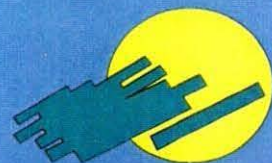


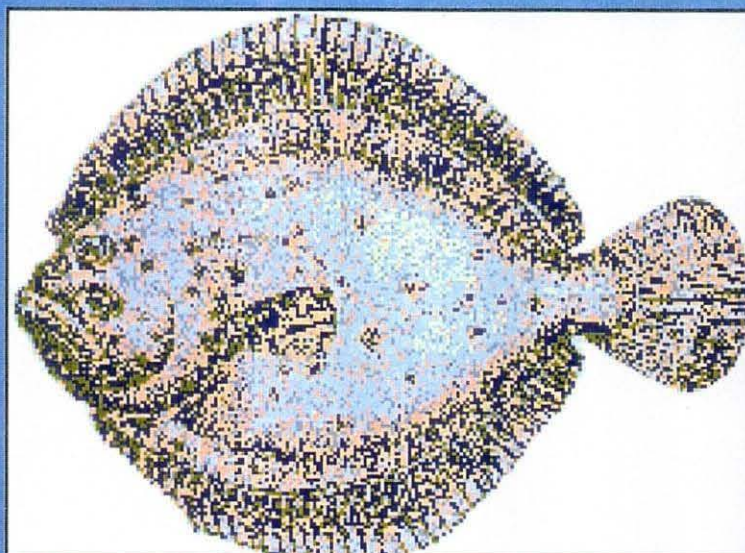
Ecole Nationale Supérieure  
Agronomique de Rennes  
DEERN-Halieuitique



**ENSA**  
RENNES

**INFLUENCE D'UN COMPLEMENT NUTRITIF  
DE L'ALIMENTATION DES GENITEURS  
SUR LA QUALITE DES OEUF S ET DES  
LARVES DE TURBOT (*Scophthalmus maximus*)**

Mémoire soutenu pour l'obtention du Diplôme d'Agronomie Approfondie  
par Arnould MANNER  
Octobre 1995



Unité Reproduction  
Laboratoire de Physiologie des Poissons  
Direction des ressources vivantes  
IFREMER / Centre de Brest



IMMEUBLE INTERNATIONAL  
13, Avenue de la Gare  
78181 SAINT-QUENTIN EN YVELINES



## PREFACE :

Ce stage s'est déroulé dans le cadre d'un contrat européen AIR2 CT93 1449, signé entre la COMMUNAUTE EUROPEENNE et :

Rijksuniversiteit Gent,

Consejo Superior de Investigaciones Cientificas,

Cultivos de Peces S.A.,

Société d'Etudes, de Promotion et d'Ingénierie de l'Aquaculture Internationale,

Sintef-Fundation for Scientific and Industrial Research at the Norwegian Institute of Technology,

France Turbot.

Le contrat intitulé "EFFECT OF BROODSTOCK MANAGEMENT AND BROODSTOCK NUTRITION ON QUALITY OF TURBOT *SCOPHTHALMUS MAXIMUS* PRODUCTION", a pour objet :

- D'améliorer la qualité des oeufs et des larves de turbot à travers le régime alimentaire des géniteurs.

- D'identifier les besoins nutritionnels de la larve de turbot à différents stades et de détecter le facteur nutritionnel interférant sur la pigmentation.

L'expérimentation sur le régime alimentaire des géniteurs a débuté en 1994 dans l'écloserie marine de Gravelines appartenant à SEPIA et s'est poursuivi cette année à la station Saint-Anne du Portzic de l'IFREMER de Brest qui est intervenu en tant que prestataire de service.

Pour ce programme de travail, une convention de stage a été signée entre l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes et la société SEPIA.

## REMERCIEMENTS

Cette expérimentation n'aurait pu être réalisée sans le concours de nombreuses personnes. Je remercie chacune d'entre elles, et en particulier :

- Jean-Louis GIGNON, pour son encadrement des plus formateurs, tant pour sa rapidité et sa clarté d'analyse que pour la grande liberté et la confiance qu'il m'a accordé tout au long de la réalisation de ce projet.
- Rudi BIJNENS de l'ARC, pour son aide au démarrage de l'expérimentation.
- Javier PARRA, stagiaire espagnol (COMETT) de SEPIA CONSEIL, pour son aide logistique capitale au cours des manipulations.
- Marc SUQUET, pour son aide précieuse au cours de l'expérimentation sur la qualité des gamètes mâles, mais aussi et surtout pour ses boutades et sa bonne humeur.
- Loïc QUEMENER, pour ses très appréciables compétences en statistiques et sa grande convivialité.
- Marie-Hélène OMNES, pour sa grande disponibilité et ses conseils sur l'incubation.
- Yvon NORMANT, pour son soutien moral, ses caramels mous et sa gentillesse.
- Annick LE ROUX et Armelle SEVERE, pour leur apport dans la logistique d'échantillonnage pour les analyses biochimiques.
- Bruno PETTON, pour son encadrement estival.

Sans oublier, Marie-Françoise Gouillou, Nadine Rossignol, Catherine, Sergio, Christine, Primo, Clara, Rodolpho, Georges... et Zaï.

A mon ami Mathias TABARDEL





## Abstract :

### Introduction :

The decrease of turbot fry price of the last three years has shown how it is now important to reduce larval mortality during larval rearing for the profitability of the aquaculture farms.

The nutritional aspects of reproductive performance in fish have not generated the same interest among nutritionists as the studies concerning the immature stages. Nevertheless, some work has been carried out showing that the nutrition of broodstock is important for successful breeding (Mangor Jensen *et al*, 1994).

Sandnes *et al* (1984) suggested that ascorbic acid (AA) may have a critical function in fish reproduction and the feeding of an AA deficient diet to broodstock could therefore impair reproductive performance. The fish capacity to synthesize AA is absent (Sandnes, 1991), so an exogenous supply of AA is necessary.

Takeuchi *et al* (1991) viability tests<sup>3</sup> have placed the docosahexaenoic acid (DHA, 22:6(n-3)) as the most important fatty acid for the larvae of red sea bream. It could reduce the effects of larval stress (Watanabe *et al*, 1995). The content of n-3 highly unsaturated fatty acid (HUFA) in red sea bream eggs can be increased only through dietary supplementation of these fatty acids (Harel *et al*, 1994). So DHA should be incorporated in broodstock feed.

The -tocopherol is the most active form of the vitamine E. Takeuchi *et al* (1981) has shown that -tocopherol increase egg flottability and the proportion of normal larvae. As an essential vitamine, a supply of -tocopherol should be added to broodstock nutrition.

Whether the carotenoid effect has not been always proved, it remains probable. It could be important during the embryonic development (Sandnes *et al*, 1984). As fish are unable to synthesize carotenoids, they must be incorporated in broodstock feed (Torissen, 1984).

The object of this experiment is to search an eventual effect of a supplemental AA, vitamine E, HUFA and carotenoid mixture of turbot diet on the quality of eggs and larvae. The provided larval rearing were not made.

### Materials and methods :

Sixty four fish (3-5 years old) from Ifremer's turbot (*Scophthalmus maximus*) broodstock were distributed in four 14 000 liter tanks. A 8:8 ratio of males to females was initially placed. The broodstock were fed ad libitum twice a week with fresh trash fish (sardines) since december 1994. The experimental feeding started one month and half before the beginning of the spawning season. Two broodstock tanks continued to be fed with the basic feed. The other 2 tanks were then fed with the trash feed supplemented with 36,7g/kg DW of a mixture which contains 79,8% of DHA, 9,6% of AA, 2,6% of tocopherolacetate and 8,0% of canthaxanthin.

The quality of turbot spawn depends on the retention time of the ova in the lumen of the ovary (Mc Evoy, 1984). In order to break free from overripenning, the females were stripped every day and low viability spawns (viability rate<80%) were not sampled. The samplings were made every Wednesday and Thursday during the all spawning season which permit to make a weekly rotation.

Fecundity of females, size of the eggs and their lipidic droplet, quality and rapidity of cells division, fertility, hatchability, time between fertilisation and 50% hatching and survival time of unfed larvae were investigated for each sampled spawn. Samples for biochemical analysis were made. Biochemical datas will complete the present results.

A very high number of datas should have been investigated to considerate the effects of males and females quality, the spawning rank of the spawns and the effect of the tank. Therefore, these variables were aggregated in the tank effect. So the datas were analysis as tank datas.

### Results and discussion :

Although the rate of mature spawning females were high (>70%) few datas were available for one of the tanks. Female and tank effects were unfortunately hardly dissociable and the datas were therefore analysed between the treated and the controlled broodstocks.

There was no significant effect of the diet on the fecundity of females. Mangor Jensen *et al* (1994) also didn't show an AA effect on the fecundity of cod, such as Harris (1984) on the influence of canthaxanthin on rainbow trout fecundity. On the other hand, Sandnes *et al* (1984) and Watanabe *et al* (1984c) showed respectively a AA effect and an essential fatty acid (EFA) effect on the rainbow trout fecundity.



Caluwé *et al* (1995) have recently shown a HUFA, vitamine E and C combined effect on *Macrobrachium rosenbergii* eggs size. Our results do not corroborate it.

No correlation between diets and fertilisation rate of turbot eggs could be revealed in this experiment. Peleteiro *et al* (1993) experiment on the influence of eggs HUFA content on the fertilisation rate of turbot eggs confirm our results. Nevertheless, a combined effect of HUFA, vitamine E and C on *Macrobrachium rosenbergii* eggs fertility has been shown by Caluwé *et al* (1995). Concerning carotenoids, Miki *et al* (1984) showed that pigmented ova from bream presents higher level of fertilisation rate. But Quantz (1980) and Shnarevich and Sachenko (1972) had not found a correlation between eggs pigment content and fertilisation rate of trout eggs.

The datas of speed division characterized by the rate of 8 stade eggs 3 hours and 45 minutes after fertilisation don't show differences ( $P = 0.0062$ ) between the treated and the controlled tanks (89,3% +/- 3,9 se and 69,9% +/- 8,2 se respectively). An increased number of samples could reveal an effect. As the 8 stade cells rate is high, the determination should be done sooner which could eventually increase an eventual difference.

The eggs division quality criteria defined at the beginning of the experiment has been shown to be extremely selective. Only few eggs correspond to the criteria of perfect symmetry and equal size of the blastomeres. A less selective criteria should be definite for further investigations.

There was no significant differences in hatchability and time between fertilisation and 50% hatching. Peleteiro *et al* (1993) also didn't find any correlation between eggs HUFA content and hatchability of turbot eggs. But Sandnes *et al* (1984) showed an AA effect on trout eggs hatchability as Soliman *et al* (1986) did on tilapia's. Takeuchi *et al* (1981) also found a vitamin E deficiency effect on trout eggs hatchability. If Murayama and Yanase (1961) showed an asthaxanthin effect on rainbow trout hatchability, Torissen (1984) didn't confirm it on atlantic salmon's.

The survival time of unfed larvae presents a significant difference ( $P < 0.007$ ) between the enriched and the controlled larvae. The enriched larvae died sooner than the controlled one, i.e. 121,5h 2,4 (se) and 129,6h 3,6 (se) respectively between 50% hatching and 50% mortality. Associated to the possibility that the first stades of development could be accelerated by the enrichment of the eggs, the enriched larvae have probably an increased metabolism which induces a reduction of the survival time of unfed larvae.

The cited publications of this report analysed the detrimental effects of some nutrient depletion on reproductive performance. Their interest is mainly pointing out their importance for further more precise studies (Robin and Kaushik, 1994). The only experiment using a non deficient controlled diet did not find any correlation between eggs HUFA content and flottability, fertility and hatchability of turbot eggs (Peleteiro *et al*, 1993). The sardines we use to feed the broodstock were often extremely fresh. Their content in AA and vitamine E could have been sufficient for the success of the first stages of development. Especially, the spawning season of sardines passed during summer and increased AA rates were revealed by Sandness and Braekkan (1981) and Seymour (1981) during ovarian growth of cod and carp.

In the same way, even if the transformation of fatty acids in DHA is limited in fish, a little transformation of the fatty acid content of sardines could have eventually been sufficient for the reproduction requirements of DHA.

The lack of fineness or reliability of some of the studied criteria and the extreme variability of some others could also explain the lack of effects of the diets on the datas.

### **Conclusion :**

The experimental protocole did not permit to break free from individual variability because of the lack of datas for one of the tanks. Ideally, all the good viability spawns should be sampled for investigations. But, in that case, the weekly rotation could not be done. It would require to multiply the experimental installations. An increased number of females per tank and tanks per treatment could also increase the data fiability and reliability.

How interesting is the probably increased metabolism of enriched larvae ? Does it reveal an increased potential of larval growth ? Could it reduce the period during which first exogeneous feeding must be given to larvae, which would not be favourable ? No answers to these questions can actually be given.

Unfortunately, larval rearing have not been done. But whenever they had been done, the larval rearing feeding effects and the data variability induced by larval rearing parameters could eventually screen the effects due to the initial larval biochemical constitution.



Dietary deficiency effects have not been systematically revealed by scientists. We use fresh trash fish for the broodstock nutrition. Therefore, it could have been foreseeable determined that none of the usual criterii could reveal a difference between enriched and controlled eggs. It could be interesting to determine the sardine biochemical constitution to know the exact nutrient inputs of the two diets given to broodstock.

This experiment has not revealed dietary effects of broodstock nutrition on the eggs quality. But it has clearly established the experimental proceedings for further investigations. Using a less reach basis diet could reveal the nutritional requirements of turbot broodstock for successful breeding during a future experiment.

## SOMMAIRE :

<b>INTRODUCTION :</b> .....	<b>3</b>
<b>I. MATERIELS ET METHODES :</b> .....	<b>4</b>
I.1. MATERIEL BIOLOGIQUE :.....	4
I.2. INSTALLATIONS EXPERIMENTALES ET MATERIELS :.....	5
I.2.1. Unités d'élevage :.....	5
I.2.2. Unités d'incubation :.....	5
I.2.3. Bassin de mise à jeûn des larves :.....	6
I.2.4. Matériel de prélèvement et de comptage :.....	6
I.2.5. Matériel d'échantillonnages pour les analyses biochimiques:.....	6
I.3. METHODES EXPERIMENTALES:.....	6
I.3.1. Contraintes liées aux particularités des turbots :.....	6
I.3.2. Rationnement et distribution de l'alimentation des géniteurs :.....	7
I.3.3. Détermination de l'état de maturation des femelles :.....	8
I.3.4. Prélèvement des ovules et du sperme :.....	8
I.3.5. Sélection des pontes viables et détermination de la productivité individuelle :.....	9
I.3.6. Tailles des ovules et des globules lipidiques :.....	10
I.3.7. Méthodes de fécondation :.....	10
I.3.8. Détermination du taux de fécondation, de la vitesse de division cellulaire et du taux de division cellulaire « normale » :.....	12
I.3.9. Prélèvements pour les analyses biochimiques :.....	13
I.3.10. Gestion et détermination des paramètres d'incubation :.....	13
I.3.11. Gestion et détermination des paramètres de mise à jeûn :.....	15
I.3.12. Synchronisation des plans expérimentaux hebdomadaires :.....	16
I.3.13. Présentation des résultats et analyses statistiques :.....	17
<b>II. RESULTATS ET DISCUSSION:</b> .....	<b>19</b>
II.1. LIMITES ET SOLUTIONS APORTEES:.....	19
II.2. ANALYSES PRELIMINAIRES :.....	19
II.3. RESULTATS ZOOTECNIQUES DES GENITEURS :.....	20
II.3.1. Accidents et incident d'élevage :.....	20
II.3.2. Alimentation des géniteurs:.....	20
II.3.3. Croissance pondérale des géniteurs :.....	21
II.3.4. Productivité des femelles ovulantes :.....	22
II.3.5. Coloration des pontes :.....	25
II.4. QUALITE DES OEUFS ET DES LARVES :.....	25
II.4.1. Tailles des ovules et des globules lipidiques :.....	25
II.4.2. Taux de fécondation des pontes :.....	27
II.4.3. Paramètres de division cellulaire :.....	28
II.4.4. Résultats d'incubation :.....	29
II.4.5. Résultats de temps de survie à jeun :.....	30
II.5. ANALYSE DE L'ENSEMBLE DES RESULTATS :.....	31
II.5.1. Effet du complément nutritif :.....	31
II.5.2. Méthodologie :.....	33
<b>CONCLUSION :</b> .....	<b>34</b>



<b>ANNEXES.....</b>	<b>36</b>
1. TABLEAU DE REPARTITION DES GENITEURS . I.....	37
2. TABLEAU DE REPARTITION DES GENITEURS . II.....	38
3. BASSINS D'ELEVAGE.....	39
4. EVOLUTION DE LA TEMPERATURE DES BASSINS D'ELEVAGE.....	40
5. INSTALLATIONS D'INCUBATION.....	41
6. INFLUENCE DE LA TEMPERATURE ET DE LA LUMIERE SUR LA DUREE ENTRE LA FECONDATION ET 50 % D'ECLOSION.....	42
7. INSTALLATIONS DE JEUN.....	44
8. MONTEE EN TEMPERATURE.....	45
9. TABLE DE DOSAGE DES GELLULES EN FONCTION DU POIDS MOYEN DES PROIES.....	46
10. QUALITE DU SPERME :.....	47
11. RELATION ENTRE LE TAUX DE VIABILITE ET LE TAUX DE FECONDATION.....	50
12. DETERMINATION DE LA VITESSE D'ECLOSION ENTRE 13.7 ET 14.1 °C.....	51
13. DECOUPAGE DU BASSIN DE MISE A JEUN EN 3 BLOCS.....	52
14. ANALYSES DE VARIANCE.....	53
15. ALIMENTATION DES BASSINS D'ELEVAGE 2 ET 4.....	54
16. ALIMENTATION DES BASSINS D'ELEVAGE 5 ET 7.....	55
17. EVOLUTION DE POIDS DES GENITEURS.....	56
18. PRODUCTIVITE DES FEMELLES.....	57
19. TAILLES DES OEUFS ET DES GLOBULES LIPIDIQUES.....	58
20. RESULTATS DE VIABILITE ET DE FECONDATION.....	59
21. RESULTATS DE DIVISION CELLULAIRE.....	60
22. RESULTATS D'INCUBATION I.....	61
23. RESULTATS D'INCUBATION II.....	62
24. RESULTATS DE SURVIE A JEUN.....	63
 <b>BIBLIOGRAPHIE :.....</b>	 <b>64</b>



## Introduction :

La chute du prix de l'alevin de turbot des trois dernières années (13 à 15 francs en 1993 contre 5 à 7 francs actuellement) a accéléré la course à la rentabilité des entreprises aquacoles. Il est devenu nécessaire de maîtriser au mieux la qualité des larves produites et d'éviter les pertes financières causées par les mortalités intermédiaires. Des études récentes sur l'incorporation de compléments nutritifs dans l'alimentation des jeunes larves ont révélé des effets positifs sur la survie. Cependant, la complémentation de l'alimentation des rotifères et des artémias en éléments nutritifs n'est pas simple et par conséquent est coûteuse. Le but de l'expérimentation présente est d'essayer d'apporter ces compléments nutritifs par l'intermédiaire de l'alimentation des géniteurs.

