre total de larves viables récoltées et le nombre total d'oeufs viables mis en incubation. Le taux de non viabilité est égal au rapport entre le nombre de larves avec anomalies et le nombre total de larves écloses.

Les performances de la filtration mécanique et la puissance germicide du stérilisateur U.V. sont évaluées en mesurant la perméabilité optique d'échantillons d'eau prélevés, au niveau du château d'eau et du bac de pompage, le 2ème et le 3ème jour après la mise en incubation et le jour de l'éclosion (4ème jour) (TAB. 3). La perméabilité optique équivaut au pourcentage d'intensité lumineuse provenant d'une source UV.C (longueur d'onde : 254 mm) après passage à travers une lame d'eau de 100 mm (Laboratoire KATADYN FRANCE).

La puissance germicide dépend du générateur U.V. utilisé, du débit d'eau traversant ce générateur et de la perméabilité optique de cette eau.

Le filtre biologique est activé environ 40 jours avant les essais par enrichissement simultané du milieu d'élevage avec de l'azote ammoniacal et nitreux (MELARD, BLANCHETON, 1990). La veille du test III, la totalité du volume circulant est vidangée puis remplacée par de l'eau de mer neuve. La concentration en azote ammoniacal (N-NH4) est ensuite mesurée en sortie du filtre biologique sur des échantillons d'eau prélevés le jour de la mise en incubation, puis le 2ème, le 3ème jour et le jour de l'éclosion (jour 4).

#### IV.3.2. Performances d'incubation

Les résultats obtenus au cours des 3 essais sont bons avec des taux d'éclosion compris entre 73 et 86 % et des taux de non viabilité toujours inférieurs à 10 % (TAB. 2). Ces chiffres confirment également ceux obtenus pendant la mise au point du prototype d'incubateurs.

## IV.3.3. Filtration mécanique et stérilisation U.V.

Au terme de l'essai III, la perméabilité optique de l'échantillon d'eau prélevé dans le château d'eau est de 50 % (TAB. 3). Pour un débit total circulant de 2 m³/h, le stérilisateur U.V. permet dans ce cas d'éliminer au moins 99,99 % de Vibrio anguillarum circulant (données KATADYN FRANCE).

## IV.3.4. La filtration biologique

Le jour de l'éclosion, la valeur maximale de la concentration en azote ammoniacale (N-NH4) mesurée est de 0,032 mg/l. Cette concentration est extrêmement faible et tout à fait compatible avec des performances d'éclosion correctes.

### V - PREPARATION DES OEUFS AU TRANSPORT

Le circuit de recyclage comporte une dérivation qui permet d'utiliser les équipements de filtration mécanique et stérilisation U.V. en circuit ouvert (fig. 2).

Lorsque l'on veut transporter des oeufs ou bien des larves, nous pouvons donc disposer d'eau parfaitement propre pour le remplissage des containers de transport.

Cet avantage est d'autant plus important, lorsque les oeufs ont préalablement été désinfectés à l'aide d'un iodophore (COVES et BOUGET, article précédent).

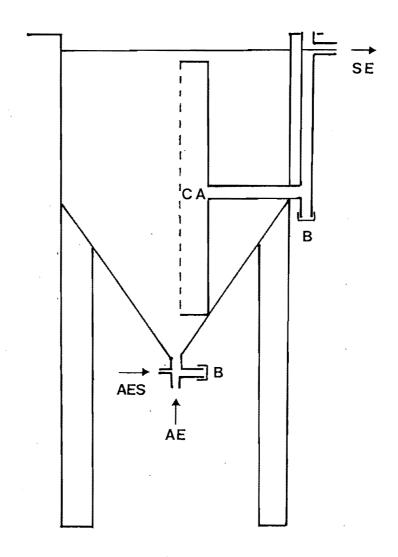
#### VI - CONCLUSION

Le nouveau module d'incubation en circuit fermé permet une production de larves viables avec des rendements d'éclosion élevés et un temps de main-d'oeuvre réduit.

La conception des incubateurs eux-mêmes, la composition et le dimensionnement du circuit fermé assurent une grande fiabilité de résultats et un contrôle sanitaire très important, au moins en ce qui concerne le Vibrio anguillarum.

Cet outil de production, utilisé avec des oeufs désinfectés et/ou pour le transport d'oeufs ou de larves représente une amélioration importante dans la fiabilité et le contrôle zoosanitaire de ce maillon de l'élevage situé entre les reproducteurs et la phase de production de juvéniles.

L'étape suivante consiste à tester cette installation avec d'autres espèces de poissons marins et à équiper le circuit d'un refroidisseur pour pouvoir l'utiliser à tout moment de l'année.



