

EXPERIENCES DE REPRODUCTION ARTIFICIELLE DU LOUP *DICENTRARCHUS LABRAX* (LINNE 1758)

par G. BARNABE et J.-C. TOURNAMILLE

A la suite des travaux entrepris par l'un de nous sur certains aspects de la biologie du loup (*Dicentrarchus labrax*) nous avons tenté d'aborder l'examen des problèmes posés par la reproduction artificielle de ce poisson.

I. - Fécondation.

Ce n'est que le 23 décembre 1969 que nous avons pu obtenir une femelle mature dans les captures des chalutiers de Sète et réaliser avec succès la fécondation artificielle ; plusieurs tentatives antérieures avaient échoué du fait de la maturité incomplète des œufs. La maturité se caractérise par l'émission, à la moindre pression abdominale, d'œufs translucides, sphériques, se détachant facilement les uns des autres.

Les œufs furent prélevés, par pression abdominale, 5 à 6 heures après la capture du poisson. Leur fécondation a été faite avec un sperme légèrement sanguinolent. Il est à remarquer que la récolte de mâles fluents ne présente pas de difficultés.

Deux méthodes furent employées pour cette fécondation : la moitié des œufs ont été fécondés à sec, l'autre moitié en milieu humide mais toujours à une température de 13°. Dans le premier cas, nous avons commencé à ajouter de l'eau, par petits jets, un quart d'heure après la mise en contact des gamètes et progressivement lors de chaque homogénéisation pour aboutir à l'immersion totale en une heure.

L'eau utilisée est celle qui alimente les aquariums de la Station de Biologie Marine et Lagunaire de Sète ; sa salinité s'est maintenue autour de 31 ‰ au cours de l'expérimentation. A une telle salinité, les œufs tombent sur le fond.

II. - Incubation.

La contraction de l'œuf est repérable 1 h à 1 h 30 après la mise en présence des gamètes ; 2 h après celle-ci, plus de 99 % des œufs étaient fécondés aussi bien à sec qu'en milieu humide.

Après élimination de l'excès de sperme les œufs fécondés furent répartis dans les conditions expérimentales suivantes.

a) Deux cristallisoirs d'une trentaine de litres reçurent, l'un des œufs fécondés à sec, l'autre des gamètes fécondés en milieu humide. Aucun comptage n'a été réalisé mais les œufs formaient un tapis occupant les 2/3 du fond du récipient. La protection antibiotique du milieu était assurée par de la streptomycine et de la pénicilline suivant le dosage utilisé par J.E. SHELBORNE (1964). La température était maintenue à 13°. la lumière était naturelle. Eau et antibiotiques ont été renouvelés tous les deux jours ;

b) Cinq cents œufs environ, mis dans un bac de 35 litres d'eau à 13°, furent laissés à la température du laboratoire (18°) qui fut atteinte en une dizaine d'heures ;

c) Le reste a été disposé dans un aquarium de 2,5 m³ en circuit ouvert. Le réchauffage de l'eau, dont la température d'arrivée était de 6°, a été assuré par une résistance de 150 w en marche continue et par une résistance thermostatée de 750 w. Toutes deux étaient disposées dans un bac de préchauffage placé au-dessus de l'aquarium. Ainsi contrôlée, la température de l'eau s'est maintenue à 13°.

Dans les premières conditions d'expériences (a), la mortalité atteignit 50 % pendant l'incubation ; la concentration des œufs sur le fond, ou le simple contact avec celui-ci, expliquent peut-être ce phénomène.

Les œufs morts ont une densité plus élevée que celles des œufs vivants, particularité qui nous a permis de les éliminer lors du renouvellement de l'eau des cristallisoirs.

Dans la deuxième expérience (b) le pourcentage de mortalité a atteint 70 %, ce qui peut provenir à la fois de la température élevée et de l'absence d'antibiotiques.

Dans le troisième milieu (c), il y eut plus de 80 % de pertes.