La nutrition des géniteurs et son effet sur la reproduction n'a pas été autant étudiée que celle des individus immatures (Mangor Jensen *et al*, 1994 et Cerda *et al*, 1994). Néanmoins, quelques travaux ont pu montrer l'importance de la nutrition des géniteurs pour le succès de la reproduction. Les demandes sans cesse croissantes des éleveurs pour une production massive d'oeufs et le besoin de connaître de quelle manière les déficiences nutritionnelles peuvent être une cause importante des faibles performances de reproduction des poissons élevés, montrent à quel point ces études sont maintenant essentielles (Carillo *et al*, 1995).

De façon générale, la nature du régime alimentaire des géniteurs influe sur la composition biochimique des oeufs. Sandnes *et al* (1984) montrent une corrélation entre la concentration en vitamine C des oeufs et le régime alimentaire en acide ascorbique des géniteurs chez la truite arc-en-ciel, *Salmo gairdneri*. De même, Soliman *et al* (1986) ont constaté une accumulation d'ascorbate significativement différente dans les ovaires de tilapias, *Oreochromis mossambicus*, entre des géniteurs dont l'alimentation est complétement et ceux pour qui elle ne l'est pas. Mangor Jensen *et al* (1994) montrent aussi un effet significatif de l'accumulation de la vitamine C dans les oeufs de morue, *Gadus morhua*, entre des géniteurs dont l'alimentation a été complétement à 500 mg / kg d'aliment par rapport aux groupes à 0 et 50 mg / kg; ces deux derniers n'étant pas différents statistiquement. Quantz (1980) a nourri 4 groupes de truites arc-en-ciel avec des taux différents de canthaxanthine et d'astaxanthine (caroténoïdes). Il montre un effet positif du régime alimentaire sur la concentration des oeufs en caroténoïdes. En ce qui concerne les acides gras essentiels, une nette influence du régime alimentaire en acides gras des géniteurs a été montrée sur la concentration en acide gras des oeufs de daurade, *Sparus aurata* (Harel *et al*, 1994 et Watanabe *et al*, 1978, Watanabe *et al*, 1984a,b) et de turbot, *Scophthalmus maximus* (Rubio Rincon, 1986). De même, le transfert de la vitamine E (α tocophérol) aux oeufs est évident chez la truite arc-en-ciel (King *et al*, 1983) et chez la crevette, *Macrobrachium rosenbergii* (Caluwé *et al*, 1995).

Sandnes *et al* (1984) ainsi que Mangor Jensen *et al* (1994) indiquent une fonction critique de la vitamine C dans la reproduction. Une déficience de cette vitamine essentielle pourrait altérer les performances de reproduction. De plus, la vitamine C a une importance fondamentale dans les processus de formation des tissus par son rôle d'antioxydant (Gouillou, communication personnelle). La capacité de synthèse de la vitamine C est nulle chez les poissons; il est donc nécessaire qu'ils la trouvent dans leur alimentation (Sandnes, 1991).

Les acides gras polyinsaturés, AGPI (n-3) (spécialement acide gras docohexaénoïque, DHA : 22:6(n-3)), sont incorporés dans la vitellogénine transférée via le serum aux ovocytes. Le rôle premier des AGPI (n-3) est un rôle de formation des membranes cellulaires. On retrouve en particulier une richesse inhabituelle en 22:6(n-3) dans les membranes des cellules nerveuses, cet acide gras ayant un rôle critique au cours de la formation du cerveau et des yeux, qui constituent une large partie de la masse corporelle des embryons et des larves (Sargent, 1995). Watanabe *et al* (1989) ont aussi montré l'importance des acides gras polyinsaturés en (n-3) (AGPI n-3) et des acides gras eicosapentanoïque (EPA) et docosahexaénoïque (DHA). Ces acides gras amélioreraient la croissance, la survie et la vitalité des larves de daurade et diminueraient les taux de larves hydropiques. Les tests de viabilité effectués par Takeuchi *et al* (1991) ont placé le DHA comme l'acide gras le plus essentiel pour les larves chez la daurade (*Pagrus major*) en comparaison avec l'EPA et les AGPI (n-3). Il limiterait particulièrement les



effets des facteurs de stress des larves (Watanabe *et al*, 1995 et Sargent, 1995). La conversion de l'acide linoléique (18: 3n-3) en DHA (docosahexaénoïque) via l'EPA (eicosapentaénoïque), est limitée chez les poissons marins (Watanabe et Kiron, 1995). En effet, les poissons marins manquent des enzymes de désaturation et d'élongation nécessaires pour convertir les acides gras à 18 carbones en AGPI à 20 et 22 carbones (Harel *et al*, 1994). Il est donc nécessaire que ces acides gras soient inclus dans le régime alimentaire des larves ou qu'ils soient incorporés préalablement dans les ovules par l'intermédiaire de l'alimentation des géniteurs.

La forme  $\alpha$ -tocophérol est la forme la plus active de la vitamine E. En raison de l'étroite relation entre la vitamine E et le métabolisme lipidique une attention particulière a été portée sur l'effet de  $\alpha$ -tocophérol par Takeuchi *et al* en 1981. Ils indiquent que celui-ci améliorerait la flottabilité des oeufs et la proportion de larves normales chez la daurade japonaise. Il a donc été décidé d'intégrer de  $\alpha$ -tocophérol dans le complément nutritif.

L'importance des caroténoïdes est toujours débattue, mais il se peut qu'ils aient un effet sur le développement embryonnaire (Sandnes *et al*, 1984). En effet, les oeufs colorés de salmonidés (riches en caroténoïdes) ont une grande réputation chez les producteurs en tant qu'indicateur de qualité des oeufs et des larves (Craik, 1985). Ils ont d'ailleurs tendance à avoir une meilleure fertilité et survie (Robb *et al*, 1995). On prête aussi aux caroténoïdes un rôle de pro vitamine A (Craik, 1985), ainsi qu'un rôle sur la pigmentation. Les poissons sont incapables de synthétiser les caroténoïdes. Il est donc nécessaire de les fournir dans leur alimentation (Choubert, 1981, Torrissen, 1984 et Craik, 1985). Aucune expérimentation de nutrition avec des caroténoïdes n'a été réalisée chez le turbot jusqu'à présent. L'effet des caroténoïdes, quoiqu'il ne soit pas confirmé pour toutes les espèces étudiées, reste néanmoins probable. C'est pourquoi, il a été choisi d'en incorporer dans le prémix.

L'alimentation des turbots est effectuée à partir de sardines fraîches riches en AGPI n-3 (Rubio Rincon, 1986). Il n'est donc pas nécessaire de la compléter en ce nutriment. Par contre une complémentation en vitamine C et E ainsi qu'en DHA et caroténoïdes semble nécessaire.

Les critères de qualité des oeufs et des larves couramment utilisés sont d'après Watanabe *et al* (1984c,d) Luquet et Watanabe (1986), Kjorsvik *et al* (1990), Robin et Kaushik (1994) et Harel *et al* (1995): la production relative ou absolue d'oeuf, la taille ou le poids des oeufs, la flottabilité des oeufs, le taux d'éclosion et la survie larvaire. D'autres critères biochimiques de transfert aux ovules de substances le plus souvent liposolubles sont aussi étudiés (Luquet et Watanabe, 1986). Cependant, Caluwé *et al* (1995) indiquent qu'il existe peu de critères fiables pour détecter cette qualité.

Le but de l'expérimentation présente est de déterminer si un complément (en huile docosahexaénoïque ou DHA, vitamine C, vitamine E et canthaxanthine) du régime alimentaire des géniteurs de turbot, *Scophthalmus maximus*, a une influence sur la productivité des femelles et la qualité des oeufs et des larves. Les critères de qualité retenus sont : la constitution biochimique et la taille des oeufs, leur fertilité, la qualité du développement embryonnaire dans ces premiers stades, l'aptitude à éclore, la constitution biochimique des larves et leur résistance au jeun. Les tests d'élevages larvaires prévus n'ont pu être réalisés.

## I. Matériels et méthodes :

### I.1. Matériel biologique :

Les géniteurs proviennent de trois lots différents. Ces trois lots étaient destinés à une expérimentation qui n'a pu avoir lieu et avaient été préalablement marqués, pesés et répartis dans deux bassins le 12 décembre 1994. Malgré la répartition homogène réalisée, les deux bassins ne se sont pas alimentés de façon analogue pendant l'hiver. Après une nouvelle pesée, les géniteurs ont été répartis en quatre bassins homogènes, en tenant compte, à la fois, des origines différentes, de la répartition préalable et des poids individuels différents. La répartition a été effectuée de manière à avoir, dans chaque bassin, un nombre identique de poissons par origine, par sexe, et au mieux, par catégorie de poids de 1kg (cf. annexes 1 et 2). Malheureusement, deux erreurs de répartition, ainsi qu'une erreur de



détermination de sexe ont été effectuées, n'altérant cependant que peu l'homogénéité des bassins (cf tableau I).

Tableau I : Répartition en nombre et biomasse de géniteurs par sexe et par bassin.

Bassin	Nombre de mâles	Biomasse mâles (kg)	Nombre femelles	Biomasse femelles (kg)	Biomasse totale (kg)
2*	9	34,7	7	32,2	66,9
4**	7	25,9	10	46,9	72,9
5	8	28,0	8	42,5	70,5
7***	7	29,9	8	42,0	71,9

\* : une femelle en moins placée dans le bassin 4 : erreur de répartition.

\*\* : un mâle s'est avéré être une femelle : erreur de détermination de sexe.

\*\*\* : un mâle en moins placé dans le bassin 2 : erreur de répartition.

Trois traitements au dichlorvos (1ml/m<sup>3</sup> pendant 1h) ont été réalisés sur tous les bassins avant la période de ponte afin d'éliminer les copépodes ou pous de mer, *Lepeophtheirus sp.* (crustacés ectoparasites) ; ceci pour éviter d'éventuels facteurs de stress liés aux irritations (Fauvel *et al.*, 1993).

## I.2. Installations expérimentales et matériels :

### I.2.1. Unités d'élevage :

Les géniteurs ont été répartis dans quatre bassins (n°2, 4, 5 et 7) circulaires de 14 m<sup>3</sup> (4,5 m $\varnothing$  x 1.2 m h) strictement identiques (cf. annexe 3). La hauteur d'eau est de 1m et des gravillons sont disposés sur le fond des bassins pour éviter que les géniteurs se blessent au contact de la bâche plastique de fond.

Les bassins sont situés à l'extérieur à proximité les uns des autres et subissent la photopériode naturelle.

La température est contrôlée journalièrement et régulée par un mélange d'eau de mer de température naturelle et d'eau de mer refroidie. Un taux de renouvellement en eau de mer de 12 % par heure (28 l/mn) est assuré. La température des bassins a été régulée à 13.3 °C +/- 0,8 °C (s: écart type) pendant la période de ponte (cf. annexe 4), température de reproduction optimale (Normant, communication personnelle). Les variations de température sont liées directement à celles de l'eau de mer ambiante.

La saturation en oxygène est assurée par un bullage d'air constant.

La salinité n'est pas contrôlée et suit les fluctuations de la rade de Brest. Soit une variation de 35.5 à 36.0 ‰ sur le cycle annuel (Gaumet, 1994).

### I.2.2. Unités d'incubation :

Deux types d'incubateurs ont été mis à disposition pour l'expérimentation. Quatre incubateurs de production de 40 l et huit incubateurs d'expérimentation de 1 l.

Les incubateurs sont de forme cylindroconique et possèdent une entrée d'eau et d'air située à la base du cône, assurant un brassage constant dans l'enceinte d'incubation (cf annexe 5). La sortie d'eau est constituée d'une crépine de 0.7 mm de maillage, située au dessus du bullage. Un bullage léger assure un brassage constant de l'eau et empêche les oeufs et larves de se coller à la crépine. Le taux de renouvellement des incubateurs de production a été fixé à 178 % / h  $\pm$  7 %, celui des incubateurs



d'expérimentation, à  $295 \% / h \pm 4 \%$ . L'eau de mer de température régulée à  $12,8^{\circ}\text{C}$  aboutit dans une cuve à niveau constant avant d'être dirigée, par gravité, vers les incubateurs (cf. annexe 5).

Pendant le parcours de l'eau de mer, de la cuve à niveau constant aux incubateurs, un léger réchauffement s'effectue. Ce réchauffement est faible pour les incubateurs de production en raison de la section importante des tuyaux d'alimentation ( $14 \text{ mm}\varnothing$ ). Afin de minimiser le réchauffement dans les incubateurs d'expérimentation, très lié à la température ambiante de la pièce, les capillaires d'alimentation ( $4.5 \text{ mm}\varnothing$ ) en eau ont été plongés dans un bac de réception du trop plein de la cuve à niveau constant après la première semaine d'expérimentation.

L'influence de la température sur la durée d'incubation (temps entre la fécondation et 50 % d'éclosion) est communément admise (cf. annexe 6). La température moyenne d'incubation a donc été stabilisée à  $14,0^{\circ}\text{C} \pm 0,4^{\circ}\text{C}$  (s) dans les incubateurs d'expérimentation et  $13,6^{\circ}\text{C} \pm 0,6^{\circ}\text{C}$  (s) dans les incubateurs de production sur toute la durée de l'expérimentation.

L'influence de l'intensité lumineuse ne semble pas importante. Cependant les incubateurs ont été exposés en permanence à une lumière blanche de 400 lx, pour que les conditions soient reproductibles sur toute la durée d'expérimentation.

### ***1.2.3. Bassin de mise à jeûn des larves :***

Le bassin de mise à jeûn est une cuve à niveau constant de forme quadrangulaire ( $245 \text{ cm} \times 55 \text{ cm} \times 40 \text{ cm}$ ; 30 cm de hauteur d'eau), alimentée en eau de mer de température régulée à  $17,9^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$  (s). Un taux de renouvellement de  $200 \% / h$  est assuré ( $18 \text{ l}/\text{min}$ ).

Vingt quatre tamis quadrangulaires ( $10 \text{ cm} \times 10 \text{ cm} \times 20 \text{ cm}$ ; 12 cm de hauteur d'eau), sont suspendus, disposés par trois tout au long du bassin, afin d'y accueillir les larves (cf annexe 7). Pour éviter un choc thermique dû au passage des incubateurs à  $14^{\circ}\text{C}$  au bassin de jeun à  $17,9^{\circ}\text{C}$ , une montée en température progressive est réalisée par bain-marie des incubateurs dans un bassin situé en sortie du bassin de jeûn (cf. annexe 7). L'équilibre de température est atteint au bout de 2 heures (cf annexe 8).

### ***1.2.4. Matériel de prélèvement et de comptage :***

Le prélèvement des oeufs d'une ponte, dans le but de comptage ou de fécondation expérimentale, est réalisé à l'aide de pipettes à déplacement positif. Ceci permet d'éviter un prélèvement préférentiel du liquide ovarien obtenu par utilisation de pipettes classiques, type Eppendorff (Suquet *et al*, 1995a).

Les comptages d'ovules d'oeufs et de larves pour la détermination des taux de viabilité, de fécondation et d'éclosion, des vitesses de division et des durées d'incubation sont réalisés à la loupe binoculaire. Le matériel biologique est concentré à l'aide d'un tamis puis réparti dans des cuves quadrillées (cuve de Dolfuss) facilitant le comptage. Un compteur mécanique est utilisé pour les comptages.

### ***1.2.5. Matériel d'échantillonnages pour les analyses biochimiques:***

Une épuisette est utilisée pour la récupération des oeufs et larves dans les incubateurs. Des tubes Eppendorf de 0,5 ml et de 1 ml sont utilisés pour contenir les échantillons. Une balance de précision au  $\mu\text{g}$  est utilisée pour la pesée des échantillons. Une étuve et un dessiccateur permettent d'effectuer les poids secs.

## **1.3. Méthodes expérimentales:**

### ***1.3.1. Contraintes liées aux particularités des turbots :***

La ponte spontanée intervient rarement dans les conditions d'élevage actuelles. Le facteur susceptible d'inhiber la ponte serait l'état de stress chronique lié aux conditions de contention des géniteurs (Fauvel *et al*, 1993). Les pontes sont donc extraites par pression abdominale ou "stripping". Les fécondations sont donc réalisées artificiellement avec du sperme prélevé par pression abdominale.



S'il n'y a quasiment pas de problème pour obtenir du sperme de bonne qualité, la qualité des ovules décroît très rapidement après l'ovulation. D'après Mc Evoy (1984), les ovules surmaturent dès ovulation dans la cavité des ovaires ; un jour suffit pour passer de 97 % de fécondation à 0 %. Pour assurer le maximum d'oeufs viables, il est nécessaire de prélever la ponte dans les 10 heures après ovulation contrairement à d'autres espèces telle la truite arc-en-ciel, *Salmo gairdneri*, pour laquelle apparaît les premiers signes de surmaturation 10 jours après ovulation (Nomura *et al*, 1974). De plus, l'ovulation du turbot en captivité, *Scophthalmus maximus*, ne semble pas influencée par le rythme nyctéméral contrairement au turbot de la baie du Peconic à New York, *Scophthalmus aquosus* (Ferraro, 1980) et d'autres espèces de poissons plats (plie, *Pleuronectes platessa* et Sole, *Limanda limanda* ; Mc Evoy, 1984). De plus, il est actuellement impossible d'induire l'ovulation ni même de la cerner. De plus les ovulations sont multiples.

Les moyens mis en oeuvre ne permettent pas d'utiliser un grand nombre de reproducteurs à l'inverse de ce qu'il est généralement fait pour les poissons ronds chez qui les pontes peuvent être induites. En effet, la récupération des pontes par massage abdominal chez le turbot est contraignante. Les pontes récupérées sont donc des pontes individuelles. Il a été montré qu'il existe un effet du rang de la ponte sur la qualité des ovules, notamment sur la taille (Mc Evoy et Mc Evoy, 1991). De même, un effet de la qualité des gamètes des mâles pourrait intervenir.

La prise en considération de tous ces facteurs ainsi que du facteur nutritionnel nécessiterait un nombre de données très important. Il a donc été choisi de globaliser l'ensemble de ces variables à l'échelle du bassin. L'analyse des résultats portera donc sur les résultats des bassins. Un réplicat par niveau de facteur nutritionnel est réalisé (cf. § suivant).