## FIG. 1. SCHÉMA DÉTAILLÉ D'UN INCUBATEUR

AE : Arrivée d'eau

AES: Arrivée d'air surpressé

B : Bouchon de vidange amovible

CA : Crépine amovible

SE : Sortie d'eau

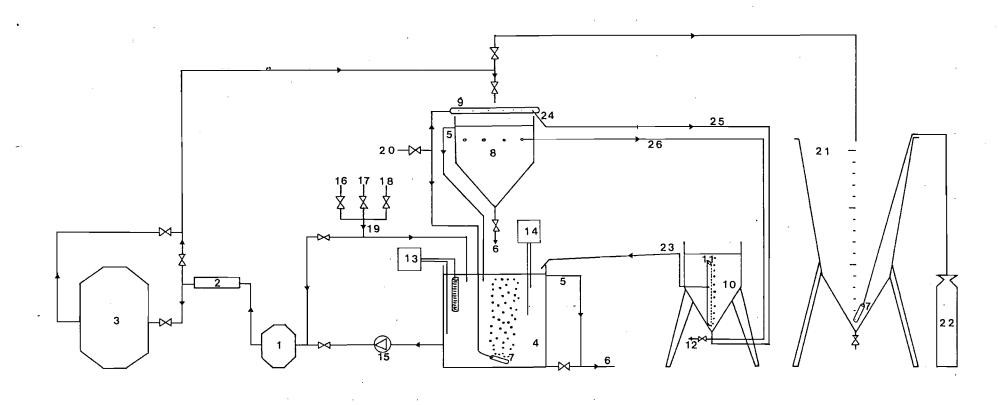


FIG. 2. SCHÉMA GÉNÉRAL DU MODULE D'INCUBATION PILOTE. (voir légende 1 à 26 ci-après)

## LEGENDES DE LA FIGURE 2

1.	Filtre mécanique (CHF réf. AHF 450) garni de silice de quartz (50 l ou 70 kg)	18.	Eau douce (3 bars)	
	d'une granulométrie de 300 à 800 microns (Somedi type 30/50)	19.	Eau de mélange à température et salinité contrôlées	
2.	Lampe Ultra-Violet (Katadyn type J1/PE)	20.	Air surpressé (0,3 bar)	
3.	Filtre bactérien (CHF réf. AHF 760) avec un garnissage de Biogrog (150 l)	21.	Cuve de prémélange oeuss + eau traitée U.V. pour transport	
4.	Bassin de pompage (100 litres)	22.	Bouteille d'oxygène	
5.	Trop plein		Trop plein d'incubateur (diamètre 25 mm)	
6.	Vidange	24.	Embout aiguille (section : 0,5 mm, longueur : 16 mm - Polylabo, réf. : NN	
7.	Diffuseur d'air en céramique Renacer (Rena)		2516 R 01)	
8.	Château d'eau (50 litres)	25.	Tube Tubclair de diamètre intérieur 4 mm (Polylabo)	
9.	Tube tyon R-3603 à paroi épaisse (diamètre intérieur 16 mm, diamètre extérieur 35 mm) commercialisé par Bioblock	26.	Tuyau souple de distribution d'eau par gravité (diamètre intérieur 7 mm, longueur 2,10 m - Stand du Caoutchouc) permettant un débit de renouvellement de 100 l/h par	
10.	Incubateur (40 litres)	-	incubateur	
11.	Crépine centrale (maille 450 microns)			
12.	Vanne de purge	-		
13.	Module de thermorégulation (sonde thermique, résistance, thermostat)			
14.	Sonde de niveau	H1:	hauteur d'eau du bassin de pompage = 78 cm	
15.	Pompe (Siébec, série M, polypropylène type M-50 magnétique) débit maximum 5 m <sup>3</sup> /h	H2:	différence de hauteur d'eau entre l'incubateur et le bassin de pompage = 18 cm	
16.	Eau de mer brute (1,5 Bar)	Н3 :	différence de hauteur d'eau entre le	
17.	Eau de mer réchauffée à 25°C (1 bar)	iio .	château d'eau et l'incubateur = 47 cm	

TABLEAU 1

Evaluation des performances d'éclosion et de l'excrétion ammoniacale d'oeufs de loup et de daurade, au cours des tests d'incubation dans le prototype d'incubateur - (\*) Incubation n'ayant pas abouti à la récupération de larves pendant la phase de mise au point de la crépine d'évacuation