III. - Stades larvaires.

L'éclosion a lieu au bout de 4 jours dans les cristallisoirs à 18° et après 5 jours en milieu à 13°. Les larves se répartissent entre le fond et la surface et manifestent un phototropisme positif.

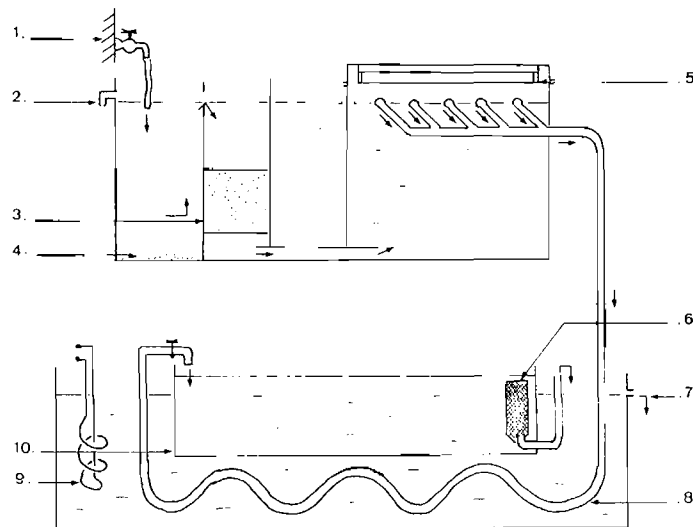


FIG. 1. — Schéma de l'aquarium d'élevage des larves : arrivée de l'eau de mer (1), trop-plein (2), filtre (3), compartiment à décantation (4), tube ultra-violet (5), soie à blutter de l'évacuation (6), évacuation (7), serpentin de réchauffage de l'eau (8), résistance électrique thermostatée avec pompe de brassage de l'eau (9), bac d'élevage (10).

Du fait de la faible densité du vitellus, la larve nage ventre en l'air mais se retourne bien avant la résorption complète de celui-ci, comme l'a aussi constaté L.A.J. JACKMAN (1952).

Pour faciliter les opérations de renouvellement d'eau et assurer une alimentation suffisante, il a été utilisé une installation en circuit ouvert avec l'eau des canaux de Sète qui alimente les aquariums de la Station de Biologie Marine et Lagunaire. L'eau d'arrivée subit un filtrage sur laine de perlon ainsi qu'une stérilisation par ultra-violet (fig. 1). Le maintien de la température à 13° est assuré à l'aide d'une résistance thermostatée de 700 w par un système de bain-marie pour éviter tout contact entre les métaux de cet appareil et l'eau où évoluent les larves. Ce contact est peut-être une des causes de la forte mortalité dans la 3^e expérience (c) au cours de laquelle cette précaution n'avait pas été prise.

Les photographies des figures 2 et 3, prises respectivement les 6 et 11 janvier 1970, montrent que c'est entre le 14^e et le 16^e jour, comptés à partir de la date de la fécondation, que la goutte lipidique, ultime vestige des réserves embryonnaires, n'est plus visible à la loupe binoculaire. La bouche s'ouvre bien avant la fin de cette résorption, soit 10 à 11 jours après la fécondation (fig. 4). Toutes ces observations concernent l'évolution d'œufs maintenus à 13°.

Nous ne décrivons ni les stades embryonnaires, ni les stades larvaires ; une récente compilation de F. BOULINEAU COATANEA (1969) rassemble les résultats de RAFFAELE (1899), CHEVEY (1925), BERTOLINI (1933), JACKMAN (1954). Il s'y ajoute la note de KENNEDY et FITZMAURICE (1968) qui confirme ces résultats. Deux remarques s'imposent pourtant.