### ***1.3.2. Rationnement et distribution de l'alimentation des géniteurs :***

Les géniteurs sont nourris, *ad libitum*, deux fois par semaine (mardi et jeudi). Chaque jour d'alimentation, les bassins reçoivent un poids ainsi qu'un nombre de proies identiques. Le jour suivant l'alimentation, les sardines non mangées sont récupérées et pesées afin de déterminer la quantité d'aliment ingérée. La ration distribuée est ajustée en fonction de l'évolution des besoins alimentaires des poissons.

Le régime alimentaire de base des géniteurs (tableau II) est essentiellement composé de poisson frais, en majorité de sardines, mais aussi de lançons. Le poisson frais est livré les jours d'alimentation. Du poisson congelé est distribué lorsque les livraisons font défaut.

Tableau II : Nature de l'alimentation de base distribuée pendant l'expérimentation.

Conditionnement :

Frais	Congelé
83,9 %	16,1 %

Aliment :

Sardines	Lançons
93 %	7 %

Les géniteurs des bassins 2, 4, 5 et 7 suivent ce régime alimentaire depuis leur répartition initiale du 12 décembre 1994.

Watanabe (1989) indique que l'effet sur la reproduction des régimes donnés juste avant la période de ponte est profond. L'alimentation expérimentale a commencé un mois et demi avant la saison de reproduction. Deux réplicats ont été mis en place par régime alimentaire. Un complément nutritif, appelé "prémix" a été donné aux géniteurs des bassins 2 et 7 et les géniteurs des bassins 4 et 5 ont suivi l'alimentation habituelle.

Les vitamines essentielles E et C ont été incorporées au complément nutritif. La vitamine C a été incorporée sous forme de palmitate d'ascorbyl, nettement plus stable que le L-ascorbate (Brandt, 1985).



L'estérification du palmitate sur le groupement hydroxyle situé en position 6 ou 5 de la vitamine C laisse les positions 2 et 3 libres. Ce qui confère une activité antioxydante au palmitate d'ascorbyl analogue à celle de l'acide ascorbique et accroît sa solubilité dans les lipides (Sandnes, 1991).

Le prémix est composé de 79,8 % d'acide gras essentiel DHA (acide docosahexaénoic 22:6n-3), 9,6 % de palmitate d'ascorbyl, 2,6 % de tocophérolacétate et 8 % de Cantaxanthine. Soit, 1400 ppm d'acide ascorbique (vitamine C), 800 ppm de vitamine E et 350 ppm de cantaxanthine (caroténoïde). Les vitamines C et E ainsi que les caroténoïdes sont liposolubles et se diluent dans le DHA.

Le prémix liquide est inséré dans les sardines par l'intermédiaire de gélules, à concurrence de 37,6 g/kg de poids sec de proies. Soit 7,5 g/kg de sardines (poids sec ≈ 20 %). Le complément nutritif est conservé au réfrigérateur à 5 °C, et les gélules sont confectionnées les jours d'alimentation. Le prémix est agité pour homogénéiser le mélange des constituants avant toute utilisation. Une conversion poids volume (1 g/ml) a été effectuée afin de réaliser une table indiquant le volume de prémix nécessaire en fonction du poids moyen des proies (cf. annexe 9).

### ***1.3.3. Détermination de l'état de maturation des femelles :***

Un suivi régulier de la maturation des femelles est réalisé. En fonction des caractéristiques de la gonade et de la papille génitale des femelles, un indice de maturation est attribué (tableau III). Il permet de suivre la maturation des femelles et de déterminer l'approche de la première ovulation.

Tableau III : Indice de maturation des femelles turbot en fonction de caractéristiques des gonades et de l'orifice génital.

Indice de maturation	Caractéristiques de la gonade	Caractéristiques de la papille génitale
0	Gonade impalpable.	Papille blanche, non enflée.
1	Gonade palpable, non enflée.	Papille blanche, non enflée.
2	Gonade enflée, dure.	Papille rosée, légèrement enflée.
3	Gonade enflée molle.	Papille rougie, enflée.
4	Femelle ovulante.	

Dès qu'une femelle atteint l'indice 2, elle est suivie régulièrement (lundi, mercredi, jeudi et vendredi).

### ***1.3.4. Prélèvement des ovules et du sperme :***

#### ***1.3.4.1. Récupération des géniteurs dans les bassins d'élevage :***

Le bullage d'oxygénation des bassins d'élevage est coupé, facilitant l'observation des marques des géniteurs. Les poissons sont extraits du bassin à l'aide d'une épuisette. Ils sont ensuite posés sur une paillasse en mousse ; une serpillière est posée sur les yeux de l'animal afin qu'il reste calme. Le turbot supporte facilement l'exondation et l'extraction des gamètes est réalisée en 1 à 3 mn.

#### ***1.3.4.3. Prélèvement des ovules :***

Le stripping, n'est pas réalisé pendant la fin de semaine. Par conséquent, les pontes de début de semaine sont généralement surmatures. Il a donc été décidé de n'échantillonner que les pontes du milieu



de semaine (mercredi et jeudi) et de "stripper" les femelles deux jours (lundi) avant les prélèvements pour l'expérimentation pour éviter la contamination des pontes par les pontes précédentes.

La pression abdominale exercée sur les femelles turbot est localisée au niveau de la gonade. Un massage répété de l'arrière vers l'avant, avec la paume des mains, permet l'extraction de la ponte. Une première et légère pression abdominale est effectuée afin de déterminer si la femelle a ovulé. Lorsqu'une ovulation a eu lieu, l'orifice génital de la femelle est nettoyé, à l'aide de papier cellulosique. La ponte est récupérée dans une bassine d'un litre en évitant toute intrusion de fécès, d'urine ou d'eau de mer. Si nécessaire, l'orifice génital est renouveau pendant l'extraction.

Le volume des pontes est ensuite estimé à l'aide d'une éprouvette graduée. Seules les pontes d'un volume supérieur à 20 ml sont utilisées. Les pontes de volumes inférieurs sont généralement des résidus des ovulations du jour précédent.

#### I.3.4.4. Prélèvement du sperme :

Le prélèvement du sperme des mâles est réalisé par pression localisée au niveau des testicules, entre le pouce et l'index, de l'arrière vers l'avant. Lorsque le mâle est fluant, le sperme est récupéré, au fur et à mesure de sa libération, à l'aide d'une seringue sans aiguille de 0,5 ml, en évitant toute intrusion de fécès, d'urine ou d'eau de mer. L'orifice génital est préalablement nettoyé avec du papier cellulosique. La fécondation est réalisée dans les trois minutes après le prélèvement du sperme, délai à partir duquel une diminution de la fertilité a été constatée (Suquet et Gaignon, communication personnelle).

Habituellement, des précautions sont prises chez les poissons "strippés", en utilisant le sperme de plusieurs mâles pour féconder (Mc Evoy, 1989). Dans la mesure où la qualité du sperme semble décroître rapidement chez le turbot (Suquet et Gaignon, communications personnelles), les fécondations sont effectuées avec le sperme d'un seul mâle. Le mâle choisi est tiré au sort parmi les mâles provenant du même bassin d'origine que la femelle dont est issue la ponte. Une expérimentation sur la qualité des gamètes mâles en fonction de l'alimentation a été réalisée (cf. annexe 10). Les résultats de cette expérimentation indiquent qu'il n'existe pas de différence de fertilité entre les mâles et justifient rétrospectivement, que le facteur mâle n'aît pas été pris en considération.

#### I.3.5. Sélection des pontes viables et détermination de la productivité individuelle :

La qualité des pontes est fonction du temps de rétention des ovules dans les ovaires (Mc Evoy, 1984). Après le prélèvement de la ponte, un taux de viabilité des ovules est donc réalisé afin de déterminer la qualité des ovules. Un comptage, basé sur des critères de morphologie et de couleur (tableau IV), du nombre d'ovules viables et non viables est effectué. Les oeufs surmatures deviennent plus gros, sont déformés, troubles ou brunis (Mc Evoy, 1984). Les oeufs activés par l'eau de mer (non fertiles), présentent un espace périvitellin marqué, dû à l'activation des granules corticoïdes qui s'y vident (Barton, 1980). Le taux de viabilité est effectué par calcul du pourcentage d'ovules viables d'un prélèvement de 250 µl. Le pourcentage d'ovules viables est estimé à partir d'une observation visuelle à la loupe binoculaire au grossissement 40.

Tableau IV : Critères de viabilité des ovules.

	Ovules viables	Ovules non viables
Couleur	Transparent.	Brunis ou troubles.
Morphologie	Sphériques. Pas d'espace périvitellin.	Plus gros. Ovoïdes ou informes. Espace périvitellin marqué.



L'évaluation du taux de viabilité reste subjectif (Fauvel *et al*, 1993). En effet, Il n'existe pas de corrélation entre le taux de viabilité des pontes et le taux de fécondation (cf. annexe 11). Cependant, les pontes de viabilité inférieure à 80% présentent des taux d'éclosion inférieurs à 25% (Fauvel *et al*, 1992). Pour diminuer l'effet de la surmaturation des pontes sur les résultats d'éclosion, les pontes de viabilités inférieures à 80% ont donc été éliminées (cf. figure 1).

Le comptage effectué permet, par la même occasion, de déterminer le nombre d'ovules par ml de ponte et le nombre total par ponte.

Un calcul du nombre d'ovules produits par femelle sur toute la saison de ponte est effectué en fin d'expérimentation. Rapporté au poids de chaque femelle, il permet d'indiquer un paramètre de productivité par kg de femelle.

### ***1.3.6. Tailles des ovules et des globules lipidiques :***

La taille des ovules est un critère couramment étudié par de nombreux auteurs (revue de Kjorsvik *et al*, 1990). Ainsi, Mc Evoy et Mc Evoy (1991) ont montré que la taille des oeufs d'une femelle décroît pendant la saison de ponte. La taille des ovules est liée de manière évidente à la quantité de réserves emmagasinées lors de l'ovogénèse. Harrel (1984) indique, dans ses travaux sur la truite arc-en-ciel, que les oeufs provenant de les bassins témoins non alimentés en canthaxanthine, présentent des tailles légèrement inférieures à celles des bassins qui le sont, mais qu'ils ont produit plus d'oeufs par femelle que trois de ses bassins traités.

C'est pourquoi, dans le but de révéler une éventuelle corrélation entre le régime alimentaire des géniteurs et la taille des ovules et du globule lipidique, trois photos d'environ 20 ovules chacune sont réalisées pour les pontes retenues pour l'expérimentation (cf. figure 1). 200 à 250 oeufs sont disposés sur une lame ; deux à trois gouttes d'eau de mer y sont ajoutés afin de décoller les oeufs les uns des autres. Pour éviter d'éventuels problèmes liés aux variations de salinité de l'eau de mer, un flacon d'eau de mer est prélevé en début d'expérimentation et est utilisé tout au long de l'expérimentation. Le flacon est conservé au réfrigérateur. Les photos sont réalisées à l'aide d'un appareil photographique connecté à une loupe binoculaire. Les mesures de diamètres d'ovules et de globules lipidiques ont été réalisées en fin d'expérimentation. Les mesures sont réalisées à l'aide d'une règle de précision (0.5 mm) directement sur le papier photographique (format 10 x 15 cm) pour les photos développées sur papier, ou sur projection pour les diapositives (format 15 x 22). Trois photos de la règle de précision ont permis de déterminer le grossissement des photographies développées sur papier. A 0.5 cm de la règle photographiée, correspond  $11.0 \text{ cm} \pm 0.0 \text{ cm}$  (se: erreur standard) obtenu à partir de 10 mesures. Le grossissement pour les photographies papier est donc de 22 fois, ce qui donne, par conversion en fonction du format de la projection des diapositives, un grossissement de 33 fois pour les diapositives.

### ***1.3.7. Méthodes de fécondation :***

Deux types de fécondation sont réalisés : une fécondation de production destinée aux échantillonnages pour les analyses biochimiques et quatre fécondations expérimentales. La première des quatre fécondations expérimentales est destinée à l'incubation en incubateurs d'expérimentation pour déterminer les différents critères zootechniques (taux d'éclosion, durée d'incubation, durée de survie à jeun). Les trois autres fécondations (triplicats) sont destinées à la détermination du taux de fécondation, de la vitesse de division cellulaire et du taux de divisions cellulaires normales (cf. figure 1).

#### ***1.3.7.1. Fécondation de production :***

100 ml de pontes sont fécondées avec 0,5 ml de sperme dilués dans 50 ml d'eau de mer. Après trois minutes, le volume est complété en eau de mer à hauteur de 1 l. Les oeufs sont ensuite délicatement versés dans l'incubateur (cf. figure 1).

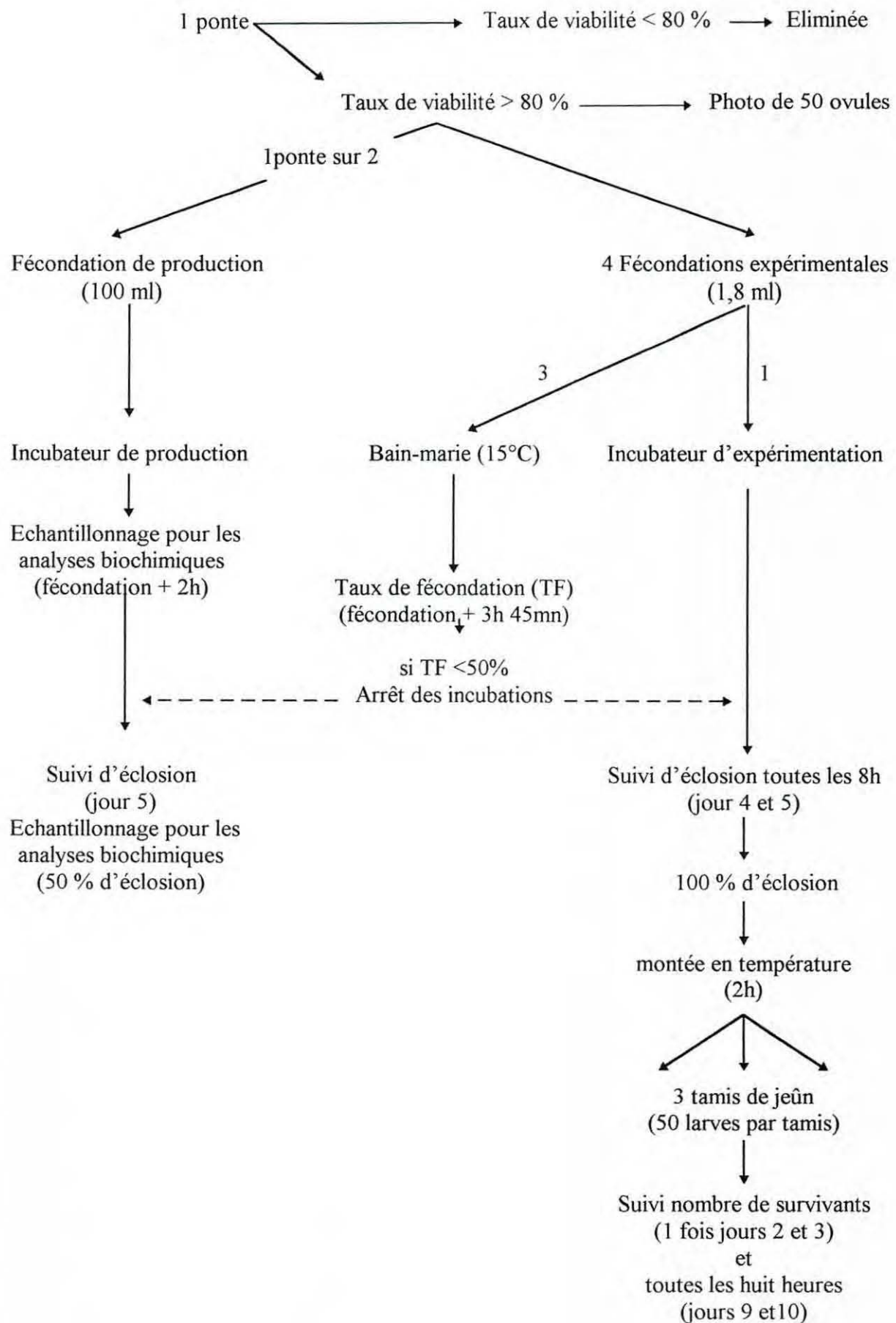


Figure 1 : Schéma du protocole d'expérimentation d'une ponte.



### I.3.7.2. Fécondation expérimentale :

La fécondation expérimentale est réalisée dans des "piluliers" à fond plat de 30ml (boîte du type des boîtes contenant les pellicules photo).

Pour une concentration en nombre de spermatozoïdes / ovule faible, le taux de fécondation d'une ponte s'accroît avec la concentration. Au delà d'une concentration de 6000 spermatozoïdes / ovule, le taux de fécondation devient constant. La concentration en nombre de spermatozoïdes / ovule peut donc être limitée dans le but d'accentuer d'éventuel effet mâle (Suquet *et al*, 1995b). Mais il a été décidé de se placer en conditions non limitantes afin d'éviter que des ovules ne soient pas fécondés par manque de sperme. Un volume d'1,8 ml d'ovule (~ 2000 ovules) est fécondé avec 0.5 $\mu$ l de sperme (~ 12.10<sup>6</sup> spermatozoïdes) et 0.9 ml d'eau de mer et 30 ml d'eau de mer sont rajoutés après trois minutes de contact entre les gamètes (Suquet *et al*, 1995b).

### I.3.8. Détermination du taux de fécondation, de la vitesse de division cellulaire et du taux de division cellulaire «normale» :

Le taux de fécondation ou fertilisation est un paramètre utile pour détecter une mauvaise qualité d'oeufs (Kjorsvik *et al*, 1990). Cependant, il n'est pas toujours corrélé à une bonne survie et un bon développement dans les stades embryonnaires chez beaucoup d'espèces, comme la carpe, *Cyprinus carpio*, la plie japonaise, *Limanda yokohama*, la morue, *Gadus morhua* et le turbot, *Scophthalmus maximus* (Kjorsvik *et al*, 1990).

Les premières cellules d'un embryon sont indifférenciées. Elles forment la base de la différenciation embryonnaire. Une déviation dans les cellules influencera le développement futur de l'embryon de manière plus importante que si cela s'effectue plus tard au cours du développement (Kjorsvik *et al*, 1990). Une étude récente présentée oralement au "fish and larvae symposium 1995" sur les caractéristiques morphologiques de division des cellules embryonnaires (blastomères) à différents stades de développement semble montrer une corrélation avec la viabilité des oeufs chez l'halibut, *Hippoglossus hippoglossus* (Shields *et al*, 1995). La symétrie des premiers blastomères semble aussi être un indicateur rapide et efficace de la viabilité des oeufs de turbot (Mc Evoy, 1984, Devauchelle *et al*, 1988).