ESPECE	DENSITE EN OEUFS (NB/L)	TEMPERATURE (°C)	DEBIT D'EAU L/H	VOLUME INCUBATEUR (L)	TAUX D'ECLOSIONS LARVES VIABLES (%)	PRODUCTION DE N-NH <sub>4</sub> EN MG/H
D	6.800	20	240	40	*	21,2
Α	10.000 11.400	20 20	240 240	50 ° 50	*	36,0 12,6
IX.	16.200	19,5	70	40	99	6,5
U	12.500	20	70 70	40	*	3,5
•	9.700	20,5	240	40	*	26,2
R	11.600	21,5	240	40	98	13,6
	11.800	21,5	240	40	88	11,6
Α	11.200	20	<b>24</b> 0	40	*	15,0
	20.340	20	240	50	*	3,7
D	20.340	22	240	50	*	12,0
	11.300	20,5	240	50	92	6,4
E	11.300	21	240	50	48	10,6
	11.300	20,5	240	50	. 80	25,5
	11.250	18	70	40	96	-
	12.500	20	70	40	*	2,8
·	10.250	21	70	40	87	-
	11.250	14	70	40	90	5,8
L	10.600	<b>16</b>	70	40	94	3,8
ō	13.125	14	70	40	$9\overline{4}$	-
Ū	10.600	$\tilde{1}\tilde{4}$	70	40	*	6,4
U P	10.600	$\tilde{1}\tilde{4}$	70	40	*	4,6

TABLEAU 2

Essais d'incubation d'oeufs de loup, *Dicentrarchus labrax*, réalisés en circuit fermé.

N° D'ESSAIS	DENSITE EN OEUFS VIABLES (nb l-1)	NOMBRE TOTAL D'OEUFS VIABLES (106)	NOMBRE D'INCUBATEURS	TAUX D'ECLOSIONS LARVES VIABLES (%)	TAUX DE NON VIABILITE DES LARVES (%)
,	2.500	0.44	4	84	<10
1	4.000	0.72	4	86	<10
II	4.500	1.10	6	78	<10
	5.000	0.8	4	75	<10
III	6.000	1.2	5	73	<10

## TABLEAU 3

Evolutions de la perméabilité optique mesurée après filtration mécanique et biologique, et du pourcentage d'élimination du *Vibrio anguillarum* correspondant, au cours de l'incubation d'oeufs de loup, *Dicentrarchus labrax*, pendant l'essai III (Données KATADYN-FRANCE)

Age des oeufs (14-16°C)	Perméabilité optique (%)	Taux élimination du V. anguillarum à 2 m³/h (%)	
2 jours	73	99.999	
3 jours	68	99.999	
4 jours (éclosion)	51	99,99	

TABLEAU 4

Evolution de la concentration en N-NH4 (1), N-N02 (2) et N-N03 (3) mesurée après filtration biologique au niveau du château au cours de l'incubation d'oeufs de loup, *Dicentrarchus labrax*, pendant l'essai III.

Age des oeufs (14-16°C)	1 (mg/l)	2 (mg/l)	3 (mg/l)
l jour	0,015	0	-
2 jours	0	0,012	0,261
3 jours	0,012	0,020	0,753
4 jours (éclosion)	0,032	0,036	0,555

#### **BIBLIOGRAPHIE**

BEDIER, E., B. CHATAIN, D. COVES, M. WEPPE, 1984.- Contribution à la production intensive de juvéniles de daurade *Sparus auratus*. G. BARNABE et R. BILLARD Ed., L'Aquaculture du Bar et des Sparidés, INRA Publ., Paris. 223-236.

BLANCHETON, J.P., 1987.- Contribution à l'étude du recyclage d'effluents aquacoles marins. Elimination de la pollution dissoute. La Pisciculture Française n° 89, 4-10.

COVES, D., J.F. BOUGET, en cours.- Protocole de traitement des oeufs de loup *Dicentrarchus labrax* et de daurade *Sparus auratus* à l'aide d'un iodophore.

DEVAUCHELLE, N., 1984.- L'incubation d'oeufs de bar (*Dicentrarchus labrax*) et de daurade (*Sparus auratus*). G. BARNABE et R. BILLARD Ed., L'Aquaculture du Bar et des Sparidés, INRA Publ., Paris. 117-124.

DEVAUCHELLE, N., D. COVES, 1988.- Seabass (*Dicentrarchus labrax*) reproduction in captivity: gametogenesis and sparoning. Aquat. Living Resour., 1, 215-222.

GRENZ, C., 1985.- Mise au point d'une technique de comptage d'oeufs et de larves de poisson. DEA d'Océanologie - Université d'Aix-Marseille II. 38 pp.

KOROLEFF, F., 1969.- Direct determination of ammonia in natural waters as indophenol blue. Cons. Int. Explor. Mer, information on techniques and méthode for sea water analysis n° 3.

MELARD, J., J.P. BLANCHETON, 1990. Contribution à l'étude du recyclage. Activation des filtres biologiques. Aqua Revue n° 28. 37-40.