

Un traitement à l'hormone de croissance peut-il stimuler la smoltification du saumon atlantique?

Gilles BŒUF, Patrick PRUNET et Pierre-Yves LE BAIL

Résumé – Des parrs et pré-smolts de saumon atlantique ont été implantés avec de la GH ovine au minimum 5 mois avant la fin de la smoltification, en octobre et novembre de leur première année. Après un transfert direct d'eau douce en eau de mer de pleine salinité (35⁰/₀₀), les animaux témoins se sont révélés incapables de s'adapter à l'eau salée alors que les pré-smolts traités ont présenté une stimulation de leur système (Na-K)-ATPasique branchial, un contrôle rapide de leur balance hydrominérale, une excellente survie et une bonne croissance dans ce nouveau milieu. 36 % des parrs traités à la GH survivaient 8 semaines après leur passage en mer.

Is growth hormone treatment able to stimulate the smoltification in the Atlantic salmon?

Abstract – Parr and pre-smolts of Atlantic salmon were implanted with oGH 5 to 8 months before the end of smolting, in October and November of the first year. After a direct transfer from fresh to seawater (35⁰/₀₀) the control fishes died and were unable to adapt to full salinity while treated pre-smolts showed a gill (Na-K)-ATPase stimulation, a rapid capacity to control the osmotic balance, an excellent survival and a good growth in this new surrounding. Parr survived at 36% after 8 weeks in seawater.

Abridged English Version – The Atlantic salmon is a good exemple of migrating salmonid, remaining 1 to 4 years in river, changing deeply during parr-smolt transformation in freshwater then migrating actively to the ocean. In this species, the smolt is able to adapt rapidly to seawater, without osmotic disequilibrium, even after direct transfer to full salinity (35⁰/₀₀), to survive and continue to grow ([5], [8]). Out of the smolting period, the salmon is unable to adapt and a transfer to seawater triggers high mortalities and a lack of growth in surviving fishes. In hatcheries the best production techniques allow us today to produce smolts in 15 months [7].

A few years ago, studies have showed the possibility to use mammalian or fish growth hormone (GH) to stimulate the adaptability and the survival of young salmon to seawater ([9]-[12]). These works have been made at low salinity and using short term challenges. We report here long term results obtained after transfers to full salinity seawater in parr and pre-smolts of Atlantic salmon implanted with oGH pellets.

Using fishes originating from the Elorn river in Brittany, we put three batches of 50 salmons in October and November 1988 (9 or 10 months old) in the same tank, either not treated, or implanted with a compacted cholesterol powder pellet ("sham") or with 250 µg of ovine GH in the same support (according the techniques described in Higgs *et al.* [15]). Salmon were selected in the upper mode (pre-smolts; 129 mm) of the population in October, both in lower (parr; 89 mm) and upper (pre-smolts; 134 mm) modes in November. Each intraperitoneal pellet weights 8 to 10 mg and releases GH during 3 to 4 weeks (Le Bail, unpublished data). After 11 to 12 days fishes were directly transferred from fresh to full salinity (35⁰/₀₀) seawater. Gill (Na⁺-K⁺)-ATPase activity was measured just before transfer, or after in seawater. The osmotic pressure of the blood plasma has been checked in fish in seawater and survival and growth were recorded.

Note présentée par Lucien LAUBIER.

Results are expressed in Tables I and II. Each time no mortality occurred after the implantations. After transfer to salinity the control fish did not survive or, if able, they did not grow in seawater while treated pre-smolts showed a good adaptation, survival and growth. Implanted parr survived much better than control fishes and continued to grow. The gill (Na-K)-ATPase activity doubled in 11 to 12 days after oGH implantation compared to untreated fishes.