#### I.3.8.1. Détermination du taux de fécondation :

Le taux de fécondation est déterminé entre les stades 4 et 8 cellules, par dénombrement du nombre d'oeufs fécondés (4 et 8 cellules) et non fécondés (morts, non fécondés et activés) à la loupe binoculaire au grossissement 40. Un comptage d'environ 200 oeufs est effectué par pilulier (Suquet *et al*, 1995b).

La division cellulaire atteint le stade 4 après 4 heures à 13°C et 3 heures à 17°C (Suquet *et al*, 1995b). Afin de standardiser la température sur toute la durée de l'expérimentation, les piluliers, trois réplicats par fécondation, sont placés en incubation au bain-marie à 15°C. Les comptages sont effectués 3 heures et 45 minutes après fécondation. Le développement des oeufs est bloqué, pendant le comptage, par refroidissement des piluliers dans un bain-marie à 1°C (Suquet *et al*, 1995a).

Malgré l'élimination des pontes de mauvaise viabilité, les fécondations ne sont pas toujours satisfaisantes (taux de fécondation inférieur à 50 %). Ces pontes sont supprimées des incubateurs, une fois que le taux de fécondation ait été déterminé.

Parallèlement à la détermination du taux de fécondation, les critères de qualité de division et de vitesse de division cellulaire sont estimés.

#### I.3.8.2. Qualité des divisions et vitesse de division cellulaire :

La qualité des divisions cellulaires est estimée par le pourcentage de bonnes divisions des oeufs au stade 4 et au stade 8 cellules, 3 heures et 45 minutes après la fécondation. Les oeufs de bonne qualité ont un clivage symétrique des blastomères, alors que les oeufs de mauvaise qualité ont des clivages très irréguliers (Kjorsvik *et al*, 1990). Il est néanmoins difficile d'établir un critère de qualité de division de



référence, en deçà duquel, on estime que la division est mauvaise. Les divisions cellulaires ont donc été définies comme "normales" lorsqu'elles répondent strictement aux caractères de parfaite symétrie, de non écartement et de tailles identiques des cellules embryonnaires. Les oeufs qui répondent à ces critères très sélectifs se sont avérés facilement repérables.

Le critère de vitesse de division cellulaire n'apparaît pas dans les critères de qualité couramment utilisés (revue de Kjorsvik *et al*, 1990). Néanmoins il a été décidé de s'y intéresser. Un comptage détaillé du nombre d'oeufs au stade 4 et au stade 8, ainsi qu'une distinction entre les bonnes et les mauvaises divisions cellulaires, est réalisé.

Il avait été choisi de caractériser la vitesse de division par le rapport du nombre d'oeufs au stade 8 sur le nombre d'oeufs au stade 4. Il s'est avéré que ce paramètre ne pouvait pas intégrer les cas pour lesquels le nombre d'oeufs au stade 4 est nul. Un autre paramètre a donc été défini ; il s'agit simplement du taux d'oeufs au stade 8 par rapport aux oeufs fécondés.

### ***1.3.9. Prélèvements pour les analyses biochimiques :***

Il existe une corrélation entre l'alimentation des géniteurs et la constitution biochimique des oeufs pour de nombreuses espèces. Des prélèvements destinés à l'analyse biochimique des constituants des oeufs et des larves ont donc été réalisés deux heures après la fécondation et à 50% d'éclosion des larves survivantes (cf. figure 1) afin d'établir ce résultat chez le turbot.

Les oeufs et larves échantillonnés proviennent des incubateurs de production. Avant prélèvement, l'alimentation en air et en eau est coupée afin de n'échantillonner que les oeufs et larves surnageant (vivants). Les oeufs et larves sont prélevés de l'incubateur à l'aide d'une épuisette. Ils sont ensuite rincés à l'eau, puis à l'eau distillée, et séchés dans du papier cellulosique.

Les analyses sont réalisées pour déterminer la composition biochimique des oeufs et larves en vitamine C, vitamine E, acides aminés, acides gras hautement polyinsaturés ou HUFA (Highly Unsaturated Fatty Acids), NADPH (nicotinamine adénine dinucléotide phosphate) et hormones thyroïdiennes T3 / T4 (Triiodothyronine et Thyroxine). Les échantillons pour les analyses de composition biochimique en vitamine C et acides aminés sont pesés et conservés dans l'azote liquide. Les autres échantillons sont pesés et conservés au congélateur à -25 °C.

Le poids sec des échantillons est déterminé par séchage d'oeufs et de larves, pesées préalablement, pendant 24 heures dans une étuve à 60°C. Les oeufs et larves sont ensuite repesés après stabilisation dans un dessiccateur pendant 20 minutes.

### ***1.3.10. Gestion et détermination des paramètres d'incubation :***

Dans la mesure où on dispose de quatre incubateurs de production et de huit incubateurs d'expérimentation, il a été choisi de mettre en incubation 2 pontes par bassin et par semaine en incubation dans les incubateurs d'expérimentation, et une ponte (de volume au moins égal à 100 ml) par bassin et par semaine dans les incubateurs de production. A chacune des pontes en incubateurs de production est associée la même ponte en incubateurs d'expérimentation, afin de pouvoir réaliser des analyses sur d'éventuelles corrélations entre la constitution biochimique des oeufs et larves, et les différents paramètres zootechniques (cf. figure 1).

#### ***1.3.10.1. Contrôles des paramètres sanitaires et d'incubation:***

Aucun traitement sanitaire n'est effectué pendant l'incubation. Une purge partielle des incubateurs est effectuée quotidiennement, afin de récupérer les oeufs morts. Pour cela, l'alimentation en eau et en air est coupée et les oeufs morts décantent dans le fond de l'incubateur. Une purge de 1 l et de 100 ml est effectuée respectivement pour les incubateurs de production et les incubateurs d'expérimentation.

Un nettoyage, ainsi qu'une désinfection à l'eau de javel sont réalisés entre chaque semaine d'expérimentation.



Les débits de chaque incubateur sont vérifiés une fois par jour et corrigés si nécessaires. trois relevés de température d'incubation sont réalisés chaque jour, à 8 heures, 12 heures et 18 heures.

### I.3.10.2. Détermination du taux d'éclosion :

Les purges sont effectués du jour 1, après fécondation, au jour d'éclosion, tous les matins (sauf samedi). Une purge supplémentaire est réalisée 2 heures après la fécondation pour les incubateurs de production lors de l'échantillonnage pour les analyses biochimiques. Après chaque purge, les oeufs morts des incubateurs d'expérimentation sont comptés à la loupe binoculaire au grossissement 16. Un comptage du nombre de larve et d'oeufs morts est réalisé à la fin de l'éclosion après prélèvement des larves nécessaires au test de survie à jeûn. Le taux d'éclosion est alors déterminé par le pourcentage de larves écloses.

Pour les incubateurs de production, l'importance des prélèvements effectués pour les analyses biochimiques empêche la détermination du taux d'éclosion, mais les volumes d'oeufs morts journaliers sont déterminés à l'aide d'une éprouvette graduée.

### I.3.10.3. Détermination de la durée d'incubation:

La durée d'incubation est estimée par le temps écoulé (en heure et heure degré) entre la fécondation et l'éclosion de 50% des oeufs survivants . Les éclosions s'effectuent dans la nuit du jour 4 au jour 5 d'incubation pour les incubateurs d'expérimentation à 14,0 °C, et dans l'après midi du jour 5 pour les incubateurs de production à 13,6 °C.

L'éclosion s'étale sur 16 à 20 heures selon la température d'incubation, 18 à 13 °C respectivement (Chauchadis, 1993). Un taux d'éclosion est donc estimé toutes les 8 heures pour les incubateurs d'expérimentation (cf. figure 1), et l'heure de 50 % d'éclosion est déterminée par extrapolation linéaire entre les heures des taux d'éclosion situés de part et d'autre de 50 %. Une confirmation, à posteriori, de la méthode a été effectuée (cf. annexe 12). Pour les incubateurs de production, l'éclosion est suivie le jour 5, afin de pouvoir réaliser l'échantillonnage pour les analyses biochimiques au plus près de 50 % d'éclosion (cf. figure 1).

Un calcul du temps d'éclosion en heure degré est effectué. Le temps en heure degré pour atteindre 50 % d'éclosion est estimé par calcul de l'aire comprise entre la courbe de température et les axes (cf. figure 2). A chaque heure d'incubation est affectée la température estimée par régression linéaire entre les deux relevés de température précédent et suivant. La température moyenne d'incubation est calculée à partir de ces températures horaires.

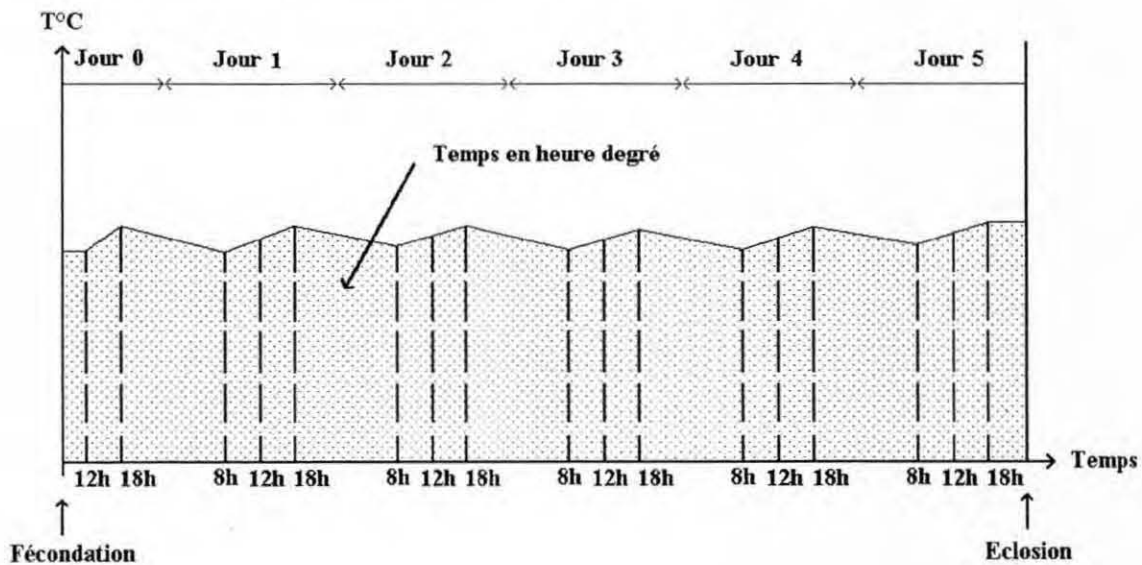


Figure 2 : Calcul de la durée d'incubation en heure degré.



### I.3.11. Gestion et détermination des paramètres de mise à jeûn :

Il est connu que la taille des oeufs et celle des larves sont corrélées. Les larves les plus grandes ont tendance à survivre plus longtemps à jeun que celles issue de plus petits oeufs, ce qui est sans doute un avantage pour les larves sauvages (Kjorsvik *et al*, 1990; Springate et Bromage, 1985). Barton (1981) indique que les larves les plus grosses ont une plus grande marge de manoeuvre pour le passage à l'alimentation exogène. Mais la plus grande différence entre les grandes et petites larves réside essentiellement dans la capacité de survie à des conditions d'élevage défavorables (Devauchelle et Cladas, 1982). Par contre, il a été montré que la taille des oeufs n'a pas d'implications directes dans la qualité globale des oeufs, en terme de survie larvaire et de croissance chez la truite arc-en-ciel, *Salmo gairdneri*, le saumon atlantique, *Salmo salar*, le poisson chat, *Claria macrocephalus* et la carpe, *cyprinus carpio* (Kjorsvik *et al*, 1990).

Outre la taille des réserves de la vésicule vitelline, la qualité de celles-ci peut aussi améliorer la survie à jeun. Par conséquent, afin de déterminer si le régime alimentaire des géniteurs pouvait influencer, par l'intermédiaire des réserves vitellines des larves, la survie à jeun, des tests de jeûne ont été effectués sur les larves.

#### I.3.11.1. Contrôle des paramètres du bassin de jeûne :

Deux principaux paramètres physiques influent sur la survie des larves à jeun : la température et la lumière.

Strüssmann et Takashima (1989) ont montré que le PNR<sup>1</sup> est atteint plus vite si les températures sont plus élevées chez la daurade japonaise. De même, Fukuhara (1990) a montré chez 4 espèces de poissons que la vésicule vitelline est d'autant plus vite résorbée que la température est élevée. Chez le turbot, Quantz (1985) montre que la vitesse de diminution du poids de la vésicule vitelline est corrélée à la température et Rubio Rincon (1986) montre l'influence de la température sur les réserves lipidiques.

Noguerra (1994) a montré une influence de la lumière sur la survie à jeun des larves de turbot. Le temps de survie est plus long de 16 heures pour les larves dans le noir complet que pour les larves en jour continu. De même, Noguerra (1994) montre une relation entre la durée de survie des larves et le temps d'illumination journalier. Les larves subissant une illumination complète ont une mortalité finale plus précoce que les larves exposées à 12 flashes de lumière d'une heure espacés d'une heure d'obscurité complète.

Pour se situer dans des conditions discriminantes, les facteurs de forte température et d'illumination permanente ont été cumulés. Le bassin de mise à jeûn a été maintenu à une température constante de  $17.9\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.2\text{ }^{\circ}\text{C}$ , contrôlée trois fois par jour (8, 12 et 18 heures) et la salle de jeûn est restée constamment illuminée.

#### I.3.11.2. Répartition des larves dans les tamis :

Les larves sont réparties dans les tamis une fois les 100 % d'éclosion atteints, et la montée en température terminée. Les larves sont comptées lors de leur passage au niveau du bec verseur d'un bécher lorsque son contenu (eau de mer et larves) est déversé lentement dans un autre bécher contenant de l'eau de mer. Ce dernier bécher est délicatement versé dans le tamis.

Le bassin de mise à jeûn étant très allongé, il a été défini trois blocs, perpendiculaires à la circulation d'eau (cf annexe 13), pour éviter tout problème de dérive des résultats en fonction de la distance par rapport à l'entrée d'eau. Les larves sont disposées par tamis, à raison de trois réplicats par éclosion. Le choix des tamis (un par bloc) est effectué par tirage au sort.

#### I.3.11.3. Détermination de la durée de survie à jeun :

Lors d'un test préliminaire, 200 larves avaient été réparties par tamis. Un comptage des larves mortes tombées sur la maille du tamis avait été effectué toutes les huit heures. Il a permis de mettre en

<sup>1</sup> Point de Non Retour, exprimé par le délai maximum de première alimentation qui autorise la survie d'au moins 50 % des larves.



évidence que les larves mortes se lysaient. En effet, le nombre de larves mortes en fin de test était inférieur au nombre initial. Il a donc été décidé de réduire le nombre de larves par tamis à cinquante, et d'effectuer un comptage des larves survivantes toutes les 8 heures entre le quatrième et le cinquième jour après éclosion (jours de mortalités finales, cf. figure 1). Le temps de 50 % de mortalité est estimé par régression linéaire entre les temps des taux de mortalité encadrant 50 %. Les travaux de Noguerra (1994) sur la survie larvaire du turbot montrent qu'on peut effectivement assimiler la courbe de mortalité à une droite autour de cette valeur.

Un comptage le deuxième et le troisième jour de mise à jeûn est réalisé, afin de déterminer les mortalités initiales dûes aux manipulations des larves lors du passage des incubateurs au bassin de jeûn. Le temps de 50% de mortalité des larves est déterminé en fonction du nombre de larves ayant survécu aux mortalités initiales.

Le mode de calcul du temps en heure degré pour atteindre 50 % de mortalité et de la température moyenne de jeûn est analogue à celui effectué pour la détermination de la durée et de la température d'incubation. Ce calcul prend en compte le temps et la température (y compris la montée en température) avant la répartition des larves dans les tamis.

### 1.3.12. Synchronisation des plans expérimentaux hebdomadaires :

Les pontes sont incubées, chaque mercredi et jeudi, pendant toute la durée de la saison de ponte (11 semaines). Les éclosions ont lieu les jours 5 et 6 (lundi et mardi) et les mortalités finales à jeun les jours 10 et 11 (samedi et dimanche) ce qui permet de libérer les bassins d'une semaine à l'autre (cf. figure 3).

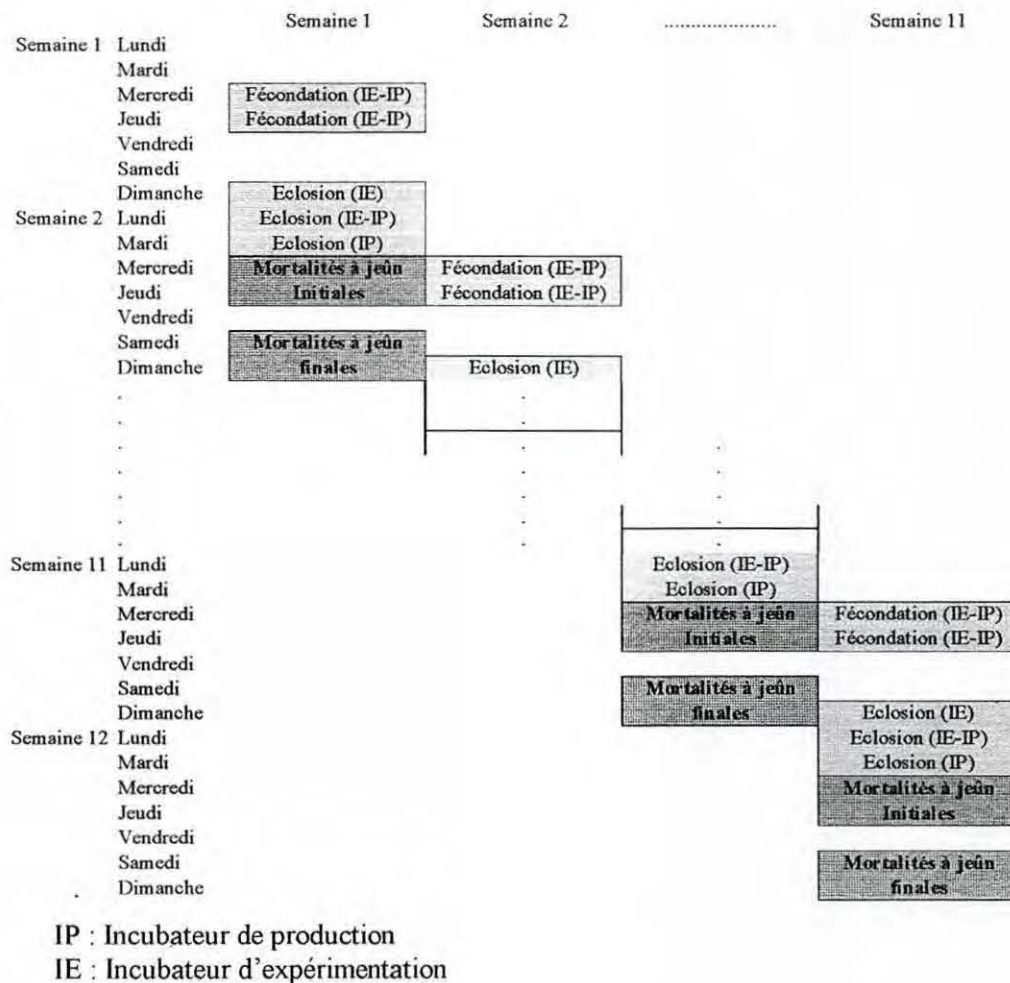


Figure 3 : Schéma de synchronisation des plans expérimentaux hebdomadaires

### 1.3.13. Présentation des résultats et analyses statistiques :

La théorie statistique indique que les pourcentages ou proportions suivent une loi binomiale et non normale, la déviation de la normalité étant plus forte pour les petits et gros pourcentages (0 à 30 % et 70 à 100 %). Mais si la racine de la proportion P, de distribution binomiale, est transformée par son arcsinus, alors les données résultantes P' auront une distribution presque normale (Jerrold, 1984) :

$$P' = \arcsin \sqrt{P}$$

Par conséquent, tous les résultats exprimés sous forme de proportions sont transformés, selon la formule ci-dessus, avant toute analyse de variance (ANOVA).