1) Les schémas, donnés par les auteurs, des stades larvaires correspondant à la figure 2 ne traduisent pas la morphologie céphalique telle que nous l'avons observée : les dimensions de la bouche sont inférieures à ce que nous avons constaté et photographié sur le vivant. Il est possible que cela soit dû à un artefact de fixation, en tout cas c'est ce que nous avons noté sur nos larves formolées, ou fixées au Bouin, ou placées dans l'alcool à 70°.

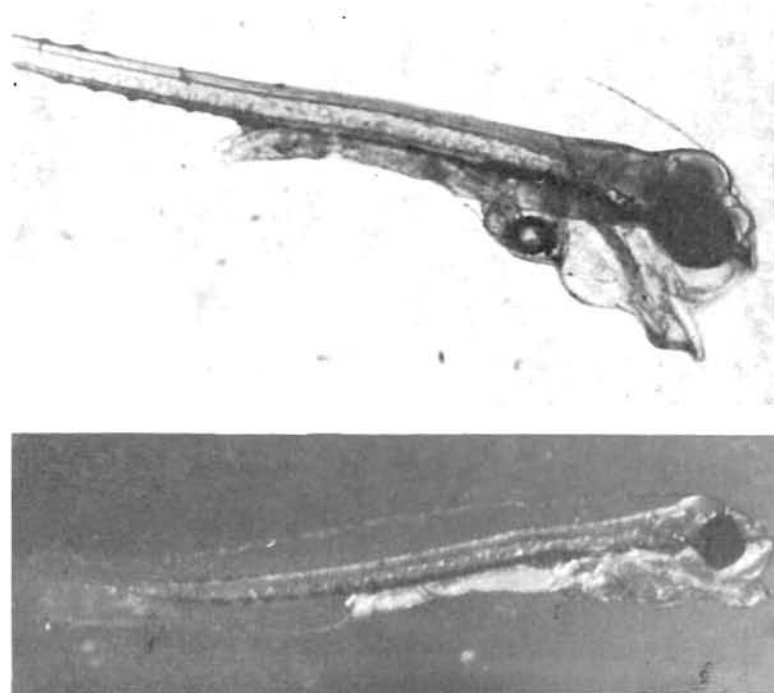


FIG. 2 et 3. — Larves de *Dicentrarchus labrax* obtenue 14 jours (en haut) et 19 jours (en bas) après la fécondation artificielle dans une eau à 13°.

2) JACKMAN indique qu'une variation de température, même de 2°, à partir de la température de référence de 15°, entraînait la mort des œufs ou des alevins. Nos expériences montrent, qu'après une forte mortalité durant l'incubation, les larves écloses à 18° n'accusent pas une survie inférieure à celles placées à 13°. De plus, les variations de l'ordre de 2°, indépendantes de notre volonté, qui se produisirent à partir du 8 janvier dans notre circuit ouvert, ne firent pas augmenter le taux de mortalité (2 à 5 % du nombre de larves écloses par jour).

En ce qui concerne l'alimentation, comme le préconisent FABRE-DOMERGUE et BIETRIX (1904), elle fut introduite dans le milieu de culture avant la résorption du vitellus, dès le 7^e jour après la fécondation. Les *Nauplii* d'*Artemia*, d'abord utilisées, s'avèrent trop grosses pour les dimensions buccales des larves tandis que les infusoires paraissent trop petits ; en tout cas nous n'avons pas pu vérifier si ces derniers étaient consommés.

Si nous avons bien réussi à induire la ponte des moules par choc thermique, les trochophores qui en découlent ont une survie très brève, sédimentent et se dégradent très rapidement sur le fond.

Compte-tenu du mauvais temps, il était très difficile d'obtenir du plancton vivant de manière continue, aussi avons-nous essayé d'utiliser un aliment artificiel (« Mikromin » Tetra) : répandu à la surface, les larves venaient le happer et présentaient la contorsion en « S » caractéristique de l'ingestion. Malgré une mortalité faible, mais constante, les larves s'alimentèrent ainsi pendant 5 à 6 jours.