Some studies have demonstrated an influence of injected mammalian or fish growth hormone in fishes to stimulate the growth and the seawater adaptability ([9]-[12], [17]). The main problems remain the number of injections every two or three days and the handling stress. However, in these conditions Komourdjian *et al.* [9] and Clarke *et al.* [10] obtained good adaptation results at low salinity (29-30‰). More recently ([18], [19]) authors tried to use GH pellets and showed nice data in terms of growth in the same medium and gill ATPase stimulation, but not in terms of adaptability. Recent studies in Atlantic salmon showed an increase of blood plasma GH at the end of smolting ([8], [20]). After transfer to seawater a transitory plasma GH increase occurs in salmonids ([8], [11]). Here our results are very clear and GH treatment allows gill ATPase activity increase, good seawater adaptability, survival and growth at high salinity. In fact, GH treatment seems able to trigger reactions that the fish would develop only 5 to 8 months later at the smolting time. From the results we cannot exclude a possible slight role of cholesterol powder, which might be a precursor of cortisol, also an active molecule for seawater adaptability in salmonids ([6], [17]). From a practical point of view, the use of such pellets would be useful to allow the shortening of the production cycle. It remains to specify the future of these fishes in view of sexual maturation. GH appears as a major hormone in parr-smolt transformation phenomenon and seawater adaptation.

INTRODUCTION. — Le saumon atlantique (*Salmo salar* L.) représente un excellent exemple de salmonidé migrateur. Il séjourne de 1 à 4 ans en eau douce, puis passe par une phase de modifications profondes (smoltification), le préadaptant à la vie en environnement marin, avant la migration active vers l'océan ([1]-[4]). Le smolt s'adapte instantanément à l'eau de mer en maintenant une bonne homéostasie osmotique ([5], [6]) et en poursuivant une croissance rapide. Dans la nature en France, cette espèce déclenche sa migration de dévalaison au printemps de sa 2^e (50 % à 15 mois) ou 3^e (50 % à 27 mois) année de vie. En élevage, les techniques actuelles de production permettent d'atteindre l'état de smolt à 15 mois pour la très grande majorité de la population (plus de 85 %) [7]. En dehors de la phase terminale de la smoltification, le jeune saumon se révèle incapable de s'adapter au milieu marin. Un transfert en eau de mer déclenche alors de fortes mortalités, dépendantes de la salinité et de la taille de l'animal, et les poissons survivants ne grandissent plus ([5], [6], [8]).

De précédents travaux avaient montré que des injections répétées d'hormone de croissance (GH) pouvaient avoir une influence positive sur la croissance et la tolérance à la salinité du saumon atlantique [9], du saumon sockeye [10], de la truite arc-en-ciel [11] et du saumon amago [12]. Le but du présent travail est d'éprouver l'utilisation d'implants de GH ovine chez des juvéniles de saumon atlantique afin non seulement de leur conférer une adaptabilité précoce à l'eau de mer mais aussi de stimuler leur reprise de croissance par la suite. Les travaux antérieurs avaient été menés sur peu de temps ou sur des tests

de résistance à court terme et demandaient à être clarifiés, surtout à pleine salinité (35 ‰).

MATÉRIEL ET MÉTHODES. — Les saumons atlantiques de la souche rivière Elorn en Bretagne avaient 9 et 10 mois d'âge au moment des expériences. Cette espèce en élevage en France présente à partir du mois de juillet de la première année de vie deux modes de distribution des classes de taille; le mode « haut » (pré-smolts) correspondra aux smolts du mois d'avril suivant alors que les saumons du mode « bas » (parrs) ne migreront en mer qu'à 27 mois ([13], [14]). En octobre 1988 seuls les poissons pré-smolts ont été utilisés, contrairement au mois de novembre où pré-smolts et parrs ont été éprouvés. Le poids et la longueur moyens sont donnés dans les tableaux de résultats ainsi que les températures et salinités auxquelles se sont déroulées les expériences.