Les données F, Fc, P seront utilisées et représentent respectivement, la valeur du test de Fisher, la valeur critique de Fisher fonction du nombre d'observation, et la probabilité P que les critères analysés soient identiques. L'écart type (racine de la variance) sera noté "s" et l'erreur standard (écartype divisé par la racine du nombre d'observations) "sé".

En fonction des cas, les ANOVAS utilisées seront hiérarchisées ou non. L'analyse de variance hiérarchisée nécessite un nombre de sous niveaux identiques pour chacun des bassins et au minimum égal à 2. Par contre, le nombre de variables ne doit pas forcément être identique.

Les analyses de variance hiérarchisées sont réalisées sur le modèle suivant de comparaison des bassins.

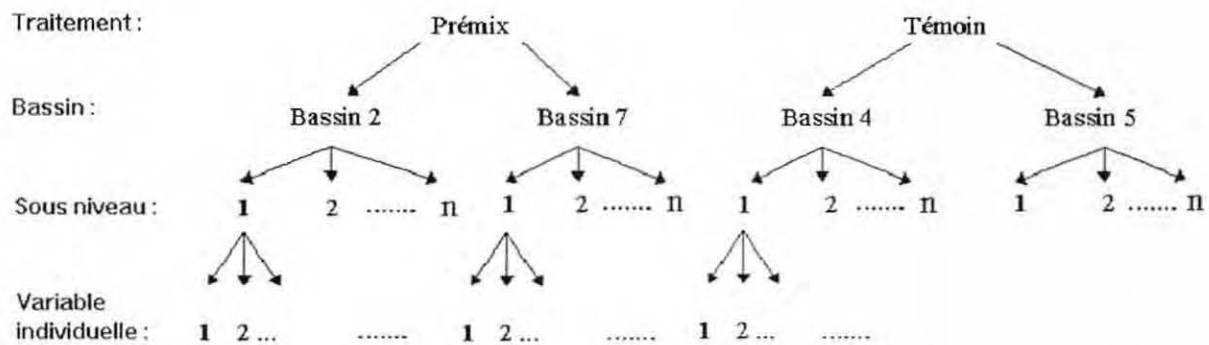


Figure 3 : modèle d'analyse de variance hiérarchisé.

L'ANOVA implique l'hypothèse d'égalité des variances des groupes étudiés (Jerrold, 1984). Un test d'égalité des variances a donc été effectué avant toute analyse de variance pour toutes les variables étudiées. Les tests d'égalité des variances n'ont présenté aucune différence entre les traitements.

Différentes représentations graphiques sont présentées aux cours de la présentation des résultats par bassins. Par soucis d'homogénéité, il a été choisi un figuré identique, utilisé pour l'ensemble des résultats (tableau V) pour chacun des bassins et des traitements.



Tableau V : Figurés définis pour les bassins et les traitements.

Traitement	Bassin	Figuré
Premix (intérieur noir)	2	◆
	7	●
Témoin (intérieur blanc)	4	□
	5	△

## II. Résultats et discussion:

Les résultats des analyses biochimiques n'ont pas été intégrés dans ce présent rapport car ils n'ont pu être obtenus avant la fin de sa rédaction.

### II.1. Limites et solutions apportées:

Malgré le stripping réalisé le lundi, un nombre important de pontes récupérées les jours d'expérimentation, soit 2 et 3 jours après, présentaient des maturations suffisamment avancées pour être éliminées. Afin d'éliminer les résidus des pontes récupérées le lundi pouvant contaminer les pontes du mercredi et jeudi, un stripping supplémentaire a été réalisé le mardi après le premier mois de la saison de ponte. Néanmoins, sur toute la saison, le nombre de pontes n'a pas été suffisant pour que la totalité des incubateurs puisse être utilisée au cours d'une même semaine.

Le but de l'expérimentation était de distinguer ou non un effet du régime alimentaire à l'échelle du bassin, en globalisant les effets individuels des femelles et du rang de ponte. D'après le tableau VI d'analyse du nombre de pontes incubées par bassin d'élevage, il apparaît que le nombre de femelles ovulantes participants aux pontes incubées est faible. Ainsi, seules 2 femelles du bassin 2 participent aux trois pontes incubées. De même, une femelle du bassin 7 (I22) participe à 6 des 13 pontes incubées pour ce bassin, ce qui indique qu'un effet du rang de ponte pourrait apparaître dans les résultats.

Tableau VI: Analyse du nombre de pontes incubées en incubateurs d'expérimentation.

Traitement	Bassin	Pourcentage de femelles ovulantes	Nombre de pontes incubées
Prémix	2	71,4 (5/7) <sup>1</sup>	3 (2) <sup>2</sup>
	7	80,0 (8*/10) <sup>1</sup>	13 (5) <sup>2</sup>
Témoin	4	87,5 (7/8) <sup>1</sup>	9 (4) <sup>2</sup>
	5	75,0 (6*/8) <sup>1</sup>	11 (4) <sup>2</sup>

<sup>1</sup> : (Nombre de femelles ovulantes / nombre total de femelles).

<sup>2</sup> : (Nombre de femelles dont proviennent les pontes incubées).

\* : dont une femelle morte.

Mc Evoy (1984) a mis en évidence l'existence d'un cycle ovulatoire de 3 à 5 jours chez certaines femelles. Ceci permet d'interpréter les résultats obtenus pour le bassin 2. En effet, la récupération des pontes pour l'expérimentation s'est effectuée sur deux jours consécutifs. Il est donc possible de se retrouver constamment entre deux ovulations pour une même femelle, et ce d'autant plus que son cycle serait par exemple de 3 jours et demi.

Malgré un pourcentage de femelles ovulantes élevé, le peu de données disponibles pour le bassin 2 empêche d'analyser statistiquement les résultats par bassin comme il avait été prévu initialement. L'effet bassin et l'effet femelle sont donc difficilement dissociables. Il a donc été choisi d'interpréter les résultats de qualité des oeufs et des larves par traitement, sans tenir compte des réplicats initialement mis en place.

### II.2. Analyses préliminaires :

Des analyses de variances entre les traitements sur les taux de viabilité des pontes fécondés, sur les températures moyennes d'incubation et de jeun ont été réalisées afin de vérifier qu'aucun biais



expérimental n'ait été introduit. Les résultats n'ont pas présenté de différences entre les traitements (cf. annexe 14).

Deux analyses de variance sur les rangs de ponte des pontes viables (taux de viabilité > 80 %) et incubées (Taux de fécondation > 50 %) n'ont pas présenté de différences entre les traitements. Aucun effet du rang de ponte ne s'est donc fait ressentir sur les résultats. Cela s'explique, dans la mesure où le plan d'expérimentation a compris l'ensemble de la saison de ponte pour chacun des bassins.

Une analyse de la sélection des pontes due à l'échantillonnage a été réalisée (cf. tableau VII) pour déterminer si le plan expérimental a été plus discriminant ou non pour un des deux traitements. Les résultats ne permettent pas de penser qu'un traitement ait été favorisé par une sélection des pontes plus forte que l'autre.

Tableau VII: Sélection de l'échantillonnage sur les pontes en fonction du traitement.

Traitement	Nombre de pontes	Nombre de pontes des jours d'échantillonnages	% échantillonnées	Nombre de pontes viables	Nombre de pontes incubées	% incubées	Nombre de pontes écloses	% écloses
Prémix	120	34	28,3	20	16	13,3	15	93,8
Témoin	135	41	30,4	28	20	14,8	18	90,0

### II.3. Résultats zootechniques des géniteurs :

#### II.3.1. Accidents et incident d'élevage :

Deux femelles sont mortes pendant l'expérimentation : la femelle 32A (bassin 7) après 12 pontes et la femelle 10Z (bassin 4) après une ponte. La détermination de l'erreur de sexage de la femelle 51 est survenue alors que la femelle était déjà gonflée et avait sans doute déjà ovulé plusieurs fois. La ponte récupérée (280 ml) le jour de son premier "stripping" fut unique. Une atrésie de l'ovaire provoquée par le défaut de prélèvement a sans doute bloqué le déroulement normal des ovulations.

#### II.3.2. Alimentation des géniteurs:

Les bassins traités se sont en moyenne plus alimentés que les bassins témoins en début d'expérimentation et inversement en fin (figure 4, annexe 15 et annexe 16).

L'alimentation expérimentale des géniteurs s'est déroulée pendant la période de sous nutrition des femelles en photopériode naturelle (Fauvel *et al*, 1993). Les quantités d'aliment ingérées par kg de biomasse des bassins sont supérieures ( cf. tableau VIII) à celles obtenues pendant la même période par Fauvel *et al* (1993) ; respectivement 256 et 240 g / kg pour deux de leurs bassins.

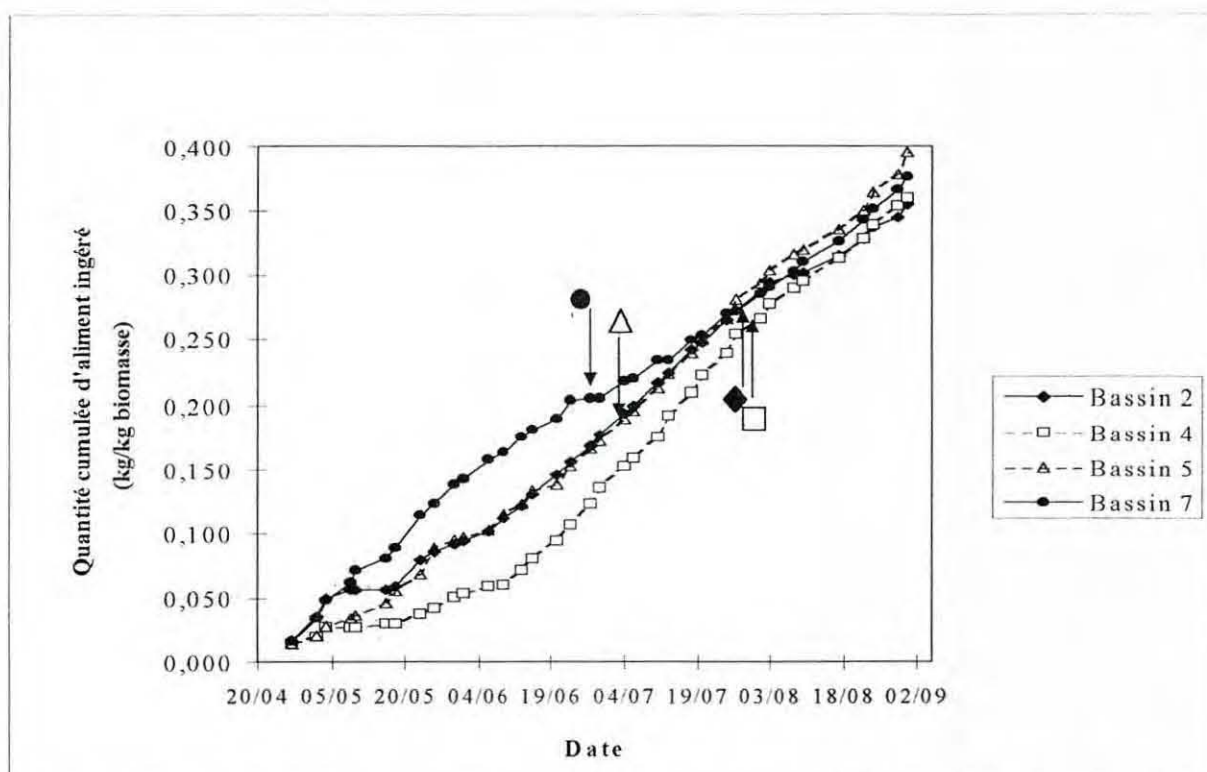


Figure 4 : Evolution depuis le 17 avril de la quantité cumulée d'aliment ingéré par bassin, en fonction de la date. Les flèches représentent les dates d'entrée en ovulation de la moitié des femelles ovulantes.

Tableau VIII : Alimentation des bassins du 27 avril au 31 août.

Traitement	Bassins	Biomasse (kg)	Quantité totale d'aliment ingéré (kg)	Volume total de Prémix ingéré (ml)	Quantité totale d'aliment ingéré (g/kg de biomasse)
Prémix	2	66.9	23.8	186.0	354.8
	7	70.5	26.6	212.3	376.5
Témoin	4	72.9	26.2	0	359.6
	5	71.9	28.4	0	394.8

### II.3.3. Croissance pondérale des géniteurs :

Une pesée des géniteurs a été réalisée en début et en fin d'expérimentation. Le tableau IX présente les gains moyens de poids par bassins pour les mâles et les pertes moyennes de poids des femelles ovulantes ; les données par poissons sont présentées en annexe 17.



Tableau IX : Evolution du poids des mâles et des femelles ovulantes

Traitement	Bassin	Gain moyen de poids des mâles (%)	Perte moyenne de poids des femelles ovulantes (%)
Prémix	2	4,7± 2,6 (se) <sup>9</sup>	9,6± 4,2 (se) <sup>5</sup>
	7	7,4± 2,6 (se) <sup>7</sup>	9,8± 2,1 (se) <sup>5</sup>
Témoin	4	7,6± 4,3 (se) <sup>7</sup>	9,1± 1,9 (se) <sup>8</sup>
	5	7,2± 4,7 (se) <sup>8</sup>	7,5± 4,2 (se) <sup>7</sup>

(se) : erreur standard.  
<sup>9,7,6,...</sup> : nombre de poissons.

Une analyse de variance hiérarchisée a été réalisée afin de comparer les gains de poids moyens entre traitement.

Tableau X: Résultats de l'analyse de variance hiérarchisée.

Niveau d'analyse	Degré de liberté de l'effet	Degré de liberté de l'erreur	F	P
Traitements	1	4	3.010	0.158
Bassins	1	4	0.001	0.976

Les résultats de l'analyse ne présentent pas de différences significatives entre les bassins et entre les traitements (tableau X).

#### II.3.4. Productivité des femelles ovulantes :

Les bassins ne sont pas entrés en reproduction de manière synchronisée (cf. figure 4). Les bassins 2 et 4 y sont entrés plus tard que les deux autres bassins.

Soliman *et al* (1986) indiquent qu'une déplétion en vitamine C dans la nourriture du tilapia, *Oréochromis mossambicus*, induit une maturation plus lente des géniteurs. Deufel (1965) avait fait la même constatation chez la truite arc-en-ciel pour une déplétion en caroténoïdes. Harris (1984) indique aussi un effet des caroténoïdes sur le nombre de femelles matures chez la truite arc-en-ciel. Ses bassins témoins présentent moins de 80 % de femelles ovulantes contre plus de 90% en moyenne pour ses bassins enrichis en canthaxanthine.

Dans notre cas il ne peut s'agir d'un effet de l'alimentation puisqu'un bassin tardif sur les deux est un bassin traité. Le bassin 4 a été sujet à des problèmes chroniques de développement de copépodes de manière plus importante que dans les autres bassins. C'est la raison pour laquelle trois traitements au Dichlorvos ont été réalisés avant la saison de ponte sur tous les bassins. Malheureusement les géniteurs de ce bassin se sont sous alimentés pendant cette période de stress (cf. figure 4). En fait, les différences d'entrée en production des bassins sont liées aux différences d'alimentation en début d'expérimentation (cf. figure 4, tableau XI).

Tableau XI : Relation entre la quantité d'aliment ingérée au 29 juin et la date d'entrée en ovulation de la moitié des femelles ovulantes.

Traitement	Bassin	Quantité d'aliment ingérée au 29 juin (g / kg)	Date d'entrée en ovulation de la moitié des femelles ovulantes
Prémix	2	177,9	27 juillet
	7	198,9	3 juillet
Témoin	4	140,4	4 août
	5	172,5	6 juillet

Il faut aussi noter que les deux bassins (5 et 7) entrés les plus tôt en reproduction correspondent aux bassins situés côté mer tandis que les autres se trouvaient protégés à proximité d'une falaise. Une influence maritime est sans doute à envisager.

La figure 5 montre qu'il existe une relation entre la date de première ponte et la durée entre la première et la dernière ponte d'une même femelle. Les femelles les plus précoces ont un nombre de pontes en général supérieur à celles qui pondent ultérieurement (Fauvel *et al*, 1993).