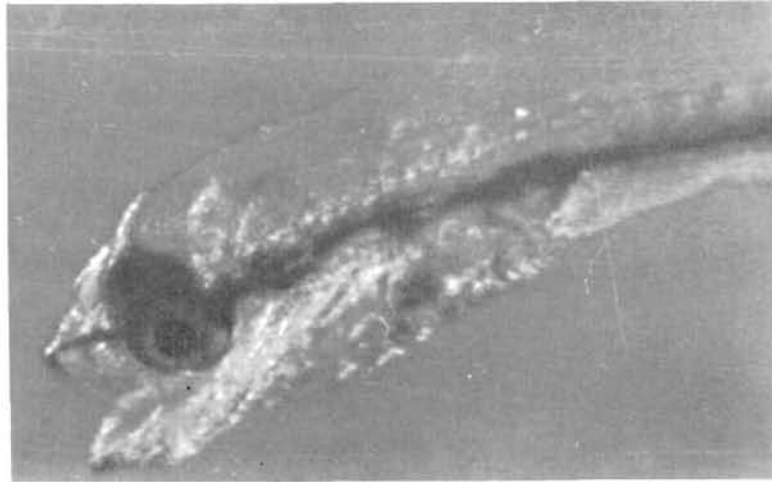


FIG. 4. — *Partie antérieure d'une larve de Dicentrarchus labrax obtenue 19 jours après la fécondation artificielle dans une eau à 13°.*

IV. - Analyse des résultats.

Le 13 janvier, un fort réchauffement de la température atmosphérique et de celle de l'eau de mer, dû à une tempête de sud-est, fit monter la température au-delà de 15°. Pour la ramener à 13° nous avons dû porter le débit à 2 l/h ce qui a entraîné la mort des larves, plaquées contre les soies à bluter limitant les surfaces d'évacuation du bac, et mit fin à nos expériences.

En plus de la température, deux autres facteurs semblent exercer une action sur le développement des œufs et des larves : ce sont l'agitation de l'eau et la lumière.

En effet, si le contact avec le fond du récipient et la concentration des œufs sur une seule couche peut expliquer le taux de mortalité enregistré au cours de l'incubation, le manque d'agitation intervient aussi certainement. Toutefois, l'influence de ce facteur paraît plus évidente au cours du développement larvaire ; ainsi, dans une eau sans agitation et soumise à des conditions d'éclairage constantes, les larves ne manifestent aucune activité. Au contraire, dès qu'une agitation, même légère, affecte l'eau, les périodes de passivité sont entrecoupées de brefs déplacements rapides. Dès après l'éclosion, ces déplacements se font en oblique ou verticalement comme si la larve voulait se maintenir à un certain niveau ; lorsque le vitellus est totalement résorbé, on observe un début de rhéotactisme positif.

La prise de nourriture semble également liée à l'agitation des particules alimentaires : lorsque celles-ci sont mouillées avant d'être offertes, leur effet attractif est faible. Au contraire, lorsque l'on en saupoudre la surface, l'intervention de phénomènes tensio-actifs provoque leur dispersion et les larves, très sensibles à ces déplacements, montent les happer en surface ; cependant, les observations à la loupe binoculaire montrent une forte proportion d'échecs lors de ces tentatives. Les particules alimentaires peuvent aussi être captées au cours de leur chute sur le fond.

Sans pouvoir conclure de manière définitive, les mouvements de la masse d'eau et des particules qu'elle renferme semblent susceptibles de déterminer des impulsions sensorielles, indispensables à la survie des larves.

Les larves manifestent, dès qu'elles peuvent nager, un phototropisme positif net. Il n'a pas été possible d'isoler l'action de la lumière, mais une quinzaine de jours d'observations assidues nous ont donné la conviction que sa constance n'est pas souhaitable : c'est dans ces conditions qu'a eu lieu l'expérience c qui s'est avérée négative.

Conclusion.