Trois lots de 50 individus sont à chaque fois constitués et regroupés dans le même bassin (de type Ewos de 4 m²) alimenté en eau douce :

- poissons non implantés,
- poissons uniquement implantés avec le support cholestérol (pastille de 8 à 10 mg et dits « sham »),
- poissons implantés avec un mélange de la poudre de cholestérol compactée avec de la GH ovine (250 µg, NIADDK-oGH-14). Les implants ont été fabriqués selon la technique préconisée par Higgs et coll. [15] qui ont mis en évidence l'intérêt de ce support chez les poissons.

Les animaux, après anesthésie au phénoxy-éthanol, sont incisés et l'implant est introduit dans la cavité péritonéale. La cicatrisation intervient rapidement et la mortalité post-opératoire a toujours été nulle. Après 11 à 12 jours les trois lots sont directement transférés en eau de mer (35 ‰ de salinité) dans le même bassin. Ils sont nourris en eau douce et en eau de mer à l'aliment sec SS 1 IFREMER [7] distribué automatiquement.

Des prélèvements de sang sont effectués périodiquement dans l'aorte postérieure grâce à une seringue héparinée et les plasmas récupérés après centrifugation sont stockés au congélateur à -28°C. Les filaments branchiaux sont prélevés sur les mêmes animaux, rincés, puis conservés dans l'azote liquide. La pression osmotique plasmatique est mesurée sur un micro-osmomètre (Advanced Instruments) et l'activité (Na⁺-K⁺)-ATPase des microsomes de la branchie par la méthode décrite dans Lasserre et coll. [16].

RÉSULTATS. — Ils sont exprimés dans les tableaux I et II, respectivement pour chaque expérience (E 1 en octobre et E 2 en novembre). Chez les pré-smolts, l'activité (Na⁺-K⁺)-ATPase branchiale double en 11 à 12 jours (P < 0,001 pour E 1, P < 0,01 et 0,05 pour E 2) chez les animaux traités à la oGH comparativement aux deux lots témoins. Elle est aussi plus élevée après 3 semaines en mer (P < 0,01) par rapport aux témoins mais non différente des « sham ». Après transfert en eau de mer la pression osmotique plasmatique apparaît contrôlée à court (48 h; P < 0,01 entre oGH et témoins) et moyen termes (77 jours; P < 0,001), alors qu'un fort déséquilibre hydrominéral affecte les poissons des lots témoins. Après 7 jours en eau de mer, en décembre, la pression osmotique des saumons « sham » est significativement inférieure (P < 0,01) à celle des témoins non opérés. La survie est très significativement augmentée chez les animaux qui ont reçu de la GH et de plus, contrairement aux témoins survivants, ils reprennent une forte croissance après le transfert en eau salée.

Chez les parrs en décembre, le taux de survie est très significativement amélioré chez les individus traités à la oGH et leur croissance se poursuit. Pour les deux parties de la

TABLEAU I

Résultats (moyennes sur 8 individus, suivie de l'erreur standard) obtenus après transfert direct en eau de mer (35 ‰) de trois lots de pré-smolts de saumons atlantiques, 12 jours après implantation (ou non) avec de la oGH en eau douce, le 26 octobre 1988 (E1); poids et longueur s'expriment en grammes et millimètres, la pression osmotique en milli osmoles par litre de plasma et l'activité ATPasique branchiale en micromoles de phosphate inorganique libéré par milligramme de protéine présente dans l'extrait et par heure d'incubation à 37°C.

Recorded results (mean ± standard error of the mean on 8 fishes) after direct transfer to seawater (35‰) of three batches of Atlantic salmon pre-smolts, 12 days after implantation (or not) with oGH in freshwater on October 26th (E1); weight and fork length are expressed in gram and millimeters, the osmotic pressure in milliosmoles per plasma liter and the gill ATPase activity in micromoles of inorganic phosphate/mg of protein/hour of incubation at 37°C.