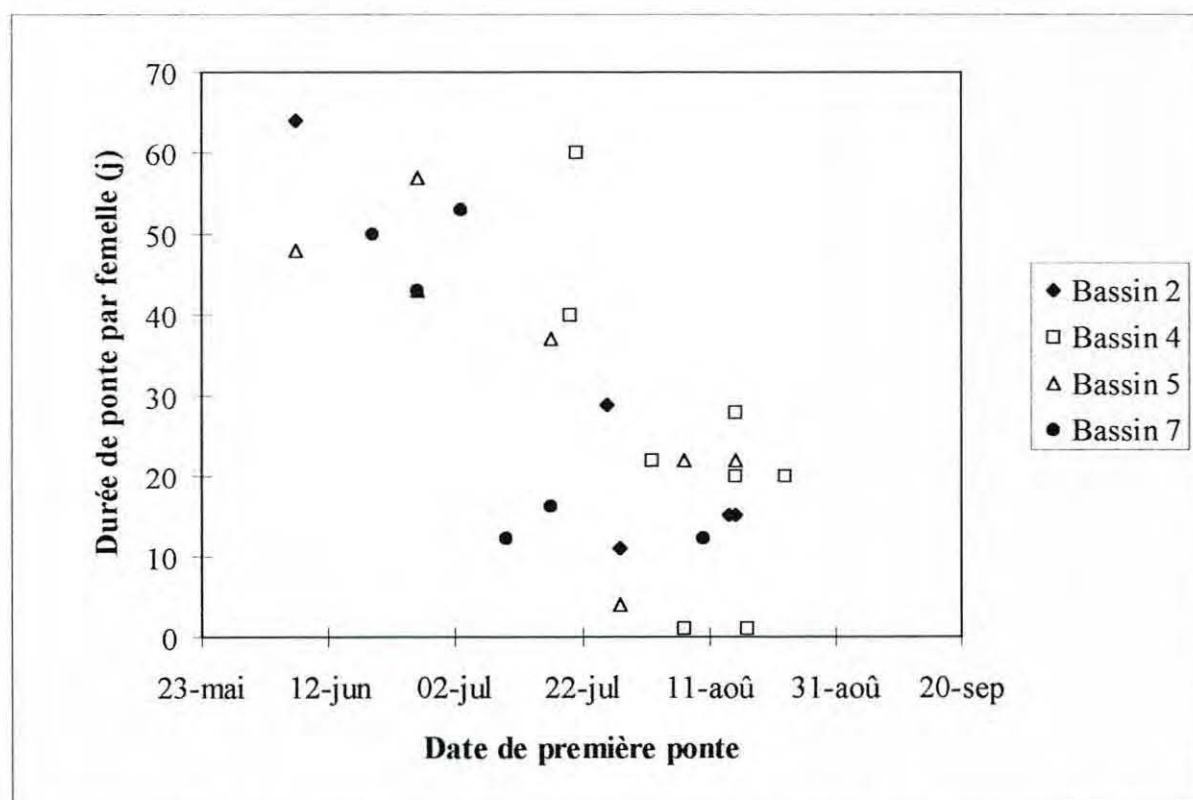


Figure 5 : Relation entre la date de première ponte et la durée de ponte par femelle.

De même une corrélation significative entre la durée d'ovulation et le nombre de pontes récupérées existe (cf. figure 6 et tableau XII). Cette relation a déjà été mise en évidence par Fauvel *et al* en 1993 entre la durée d'ovulation et le nombre d'ovulations. Fauvel *et al* (1993) obtiennent un intervalle moyen de 4,4 jours entre les ovulations. Nos résultats indiquent un intervalle moyen de 2,8 jours entre les



pontes. Dans la mesure où il est possible de récupérer deux pontes à un jour d'intervalle pour une même ovulation, la différence entre nos résultats et ceux de Fauvel *et al* (1993) peuvent s'expliquer.

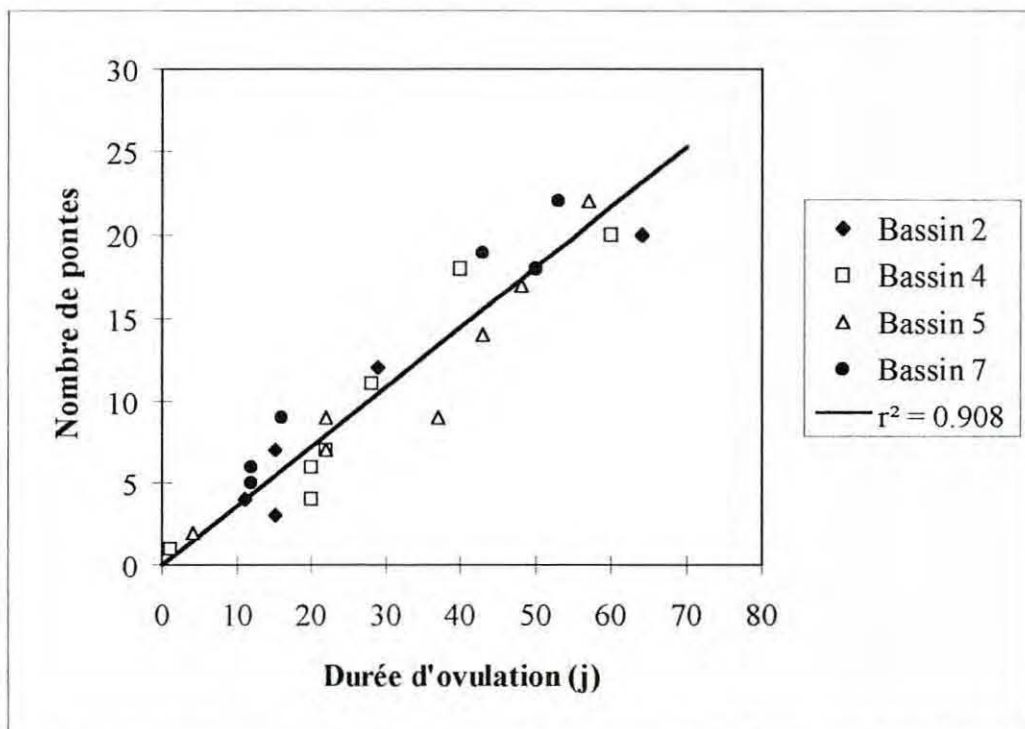


Figure 6 : Corrélation entre la durée d'ovulation et le nombre de pontes.

Tableau XII: Paramètres de la régression linéaire entre la durée d'ovulation et le nombre d'ovulations.

Nombre de femelles	F	Fc	Constante	Pente
25	247.0	$3.9 \cdot 10^{-14}$	0	0.361

La date d'entrée en ovulation influe donc sur le nombre de pontes. Comme nos bassins n'ont pas été synchronisés, il n'est pas possible de comparer leurs productions sans tenir compte de la date d'entrée en ovulation. Par contre pour chacun des traitements, un bassin est entré tardivement en reproduction et l'autre précocement (cf. tableau XI). Il a donc été réalisé une analyse de variance hiérarchisée entre les bassins, tenant compte de l'entrée précoce ou non en reproduction.

Les différents paramètres de productivité individuelle par bassins sont présentés en annexe 18.

L'analyse des résultats de notre expérimentation ne montre pas de différence de productivité en nombre d'ovules par kg entre les traitements (cf. tableau XIII) ni entre les bassins précoces et ceux tardifs. Les femelles entrées en production tardivement produisent plus d'oeufs par ponte et par kg de femelle que les femelles plus précoces.

Tableau XIII: Résultats de l'analyse de variance hiérarchisée sur la productivité en nombre d'oeuf / kg.

Niveau d'analyse	Degré de liberté de l'effet	Degré de liberté de l'erreur	F	P
Traitements	1	22	0.035	0.853
Précoce / Tardif	2	22	0.964	0.397

Waagbo *et al* (1989) ont trouvé que la vitamine C exerce un effet important sur le taux de  $17\beta$  oestradiol, et de ce fait sur le taux de vitellogénine induisant la vitellogénèse. Sandnes *et al* (1984) ont montré un effet de la vitamine C sur le nombre d'oeufs produits par femelle chez la truite arc-en-ciel. Par contre, Mangor Jensen *et al* (1994) indiquent qu'aucune différence de production n'est apparue entre trois lots de morue, *Gadus morhua*, alimentés avec des taux d'ascorbate-2-monophosphate variant de 0 à 500 mg / kg d'aliment commercial sec. Le lot à 0 mg / kg présentait cependant une plus grande variation journalière de production.

En ce qui concerne les caroténoïdes, Harris (1984) indique qu'aucune corrélation n'est apparue entre la quantité croissante de canthaxanthine distribuée à différents lots de truite arc-en-ciel et la production d'oeufs. Par contre Watanabe *et al* (1984c) montrent que les acides gras essentiels affectent la fécondité de la truite arc-en-ciel.

### II.3.5. Coloration des pontes :

Les ovules émis par les femelles traitées présentent une coloration orangée. L'observation à l'oeil nu des ovules, ainsi qu'à la loupe binoculaire, indique une incorporation nette des pigments caroténoïdes dans la gouttelette lipidique (cf. figures 7 et 8). Choubert (1981) indique d'ailleurs la liposolubilité des caroténoïdes.

## II.4. Qualité des oeufs et des larves :

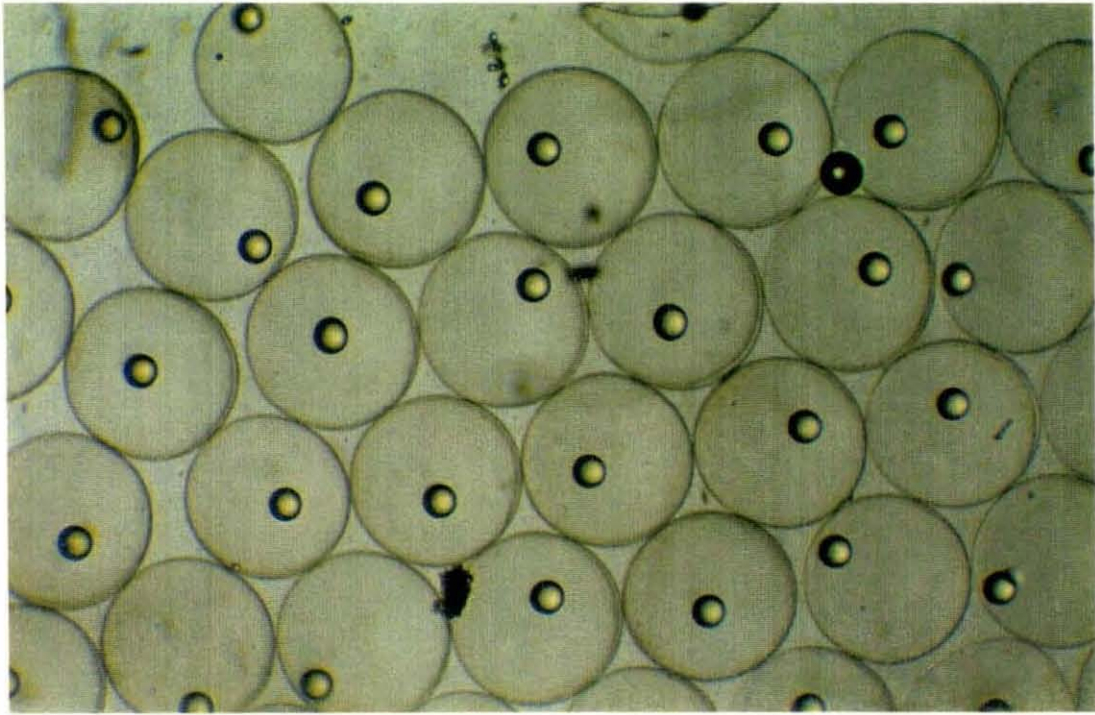
### II.4.1. Tailles des ovules et des globules lipidiques :

Les résultats présentés en annexe 19 et tableaux XIV et XV ne présentent pas de différence significative de taille entre les traitements, aussi bien pour les oeufs que les globules lipidiques.

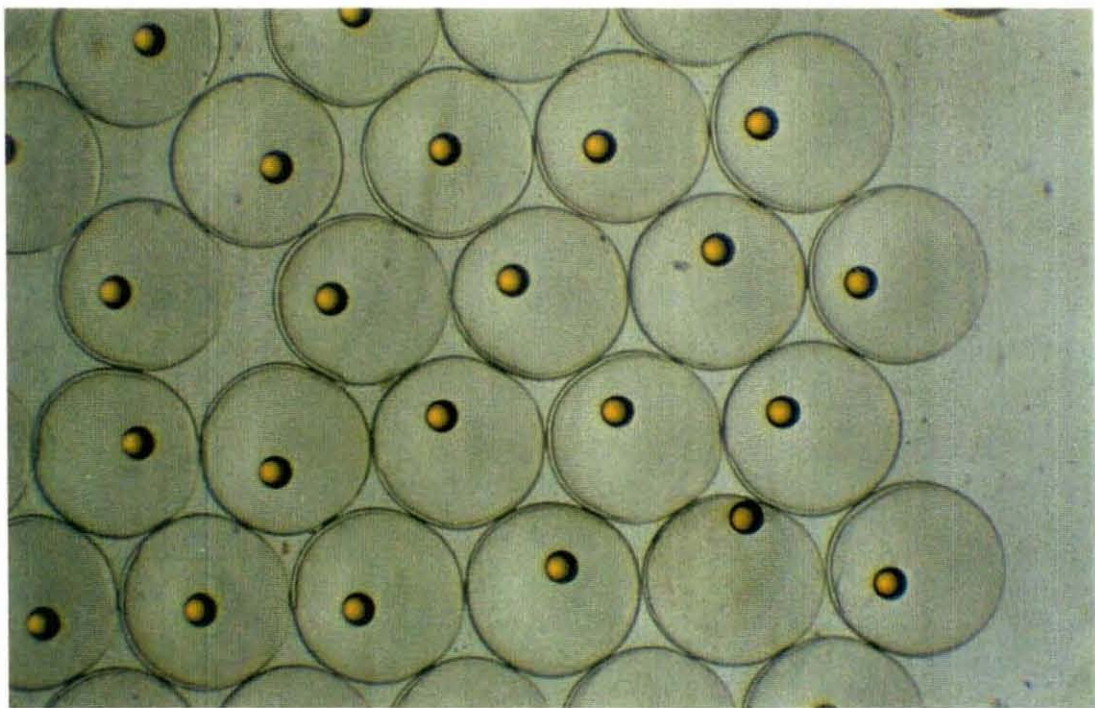
Tableau XIV : Résultats de l'analyse de variance sur la taille des oeufs.

Traitement	Nombre d'échantillons	Taille moyenne des ovules (mm)	F	Fc	P
Prémix	17	1.03 ± 0.00 (se)	3.346	4.098	0.075
Témoin	23	1.07 ± 0.00 (se)			





7 : Ponte témoin



8 : Ponte Prémix

Figures 7 et 8 : Incorporation des caroténoïdes dans les gouttelettes lipidiques.

Tableau XV : Résultats de l'analyse de variance sur la taille des globules lipidiques.

Traitement	Nombre d'échantillons	Taille moyenne des globules (mm)	F	Fc	P
Prémix	17	0.18 ± 0.00 (se)	2.355	4.098	0.133
Témoin	23	0.19 ± 0.00 (se)			

Pourtant, Caluwé *et al* (1995) ont montré un effet combiné de teneurs croissantes en vitamine C, AGPI et vitamine E sur le diamètre des oeufs chez la crevette, *Macrobrachium rosenbergii*.

#### II.4.2. Taux de fécondation des pontes :

L'ensemble des résultats est présenté en annexe 20.

On dispose de trois réplicats par ponte, une analyse de variance hiérarchisée prenant en compte les pontes pourrait donc être réalisée. Mais, sauf à éliminer beaucoup de pontes, il n'est pas possible d'équilibrer la hiérarchie, puisque 20 et 27 pontes ont été échantillonnées respectivement pour les bassins traités et les bassins témoins. Une analyse de variance à un facteur a donc été réalisée.

Tableau XVI : Résultats de l'analyse de variance sur les taux de fécondation.

Traitement	Nombre d'échantillons	Taux de fécondation moyen	F	Fc	P
Prémix	60*	61.5 ± 2.5 (se)	0.592	3.909	0.443
Témoin	81*	58.8 ± 2.7 (se)			

\* : tient compte des trois réplicats.

Malgré l'incorporation des caroténoïdes et celle présumée du DHA, aucune différence n'est apparue, entre les traitements, au niveau des taux de fécondation (cf. tableau XVI).

Pourtant, Miki *et al* ont montré en 1984 que les ovules pigmentés de la daurade royale présentent des taux de fécondation supérieurs aux ovules non pigmentés. Par contre, si Quantz (1980) montre un effet de l'alimentation des géniteurs sur les caroténoïdes incorporés dans les oeufs de truite arc-en-ciel, il indique qu'aucune différence significative n'apparaît au niveau des taux de fécondation des pontes. Dans sa revue sur la qualité des oeufs et le contenu en pigment des oeufs de salmonidés, Craik (1985) fait le même constat en référence à une publication en russe (Shnarevich *et Sachnenko*, 1972). Il indique que les auteurs n'ont pu montrer de corrélation significative entre le taux de fertilisation et le contenu en caroténoïdes des oeufs de truite.

La composition des oeufs de daurade royale, *Sparus aurata*, en acides gras essentiels répond très rapidement aux changements d'alimentation (Harel *et al*, 1994). Ces auteurs montrent qu'il suffit de 10 jours pour rectifier une alimentation déficiente. Ils ont trouvé que le taux d'acide gras polyinsaturés (AGPI) en (n-3) des oeufs influe de manière importante sur la viabilité exprimée en terme de flottabilité (les oeufs morts coulent, tandis que les oeufs viables flottent). Une régression linéaire du second ordre a été ajustée entre le taux d'AGPI (n-3) et la viabilité ( $r = 0,98$ ). Les résultats montrent une augmentation de la viabilité des oeufs pour des taux croissants d'AGPI (n-3) inférieurs à 17 mg / g de poids sec des oeufs. Des taux supérieurs n'améliorent que peu le pourcentage de viabilité des oeufs.



De même, Caluwé *et al* (1995) ont montré un effet combiné de la vitamine C et E et des AGPI sur la fertilité des ovules de la crevette *Macrobrachium rosenbergii*.

Cependant, Peleteiro *et al* (1993) n'ont pas trouvé de corrélation entre la teneur en AGPI des oeufs de turbot, *Scophthalmus maximus*, et les taux de fécondation.

#### II.4.3. Paramètres de division cellulaire :

La détermination du nombre d'oeufs au stade 8 a été réalisée pour 19 pontes des bassins prémix et 21 pontes des bassins témoins. Les analyses de variance ont été hiérarchisées pour tenir compte de l'effet de la ponte en éliminant 2 pontes tirées au sort parmi les 21 des bassins témoins. Un effet ponte significatif intervient sur les résultats (tableaux XVII et XVIII). Les analyses des résultats entre les traitements ont donc été testées en tenant compte de cet effet.

Les résultats (cf. annexe 21) n'indiquent pas de différence significative entre les traitements pour la variable de vitesse de division (cf. tableau XVII). Cependant, les taux d'oeufs au stade 8 cellules, 3 heures et 45 minutes après la fécondation, sont élevés, respectivement  $89.3 \pm 3.9$  (se) et  $69.9 \pm 8.2$  (se) pour les bassins traités et les témoins. Il aurait été préférable de réaliser la détermination plus tôt (3 h 30), ce qui aurait éventuellement permis de montrer une différence entre les traitements.

Tableau XVII : Résultats de l'analyse de variance sur la vitesse de division.