De l'ensemble de nos expériences il ressort des difficultés majeures pour mener à bien la reproduction *in vitro* du loup.

Il s'agit tout d'abord de la grande rareté des femelles sexuellement mûres, aussi bien parmi les prises des professionnels de toutes catégories (chalutiers, pêcheurs à la ligne, au filet fixe) que dans celles que l'un de nous réalise en plongée dans une zone de rassemblement hivernal des loups. Ainsi, depuis le 10 décembre 1969, en examinant journallement les apports des professionnels, nous n'avons trouvé que deux femelles matures ; une autre, capturée au harpon, approchait la maturité ; un quatrième individu émettait quelques œufs résiduels. Les œufs de ces deux derniers poissons s'avèrent non viables.

Les autres difficultés sont dues à la grande sensibilité des œufs à la concentration et au contact avec le fond, à celle des œufs et des larves au manque d'agitation et, enfin, à la fragilité des larves qui, même lorsqu'elles nagent librement, ne peuvent pas se maintenir dans un courant très faible.

BIBLIOGRAPHIE

- ABOUSSOUAN (A.), 1964. — Contribution à l'étude des œufs et larves pélagiques des poissons téléostéens dans le golfe de Marseille. — *Rec. Trav. Sta. mar. Endoume*, **32**, (48) : 87-171.
- BERTOLINI (F.), 1933. — Serranidae in Uove, Larve e Stadi giovanili di teleostei. — *Fauna Flora Golf. Napoli Monogr.* **38** : 310-13.
- BLAXTER (J.M.S.), 1968. — Rearing herring larvae to metamorphosis and beyond. — *J. mar. biol. Assoc. U.K.*, **48** : 17-28.
- CHEVEY (P.), 1925. — Recherches sur la perche et le bar. — *Bull. biol.*, **59** : 226-241.
- EHRENBAUM (E.), 1927. — Eier und larven von fischen in Nordisches plankton, Leipzig : 16-17.
- FABRE-DOMERGUE et BIETRIX (E.), 1905. — Développement de la sole. Introduction à l'étude de la pisciculture marine. — *Vuibert et Nony*, édit. Paris : 1-247.
- GARSTANG (W.), 1900. — Preliminary experiment on the rearing of sea fishes larvae. — *J. mar. biol. Assoc. U.K.*, **6** (1) : 70-93.
- GUYARD (H.), 1966. — Eléments de génétique et d'embryologie piscicoles : La fraye naturelle ; les gamones ; la fécondation artificielle actuelle. — *Bull. franç. Piscicul.*, **38**, n° 220.
- JACKMAN, 1954. — The early development stages of the bass (*Morone labrax*). — *Proc. zool. Soc. London*, **124** (3) : 531-534.
- KENNEDY (M.) et FITZMAURICE (P.), 1968. — Occurrence of eggs of bass *Dicentrarchus labrax* on the southern coasts of Ireland. — *J. mar. biol. Assoc. U.K.*, **48** : 585-592.
- LEE (J.Y.), 1966. — Œufs et larves planctoniques de poissons. In : Eléments de planctologie appliquée. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **30** (2 et 3).
- RAFFAELE (F.), 1888. — Le uove galleganti e le larve dei Teleostei del golfo di Napoli. — *Mitth. Zool. St. Naep.* **8** : 1-84.
- RUSSEL (F.S.), 1935. — On the occurrence of post-larval stages of the bass (*Morone labrax*) in the Plymouth area. — *J. mar. biol. Assoc. U.K.*, **20** : 71-72.
- SHELBOURNE (J.E.), 1964. — The artificial propagation of marine fishes. — *Advances in marine Biology*. — Edité par Russel F.S. Academic press, Londres et New-York, **2** : 1-76.
- SALINES (S.), 1960. — Etude des phénomènes de sexualité chez la moule du bassin de Thau (*Mytilus galloprovincialis*). — *Naturalia Monspeliensa*, ser. Zool., **3** : 264-274.