	Lot (1) aucune manipulation	Lot (2) animaux implantés « sham » support cholestérol	Lot (3) animaux implantés oGH (250 µg)
Départ eau douce 12°C le 26 oct. 1988			
Poids	28,3 ± 0,8 g	27,7 ± 0,8	26,8 ± 0,7
Longueur	130 ± 1 mm	129 ± 1	129 ± 1
Transfert direct en eau de mer (12°C, 35 ‰) le 7 nov. 1988			
(Na-K)- ATPase	3,1 ± 0,5 µmoles Pi/ mg prot./h	3,1 ± 0,2	6,4 ± 0,4
branchiale			
Mortalité	35 %	20 %	0 %
48 heures eau de mer			
Mortalité	75 %	50 %	0 %
21 jours eau de mer			
Poids	27,1 ± 2,2 -4,3 %	27,9 ± 1,3 +0,72 %	34,0 ± 1,6 +26,9 %
Longueur	133 ± 3 +2,3 %	133 ± 2 +3,1 %	143 ± 2 +10,9 %
Pression osmotique	345 ± 6 mOsm/l	341 ± 4	340 ± 4
ATPase	14,2 ± 1,8	17,7 ± 1,5	20,4 ± 1,0

population traitées à la GH, il n'y a pas eu de mortalité entre 21 et 54 jours en mer. Ensuite jusqu'à 137 jours (le 18 mai 1989), la mortalité a été de 5 % sur le mode haut (81,2 ± 2,2 g) et de 10 % sur le mode bas (54,7 ± 3,9 g).

DISCUSSION. — L'idée d'utiliser une hormone de croissance mammalienne pour stimuler l'adaptabilité à l'eau de mer chez les salmonidés n'est pas nouvelle mais jusqu'à présent tous les auteurs avaient utilisé une longue série d'injections avant d'obtenir des résultats ([9]-[11], [17]). Le grand inconvénient de ces méthodes est la lourdeur expérimentale et surtout le fait de devoir reprendre les poissons tous les deux à trois jours, durant plusieurs semaines parfois. Ceci peut déclencher un état de stress chronique et une baisse de l'appétit. Cependant, dans ces conditions, Komourdjian et coll. [9] ont obtenu des résultats positifs sur l'adaptation de pré-smolts de saumon atlantique à 30 ‰ de salinité et une meilleure survie des animaux traités. Clarke et coll. [10] ont démontré, chez le saumon sockeye, qu'un traitement à la GH de tilapia ou bovine améliorait la natrémie 24 h après un passage brutal en eau salée à 29 ‰. Plus récemment [11], chez la truite arc-en-ciel, des injections de sGH purifiée (de saumon chum) ou de oGH ont permis également une meilleure régulation osmotique après 24 h à 28 ‰ de salinité.

Très récemment ([18]-[19]) des travaux ont été réalisés par implantations à la bGH purifiée ou à une bGH recombinante. Elles stimulent nettement la croissance chez le saumon coho [19] et entraînent une augmentation de l'activité (Na⁺-K⁺)-ATPasique branchiale [18] chez des pré et post-smolts. Mais dans ce dernier cas Richman et Zaugg [18] n'ont pas réussi à obtenir une meilleure adaptation à l'eau de mer.

TABLEAU II

Même légende que pour le tableau I, mais pour des pré-smolts et parrs implantés (ou non) le 24 novembre 1988 (E2).

Same legend as in I, but for pre-smolts and parr implanted (or not) on November 24th (E2).