Niveau d'analyse	Degré de liberté de l'effet	Degré de liberté de l'erreur	F	P
Traitements	1	76	3.712	0.062
Pontes	36	76	15.228	0.000

Peu de divisions cellulaires répondent aux critères stricts envisagés de parfaite symétrie, de non-écartement et de tailles identiques des cellules embryonnaires. Il en résulte des taux de bonnes divisions très faibles et des erreurs standard élevées :  $3.2 \% \pm 1.0$  (se) et  $3.5 \% \pm 1.2$  (se) de bonnes divisions, respectivement pour les pontes traitées et les pontes témoins. Les résultats de l'analyse de variance hiérarchisée prenant en compte l'effet ponte ne montrent pas de différence entre les traitements (cf. tableau XVIII).

Tableau XVIII : Résultats de l'analyse de variance sur les taux de bonnes divisions cellulaires.

Niveau d'analyse	Degré de liberté de l'effet	Degré de liberté de l'erreur	F	P
Traitements	1	76	0.002	0.963
Pontes	36	76	4.440	0.000

#### II.4.4. Résultats d'incubation :

On ne dispose pas de réplicats pour la détermination des paramètres d'incubation. L'analyse de variance à un facteur a donc été utilisée pour le traitement des résultats par régime alimentaire. Les résultats (cf. annexes 22 et 23) ne présentent pas de différences de durée d'incubation (de la fécondation à 50 % d'éclosion) entre les traitements, aussi bien en heure qu'en heure degré (cf. tableau XIX).

Tableau XIX: Résultats de l'analyse de variance sur les temps d'incubation.

Type de calcul	Traitement	Nombre d'échantillons	Temps d'incubation	F	Fc	P
Heure	Prémix	15	112.1± 1.1 (se)	1.068	4.160	0.309
	Témoin	18	114.2± 1.6 (se)			
Heure	Prémix	15	1502.5± 12.5 (se)	1.220	4.160	0.278
degré	Témoin	18	1529.5± 19.6 (se)			

Les résultats de taux d'éclosion (cf. annexe 22), ne présentent pas non plus de différences entre les traitements (cf. tableau XX)

Tableau XX : Résultats de l'analyse de variance sur les taux d'éclosion.

Traitement	Nombre d'échantillons	Taux d'éclosion	F	Fc	P
Prémix	16	67.4± 5.7 (se)	0.345	4.130	0.561
Témoin	20	62.5± 5.6 (se)			

De même, Peleteiro *et al* (1993) n'avaient pas obtenu de corrélation entre les taux d'éclosion et la teneur en AGPI des oeufs de turbot.

Pourtant, Sandnes *et al* (1984) ont montré une corrélation entre la concentration en vitamine C et le taux d'éclosion ainsi qu'une différence significative entre les taux de mortalités des oeufs issus de géniteurs (truite arc-en-ciel) dont l'alimentation contient de la vitamine C et ceux de géniteurs non alimentés en vitamine C. Soliman *et al* (1986) indiquent le même résultat en ce qui concerne le taux d'éclosion chez le tilapia. Ils ajoutent qu'un taux significatif de larves déformées est présent chez les larves issues de géniteurs non nourris en vitamine C.

De même, Takeuchi *et al* (1981) ont montré qu'une déplétion en vitamine E est à l'origine d'anormalités de ponte en terme de survie au stade de formation de l'oeil ainsi qu'à l'éclosion chez la truite arc-en-ciel. La vitamine E améliorerait aussi la proportion de larves normales.

Robb *et al* (1995) n'ont pu montrer une différence significative de survie à l'éclosion des oeufs de saumon atlantique enrichis en asthaxantine par rapport aux oeufs non enrichis. Par contre ils montrent des différences de survie 24 heures après la fécondation et au stade de formation de l'oeil. Murayama et Yanase (1961) montrent une relation évidente entre le taux d'éclosion et le taux de caroténoïdes chez la truite arc-en-ciel, l'impact de l'asthaxanthine étant plus important que les autres caroténoïdes. Mais



cependant, Torrissen (1984) indique qu'il n'y a pas d'effet de la pigmentation des oeufs de saumon atlantique sur leur survie au stade de formation de l'oeil ni à l'éclosion.

L'incorporation des caroténoïdes est une source de pigment pour les chromatophores. Des teneurs plus importantes en caroténoïdes amélioreraient la résistance à la lumière (Craik, 1985). Cependant, Torrissen (1984) indique un effet croissant du taux de mortalité en incubation en fonction du taux d'asthaxanthine des oeufs de saumon atlantique pour des expositions à la lumière ultraviolette et jaune.

#### II.4.5. Résultats de temps de survie à jeun :

Les résultats de temps de survie à jeun (cf. annexe 24) ont été analysés à l'aide d'une analyse de variance à deux facteurs pour prendre en compte les blocs initialement définis. Les résultats n'indiquent pas de différence entre les blocs. Par contre un effet significatif de la nutrition des géniteurs sur la durée de survie à jeun des larves en heure apparaît (cf. tableau XX).

Tableau XX : Résultats de l'analyse de variance sur le temps de survie à jeun.

Niveau d'analyse	Degré de liberté de l'effet	Degré de liberté de l'erreur	F	P
Traitements	1	93	7.890	0.006
Bloc	2	93	1.063	0.349

Les résultats moyens (cf. tableau XXI) indiquent que les larves enrichies meurent plus vite que les larves non enrichies.

Tableau XXI : Durées moyennes de survie à jeun.

Type de calcul	Traitement	Nombre d'échantillons	Temps de survie à jeun
Heure	Prémix	15	121.5 ± 2.4 (se)
	Témoin	18	129.6 ± 3.6 (se)
Heure	Prémix	15	2125.9 ± 42.5 (se)
degré	Témoin	18	2270.6 ± 63.7 (se)

Si l'incorporation des éléments nutritifs des géniteurs dans les oeufs est maintenant démontrée par de nombreux auteurs, il n'apparaît pas de publication relatant d'éventuels effets de cette incorporation sur la survie des larves à jeun. Cependant, il existe des publications relatant un effet de l'alimentation en acide gras des larves sur leur aptitude à survivre. Les larves de daurade, *Pagrus major*, nourries avec des rotifères privées d'acides gras essentiels, ont de faibles croissances, survies, vitalité et de fort taux de larves hydriques. Les résultats sont améliorés avec l'incorporation d'acide gras EPA, DHA ou d'AGPI (n-3) dans les rotifères (Watanabe *et al.*, 1989). Cependant, seules les larves nourries avec du DHA présentent des réductions significatives du taux de larves hydriques et une amélioration significative des tests de viabilité. De plus l'analyse biochimique de la totalité des lipides des larves de daurade, *Pagrus major*, montre que le niveau d'assimilation de DHA est plus important que d'EPA, bien que l'EPA soit partiellement converti en 22: 5n-3 (Watanabe *et al.*, 1989). Aucune rétroconversion du DHA



en EPA n'a été observée, indiquant l'importance du DHA (Watanabe et Kiron, 1995). D'ailleurs, Takeuchi et al (1991) placent le DHA au rang de l'acide gras le plus essentiel pour les larves de daurade, à la vue des résultats des tests de viabilité des larves qu'ils ont effectués. Il semble en effet que le DHA atténue les facteurs de stress des larves (Watanabe et Kiron, 1995).

De même, Takeuchi *et al* (1981) montrent un effet positif de l'incorporation de la vitamine E sur la survie larvaire.

## **II.5. Analyse de l'ensemble des résultats :**

### **II.5.1. Effet du complément nutritif :**

Les différentes publications auxquelles il est fait référence dans ce rapport analysent en fait les effets d'une carence alimentaire en certains constituants biochimiques. Quand il existe de tels résultats sur les critères de qualité retenus dans cette présente expérimentation, elles ne dévoilent pas toutes des effets de la carence (cf. tableau XXII). L'intérêt de celles qui dévoilent un effet n'est que de pointer les problèmes en vu d'études plus précises (Robin et Kaushik, 1994). Seules les publications, riches et nombreuses, sur l'impact des caroténoïdes chez les salmonidés permettent de définir une dose minimale (1 à 13  $\mu\text{g} / \text{g}$  d'oeufs). Dose au-dessus de laquelle, les chercheurs n'obtiennent pas de corrélation, alors que ceux travaillant à des niveaux plus faibles trouvent des corrélations importantes (Craik, 1985). La seule expérimentation réalisée à partir d'une ration alimentaire non carencée n'a d'ailleurs pas montré de corrélation entre le contenu des oeufs en AGPI et les paramètres de flottabilité des oeufs, de fertilité et de taux d'éclosion chez le turbot (Peleteiro *et al*, 1993).

Les géniteurs ont été nourris avec des sardines souvent très fraîches en raison de la proximité des pêcheries et des ports de débarquement. Il est donc possible que la richesse des sardines soit suffisamment importante pour qu'on ne puisse pas montrer d'effet sur les critères étudiés.

King et al (1983) indiquent que si le transfert de  $\alpha$ -tocophérol est incontestable, une ration normale est suffisante pour permettre le succès de la reproduction chez la truite arc-en-ciel. Les recommandations du National Research Council (NRC, 1993) en vitamine E, en ce qui concerne les granulés pour poissons, sont de 50 mg / kg pour le tilapia et la truite et 100 mg / kg pour la carpe. Il indique par ailleurs que les harengs, espèce pélagique proche de la sardine, contiennent 22,1 mg / kg de vitamine E (5,6 mg / kg pour le thon). La teneur n'est pas indiquée pour les sardines. L'ajout  $\alpha$ -tocophérol par l'intermédiaire du Prémix a permis d'augmenter la ration en vitamine E de 600 mg / kg, mais l'alimentation de base n'aurait-elle pas suffi ?

Des études récentes sur les besoins en vitamine C ont revu à la baisse les teneurs nécessaires en vitamine C à intégrer aux granulés pour poissons (Gouillou, communication personnelle). Les recommandations de teneur indiquées par le NRC pour l'alimentation du tilapia, de la carpe et de la truite ne sont plus que de 50 mg / kg. Ces études ont été réalisées avec des acides ascorbiques mono ou polyphosphatés plus stables que les formes palmitates ou cristallines pour lesquelles de fortes pertes ont été décelées après les procédures de granulation, d'extrusion (Hilton, 1977 et Sandnes, 1991) En effet, le groupement phosphate se fixe au niveau des radicaux hydroxyles en 2 ou 3 et permet la stabilisation de la molécule en inhibant les réactions d'oxydation. Aucune donnée sur la teneur en vitamine C n'est disponible dans la littérature, à la fois pour les sardines et d'autres espèces analogues. Par contre de fort taux de vitamine C dans les ovaires ont été décelés par de nombreux auteurs pour de nombreux poissons (Sandnes, 1991). Sandnes et Braekkan (1981) et Seymour (1981) ont d'ailleurs décelé des taux croissants d'acide ascorbique pendant la croissance ovarienne chez la morue et la carpe respectivement. Or, la reproduction des sardines a lieu pendant la période estivale. La teneur en vitamine C de l'alimentation de base pourrait donc avoir été importante.

De même, si les poissons transforment les acides gras en DHA de manière limitée (Watanabe et Kiron, 1995), la richesse en acides gras des sardines permet peut-être une transformation en DHA suffisante pour les besoins de la reproduction.



Tableau XXII: Récapitulatif des publications présentant ou non des effets d'une carence (sauf \*) en différents éléments nutritifs.

Critères	Effet montré d'une carence			Pas d'effet montré d'une carence		
	Nutriments	Auteurs	Espèces	Nutriments	Auteurs	Espèces
Vitesse de maturation des femelles	Vit. C	Soliman <i>et al</i> , 1986	<i>Oréochromis mossambicus</i>			
	Carot.	Deufel, 1965 Harris, 1984	<i>Salmo gairdneri</i>			
Production d'oeufs	Ac. Gras	Watanabe <i>et al</i> , 1984c	<i>Pagrus major</i>	Carot.	Harris, 1984	<i>Salmo gairdneri</i>
	Vit. C	Sandnes <i>et al</i> , 1984	<i>Salmo gairdneri</i>	Vit. C	Mangor Jensen <i>et al</i> , 1994	<i>Gadus morhua</i>
Taille des oeufs	Vit C, Vit E et AGPI	Caluwé <i>et al</i> , 1995	<i>Macrobrachium rosenbergii</i>			
Taille des globules lipidiques						
Fertilité	Carot.	Miki <i>et al</i> , 1984.	<i>Pagrus major</i>	Carot.	Quantz, 1980 Shnarevich et Sachnenko, 1972	<i>Salmo gairdneri</i>
	Vit C, Vit E et AGPI	Caluwé <i>et al</i> , 1995	<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	AGPI*	Peleteiro <i>et al</i> , 1993	<i>Scophthalmus maximus</i>
Vitesse d'éclosion						
Qualité de division						
Durée d'incubation						
Taux d'éclosion	Vit. C	Sandnes <i>et al</i> , 1984	<i>Salmo gairdneri</i>			
		Soliman <i>et al</i> , 1986	<i>Oréochromis mossambicus</i>			
	Vit E	Takeuchi <i>et al</i> , 1981	<i>Salmo gairdneri</i>	AGPI*	Peleteiro <i>et al</i> , 1993	<i>Scophthalmus maximus</i>
	Carot.	Murayame et Yanase, 1961	<i>Salmo gairdneri</i>	Carot.	Torrissen <i>et al</i> , 1984 Robb <i>et al</i> , 1995	<i>Salmo salar</i>
Durée de survie à jeun						

\* : Seule expérimentation sur un régime alimentaire de base non carencé.

### II.5.2. Méthodologie :

Des différences statistiques entre les traitements n'ont pas pu être mise en évidence à l'aide de la quasi totalité des critères utilisés. Ceci peu signifier qu'il n'y a pas d'effet sur les critères en question ou bien que leur capacité à discriminer de tels effets est insuffisante en raison de leur imprécision ou de leur manque de fiabilité.

En ce qui concerne la productivité des femelles par traitement, l'erreur type représente 35 et 21 % de la moyenne, la variabilité étant plus forte pour les femelles traitées. La différence entre les moyennes est très faible et la variabilité entre les femelles forte. Il ne semble donc pas qu'une augmentation du nombre de géniteurs permette éventuellement de montrer une différence entre les traitements dans ce cas.

Les critères de taux de fécondation, vitesse de division cellulaire et de taux d'éclosion présentent de faibles erreurs types des résultats par rapport aux moyennes. Une augmentation du nombre de données réduirait les erreurs types ce qui pourrait permettre de montrer des différences statistiques de qualité des oeufs pour ces critères, dans la mesure où celles-ci existeraient. Par contre en ce qui concerne le critère de qualité des divisions cellulaires, la grande variabilité des résultats indique qu'une augmentation du nombre de données ne permettrait sans doute pas d'améliorer les résultats de l'analyse statistique.

Les méthodes de détermination de la vitesse de division mériteraient d'être améliorée. Une diminution du temps entre la fécondation et le comptage du nombre d'oeufs aux différents stades aurait peut être permis de mettre en évidence un éventuel effet du régime alimentaire. Sinon, un comptage du nombre d'oeufs aux différents stades (2, 4 et 8) à deux ou trois moments différents après la fécondation (entre 1 heure et 3 heures) pourrait encore améliorer la précision des résultats. En ce qui concerne la qualité de division, il serait nécessaire de définir un critère moins sélectif que celui envisagé dans cette expérimentation, ou d'envisager différentes classes d'anomalies comme Shields *et al* (1995) semblent l'avoir réalisé pour le fletan du pacifique, *Hippoglossus hippoglossus*. Mais la mise en oeuvre de ces méthodes alourdirait le protocole.

La fiabilité de la méthode de détermination de la durée d'incubation paraît correcte (cf. annexe 12). Cependant, il serait possible de l'affiner en réduisant l'intervalle entre les déterminations des taux d'éclosion. Un nombre plus important d'incubations pourrait éventuellement améliorer l'analyse statistique.



## Conclusion :

Deux méthodes étaient envisageables quand à la réalisation du protocole expérimental. Soit on tenait compte de la totalité des facteurs intervenant dans les résultats (i.e. effets femelle, mâle, rang de ponte, régime alimentaire et bassin). Soit, l'ensemble de ces facteurs étaient globalisées dans un effet général à l'échelle du bassin, avec réalisation de répliquats par effet étudié pour conforter les résultats. La première méthode aurait nécessité une analyse de variance multivariable, ce qui demandait un nombre de données trop important proportionnellement aux moyens mis en oeuvre. La deuxième méthode a donc été retenue.

Malheureusement, le protocole mis en place n'a pas permis de s'affranchir de la variabilité individuelle. La raison essentielle de ce résultat est le manque de données obtenues pour l'un des bassins. Il serait nécessaire de récupérer les pontes pour l'expérimentation au minimum sur deux jours non consécutifs. L'idéal serait de récupérer toutes les pontes chaque jour de la semaine. Mais un tel protocole nécessiterait des moyens importants. Il faudrait alors multiplier les installations d'élevage, la rotation sur une semaine devenant impossible. Dans le cadre d'une expérimentation similaire à celle-ci, une autre solution serait d'augmenter le nombre de femelles pour diminuer l'effet individuel, ce qui néanmoins surchargerait le planning de récupération journalière des pontes surtout les jours d'expérimentation des pontes. La difficulté résiderait alors dans la réalisation de répliquats homogènes. On a en effet pu voir que de nombreux paramètres peuvent intervenir sur la date de reproduction, introduisant une variabilité importante entre les répliquats. Une augmentation du nombre de répliquats par traitement serait alors nécessaire.

Mais, dans le cas où on utiliserait un nombre plus important de femelles, serait-il possible de mettre en évidence des différences infimes entre les traitements avec les méthodes utilisées? Il serait nécessaire d'affiner certains, voire de s'attacher à d'autres critères de qualité qui correspondraient mieux aux effets étudiés.

Les résultats souffrent du manque des données des analyses biochimiques qui auraient permis d'évaluer l'incorporation des éléments du complément nutritif. Néanmoins, on peut penser qu'elle a eu lieu, à la vue des nombreuses publications traitant de l'effet du régime alimentaire des géniteurs sur la composition biochimique des oeufs. D'ailleurs, l'incorporation des caroténoïdes a été particulièrement visible au niveau de la coloration des globules lipidiques.

Les résultats de l'expérimentation ne présentent pas de différence statistique de productivité des femelles et de qualité des oeufs et des larves entre les bassins enrichis et les bassins témoins jusqu'à l'éclosion. Il se pourrait que la vitesse de division cellulaire soit accélérée par l'incorporation des nutriments du complément nutritif dans les oeufs (notamment caroténoïdes). Associé à la réduction du temps de survie à jeun des larves enrichies, il semble que les oeufs et larves traités présentent une augmentation du métabolisme se traduisant par une augmentation de la vitesse de développement. Quoique intéressant, ce résultat ne permet cependant pas d'indiquer que l'enrichissement soit favorable à un meilleur développement. Est-il révélateur d'un potentiel de croissance des alevins plus grand? Une augmentation de la vitesse de développement ne pourrait-elle pas restreindre la marge de manoeuvre disponible pour le passage à l'alimentation exogène des larves? Il est dommage que les élevages larvaires prévus n'aient été réalisés afin d'étudier les effets à long terme de l'incorporation des constituants biochimiques. Cependant, dans quelle mesure l'incorporation des nutriments dans les ovules est susceptible de révéler des effets au cours des élevages larvaires? Les effets de l'alimentation des larves et des paramètres physiques au cours des élevages larvaires ne pourraient-ils pas masquer les différences minimales qui pourraient exister entre les larves témoins et les larves enrichies? Des recherches futures permettront peut-être de répondre à ces questions qui restent pour le moment en suspens.