		Lot (1) aucune manipulation	Lot (2) animaux implantés « sham » support cholestérol	Lot (3) animaux implantés oGH (250 µg)
Départ eau douce 12°C le 24 nov. 1988	Poids des pré-smolts	30,9 ± 0,4 g	30,8 ± 0,4	30,2 ± 0,3
	Longueur des pré-smolts	134 ± 0,4 mm	135 ± 0,5	134 ± 0,4
		8,1 ± 0,2	7,9 ± 0,2	7,9 ± 0,2
	Poids des parrs	89 ± 0,7	88 ± 0,5	89 ± 0,7
	Longueur des parrs			
	Transfert direct en eau de mer (12°C, 35 ‰) le 5 déc. 1988			
Jour du transfert pré-smolts 48 heures eau de mer	(Na-K)- ATPase branchiale	3,6 ± 0,7 µmoles Pi/ mg prot./h	4,1 ± 0,6	7,1 ± 0,9
	Mortalité	24 %	8 %	0 %
	Pression osmotique	427 ± 10 mOsm/l	405 ± 18	338 ± 6
7 jours eau de mer 21 jours eau de mer	Pression osmotique	423 ± 8	383 ± 10	326 ± 3
	Mortalité	100 %	93 %	6 %
	Poids		29,5 ± 1,5 - 4,2 %	34,0 ± 0,6 + 12,6 %
	Longueur		134 ± 2 - 0,7 %	147 ± 1 + 9,7 %
	Pression osmotique		343 ± 8	318 ± 4
54 jours eau de mer	ATPase		19,4 ± 7,9	25,0 ± 1,0
	Poids			47,4 ± 1,6 + 56,9 %
	Longueur			158 ± 1,7 + 17,9 %
parrs	Mortalité 48 h	100 %	88 %	48 %
	Mortalité	100 %	100 %	64 %
21 jours eau de mer	Poids			11,1 ± 1,1 g + 40,5 %
	Longueur			100 ± 3 mm + 12,4 %
54 jours eau de mer	Poids			20,2 ± 2,7 + 155,7 %
	Longueur			119 ± 6,1 + 33,7 %

Les résultats de nos expériences sont extrêmement clairs : le traitement par implantation de oGH stimule l'activité ATPasique branchiale en 11 à 12 jours et permet une excellente régulation de la balance hydrominérale après contact direct avec une eau de mer de pleine salinité (35 ‰). Les animaux témoins, non opérés et « sham », se révèlent, comme cela était déjà connu ([5], [6]) incapables de s'adapter à la salinité et meurent rapidement, ou pour les survivants ne grandissent plus. Les pré-smolts traités, 5 ou 6 mois avant la fin de la smoltification, survivent remarquablement (0 ou 6 % de mortalité après 54 jours en mer) au transfert direct et présentent une forte croissance dans ce nouveau milieu. Les petits « parrs » traités réagissent également très différemment des témoins et près de la moitié d'entre eux survivent et grandissent en eau salée. Dans l'expérimentation d'octobre, les poissons « sham » survivent significativement plus que les non opérés, mais ne croissent pas davantage. Dans celle de novembre, nous enregistrons la même tendance et on ne peut exclure ici un rôle de la poudre de cholestérol compactée qui pourrait se révéler un précurseur d'hormones corticostéroïdes capables elles-aussi de stimuler

l'adaptation à l'eau de mer ([17], [18]). A très court terme, les animaux non opérés et « sham » réagissent de la même façon, mais les seconds paraissent réguler plus rapidement à moyen terme. Les deux lots ne présentent cependant pas de croissance. La pression osmotique plasmatique n'est que très peu ou pas différente après 21 jours en eau de mer entre les différents lots parce qu'alors les poissons survivants contrôlent tous leur balance hydrominérale.

Ainsi l'implantation d'hormone de croissance mammalienne, autorise le transfert en eau de mer de pleine salinité de saumons atlantiques âgés seulement de 9 ou 10 mois avec d'excellents résultats de survie et de croissance par rapport aux témoins. Ces résultats sont en accord avec les données antérieures et l'hypothèse d'un important rôle de la GH dans la smoltification du saumon ([8], [9]). Les niveaux circulants augmentent fortement en fin de période quelques jours avant le maximum ATPasique branchial ([8], [20]). La GH se révèle en fait capable de déclencher des réactions que l'animal ne présenterait que 5 à 6 mois plus tard : stimulation du système ATPasique branchial, capacité d'osmorégulation immédiate après le contact avec l'eau de mer, poursuite de la croissance, tous ces traits étant parmi les caractéristiques essentielles du smolt. D'autres hormones jouent évidemment en synergie comme le cortisol [17] (effet possible ici du cholestérol?) et la tri-iodothyronine [6]. Au plan appliqué, l'utilisation d'implants sous cette forme n'est pas exclue, la manipulation étant unique et légère, lors d'une vaccination par exemple, intervenant plus d'un an avant le début de la commercialisation et permettant de sensiblement réduire le cycle de production. Il reste à préciser le devenir de ces animaux du point de vue de la maturation sexuelle.

Travail effectué avec le concours financier du G.C.S. « Bases biologiques de l'Aquaculture ». Nous tenons à remercier sincèrement le National Hormone and Pituitary Program à Baltimore (U.S.A.) pour avoir gracieusement mis à notre disposition la GH ovine purifiée, nos collègues Gibassier et Chevanne de la Faculté de Pharmacie de Rennes qui ont fabriqué les implants, Y. Normant, B. Petton, A. Le Roux et A. Sèvre pour leur excellente assistance technique à l'IFREMER à Brest.

Note remise le 19 octobre 1989, acceptée le 19 décembre 1989.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] M. FONTAINE, *Advances Mar. Biol.*, 13, 1975, p. 241-355.
- [2] W. S. HOAR, *J. Fish. Res. Bd Can.*, 33, 1976, p. 1233-1252.
- [3] W. S. HOAR, *In Fish Physiol.*, 11, 1988, p. 275-343.
- [4] G. BŒUF, *La Pisciculture Française*, 88, 1987, p. 5-21.
- [5] G. PARRY, *J. Exp. Biol.*, 37, 1960, p. 425-434.
- [6] G. BŒUF, *Thèse de Doctorat d'État*, Brest, 1987, 370 p.
- [7] J. L. GAIGNON, *La Pisciculture Française*, 90, 1987, p. 5-56.
- [8] G. BŒUF, P. Y. LE BAIL et P. PRUNET, *Aquaculture*, 82, 1989 (sous presse).
- [9] M. P. KOMOURDJIAN, R. L. SAUNDERS et J. C. FENWICK, *Can. J. Zool.*, 54, 1976, p. 531-535.
- [10] W. C. CLARKE, S. W. FARMER et K. M. HARTWELL, *Gen. Comp. Endocrinol.*, 33, 1977, p. 174-178.
- [11] J. P. BOLTON, N. L. COLLIE, H. KAWAUCHI et T. HIRANO, *J. Endocr.*, 112, 1987, p. 63-68.
- [12] S. MIWA et Y. INUI, *Gen. Comp. Endocrinol.*, 58, 1985, p. 436-442.
- [13] J. THORPE, *J. Fish Biol.*, 11, 1977, p. 175-184.
- [14] G. BŒUF, A. LE ROUX, J. L. GAIGNON et Y. HARACHE, *Aquaculture*, 45, 1985, p. 73-81.
- [15] D. A. HIGGS, E. M. DONALDSON, H. M. DYE et J. R. MCBRIDE, *Gen. Comp. Endocrinol.*, 27, 1975, p. 240-253.
- [16] P. LASSERRE, G. BŒUF et Y. HARACHE, *Aquaculture*, 14, 1978, p. 365-382.
- [17] G. YOUNG, *Gen. Comp. Endocrinol.*, 71, 1988, p. 85-92.
- [18] N. H. RICHMAN et W. S. ZAUGG, *Gen. Comp. Endocrinol.*, 65, 1987, p. 189-198.
- [19] N. E. DOWN, E. M. DONALDSON, H. M. DYE, K. LANGLEY et L. M. SOUZA, *Aquaculture*, 68, 1988, p. 141-155.
- [20] P. PRUNET, G. BŒUF, J. P. BOLTON et G. YOUNG, *Gen. Comp. Endocrinol.*, 74, 1989, p. 355-364.