Les effets des carences alimentaires sur les critères de qualité des stades précoces ne sont pas démontrés systématiquement dans la littérature. Il était donc prévisible qu'aucun effet ne ressortirait d'une expérimentation sur ces critères de qualité à partir d'une alimentation de base en poisson frais. Il

serait intéressant de déterminer la constitution biochimique des sardines fraîches afin de connaître quelles ont été les différences des apports alimentaires entre les traitements pour chacun des constituants biochimiques du complément nutritif.

Cette expérimentation n'a pas permis de montrer d'effet de l'incorporation des nutriments de l'alimentation des géniteurs dans les ovules sur la qualité des oeufs jusqu'à l'éclosion. Elle a cependant permis d'établir de bonnes bases expérimentales nécessaires à de futures investigations. La réalisation d'une expérimentation similaire prenant en compte les suggestions de ce présent rapport devrait permettre de déterminer les besoins nutritionnels des géniteurs afin d'assurer le succès de la reproduction, dès lors qu'une alimentation de base moins riche serait utilisée.



**ANNEXES**

TABLEAU DE REPARTITION DES GENITEURS . I

Bassin 2 Premix	Mâles FG		Mâles C		Femelles JCA		Femelles FG		Femelles C	
	N°	Poids (Kg)	N°	Poids (Kg)	N°	Poids (Kg)	N°	Poids (Kg)	N°	Poids (Kg)
1 à 2 kg	<u>13</u>	2.0								
2 à 3 kg	<u>18</u>	2.4								
	12	2.9								
3 à 4 kg	5	3.6			<u>A18</u>	3.2				
	22	3.6			10A	4.0				
4 à 5 kg	<u>8</u>	4.4	<u>15</u>	4.1	<u>12A</u>	4.0	<u>Z20</u>	4.9		
					A26	4.4				
5 à 6 kg	<u>5Z</u>	5.2			A16	5.6				
6 à 7 kg			21	6.6			20Z	6.2		
7 à 8 kg										
<b>Poids total</b>		<b>24.1</b>		<b>10.7</b>		<b>21.1</b>		<b>11.1</b>		<b>0.0</b>
										<b>66.9</b>

Bassin 4 Témoïn	Mâles FG		Mâles C		Femelles JCA		Femelles FG		Femelles C	
	N°	Poids (Kg)	N°	Poids (Kg)	N°	Poids (Kg)	N°	Poids (Kg)	N°	Poids (Kg)
1 à 2 kg										
2 à 3 kg	7	2.0								
	<u>23</u>	2.3								
3 à 4 kg	3	3.1	<u>43</u>	3.6	<u>A</u>	3.0				
					A34	3.5				
4 à 5 kg	15	4.1			A30	4.1	8Z	4.0		
	<u>3Z</u>	4.2			2A	4.2				
					<u>A14</u>	4.3				
					<u>A20</u>	4.5				
5 à 6 kg										
6 à 7 kg	<u>Z7</u>	6.7			A32	6.2	<u>10Z</u>	6.5	51	6.6
7 à 8 kg										
<b>Poids total</b>		<b>22.3</b>		<b>3.6</b>		<b>29.8</b>		<b>10.5</b>		<b>6.6</b>
										<b>72.9</b>

FG, C et JCA représentent les origines des géniteurs. Les individus soulignés proviennent d'un bassin différent de celui des individus non soulignés.



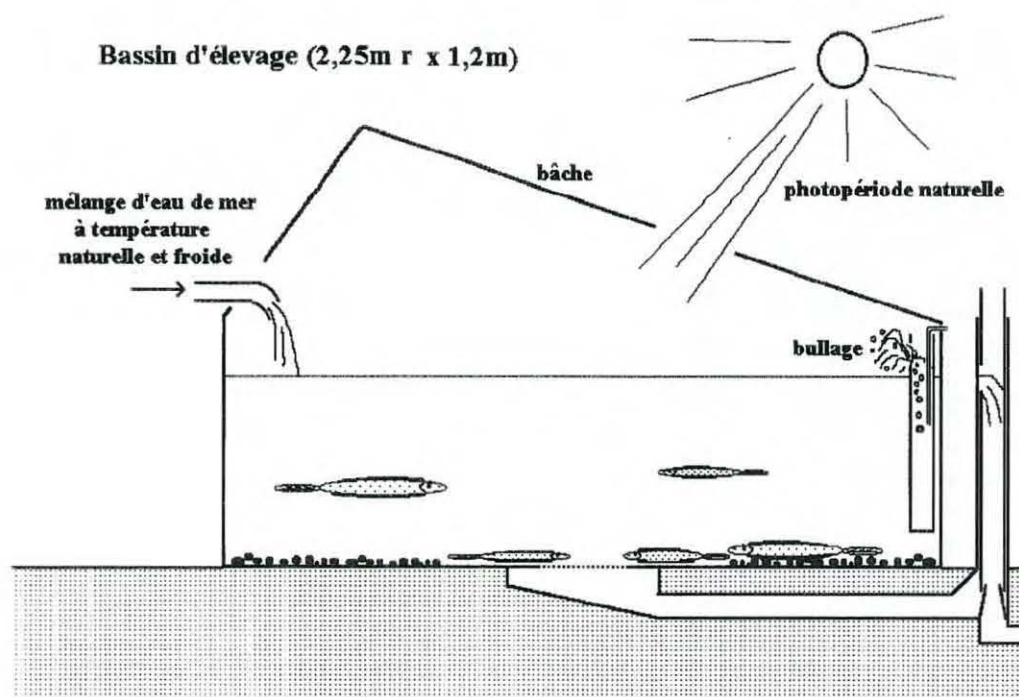
## TABLEAU DE REPARTITION DES GENITEURS . II

Bassin 5 Témoïn	Mâles FG		Mâles C		Femelles JCA		Femelles FG		Femelles C	
	N°	Poids (Kg)	N°	Poids (Kg)	N°	Poids (Kg)	N°	Poids (Kg)	N°	Poids (Kg)
1 à 2 kg										
2 à 3 kg	21 24	2.1 2.8								
3 à 4 kg	<u>Z3</u> 14	3.2 3.4			<u>A36</u>	3.6			14	4.0
4 à 5 kg	<u>Mâle</u> <u>Z1</u>	4.3 4.6	17	4.5	A0 <u>28A</u> 6A	4.6 4.7 4.9				
5 à 6 kg			<u>7</u>	5.0			<u>Z18</u>	5.9		
6 à 7 kg					A28	6.5				
7 à 8 kg							12Z	7.9		
<b>Poids total</b>		<b>20.4</b>		<b>9.5</b>		<b>24.3</b>		<b>13.8</b>		<b>4.0</b>
										<b>71.9</b>

Bassin 7 Premix	Mâles FG		Mâles C		Femelles JCA		Femelles FG		Femelles C	
	N°	Poids (Kg)	N°	Poids (Kg)	N°	Poids (Kg)	N°	Poids (Kg)	N°	Poids (Kg)
1 à 2 kg										
2 à 3 kg	0	2.9								
3 à 4 kg	28 <u>1Z</u>	3.5 4.0			<u>16A</u>	3.8				
4 à 5 kg	111 <u>Z5</u>	4.2 4.3	<u>37</u> 57	4.3 4.9	A22 <u>18A</u> <u>A24</u>	4.1 4.6 4.9			<u>122</u>	5.0
5 à 6 kg							Z10	5.8		
6 à 7 kg										
7 à 8 kg					32A	7.0	<u>18Z</u>	7.3		
<b>Poids total</b>		<b>18.9</b>		<b>9.2</b>		<b>24.4</b>		<b>13.1</b>		<b>5.0</b>
										<b>70.5</b>

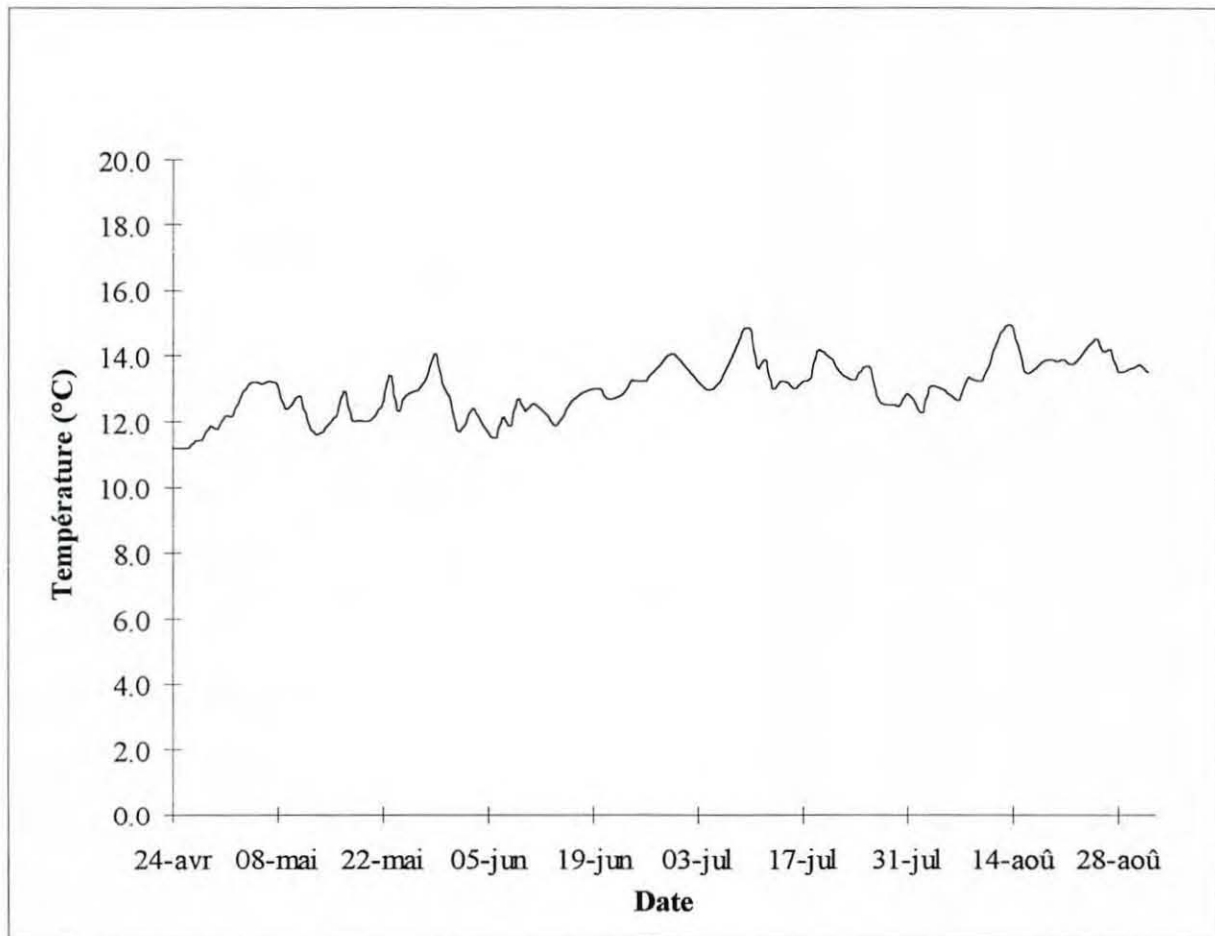
FG, C et JCA représentent les origines des géniteurs. Les individus soulignés proviennent d'un bassin différent de celui des individus non soulignés.

### BASSINS D'ELEVAGE

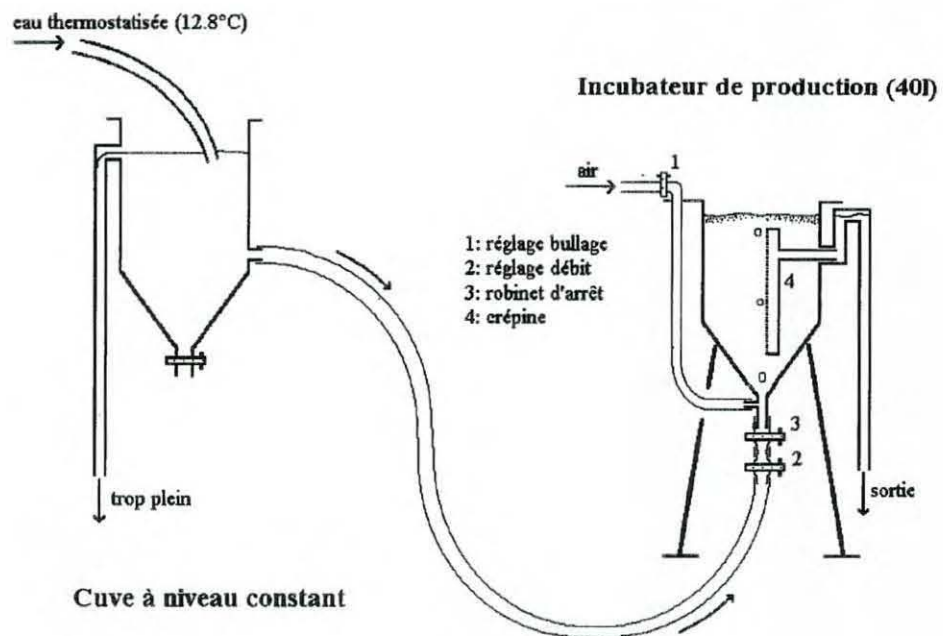




**EVOLUTION DE LA TEMPERATURE DES BASSINS D'ELEVAGE**



### INSTALLATIONS D'INCUBATION





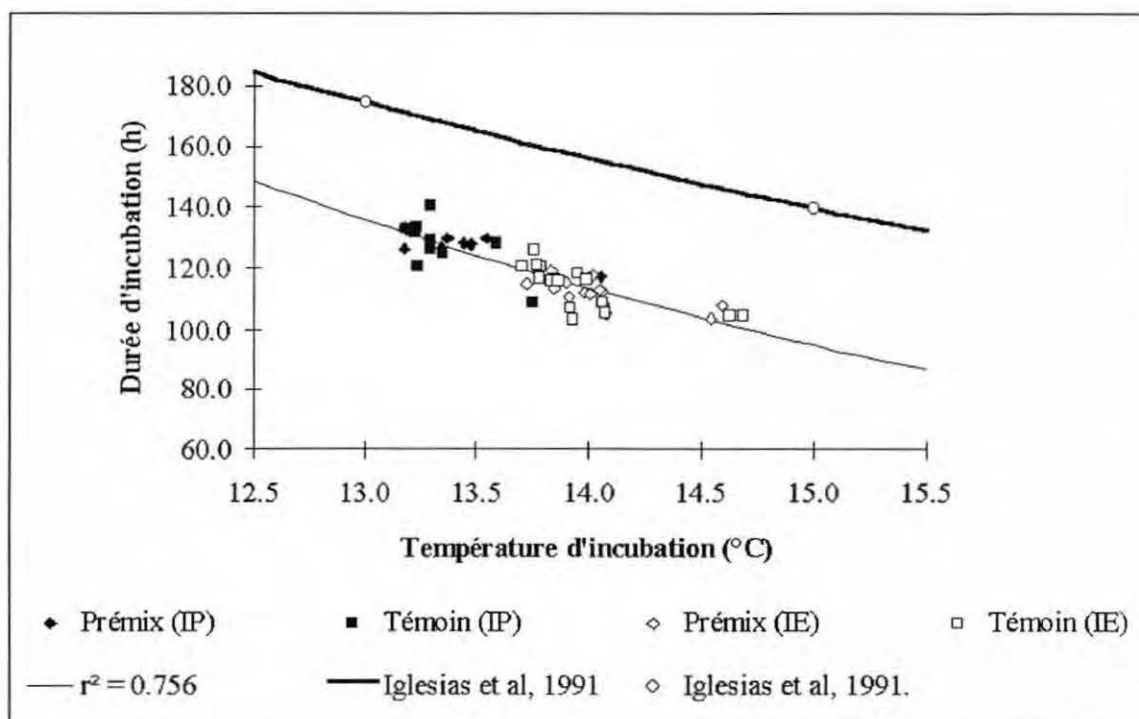
### INFLUENCE DE LA TEMPERATURE ET DE LA LUMIERE SUR LA DUREE ENTRE LA FECONDATION ET 50 % D'ECLOSION

Kwain (1975) a montré l'influence de la température d'incubation sur la durée d'incubation (temps entre la fécondation et 50 % d'éclosion) chez la truite arc-en-ciel, *Salmo gairdneri*. La durée d'incubation est d'autant plus courte que la température d'incubation est élevée (3 à 15°C). Par contre l'influence de l'intensité lumineuse chez la truite arc-en-ciel est moins prononcée. Marino *et al* (1991) ont corrélié une courbe exponentielle ( $r = 0.998$ ) aux données de durée d'incubation en fonction de la température pour le bar, *Dicentrarchus labrax*. Iglesias *et al* (1991) ont montré que la lumière (entre 0 et 54 lx) n'est pas un facteur déterminant dans le développement embryonnaire du turbot, *Scophthalmus maximus*. En effet, la durée d'incubation n'est pas significativement différente entre des conditions d'exposition jour et nuit à 54 lx et dans le noir complet. Iglesias *et al* (1991) ont aussi ajusté une courbe exponentielle aux données de durée d'incubation (temps entre la fécondation et 50 % d'éclosion) en fonction de la température (10 à 20°C). Un modèle de durée d'incubation (températures entre 13.3 et 14.7°C) a été réalisé à partir de nos données expérimentales. La fonction de la courbe de régression est la suivante :

$$\ln(Y) = 7.229 - 0.178 X$$

$$\ln(Y) = 6.602 - 0.111 X \quad (\text{Iglesias et al, 1991}).$$

où Y est la durée d'incubation et X, la température moyenne d'incubation.



IP : Incubateurs de production.  
IE : Incubateur d'expérimentation.

Figure 1 : Corrélation entre la température et la durée d'incubation.

Tableau I : Paramètres de la régression linéaire entre la température et le logarithme de la durée d'incubation :

Nombre d'incubateurs	F	Fc	Constante	Pente	r <sup>2</sup>
53	158.1	3.0 10 <sup>-7</sup>	7.229	-0.178	0.756

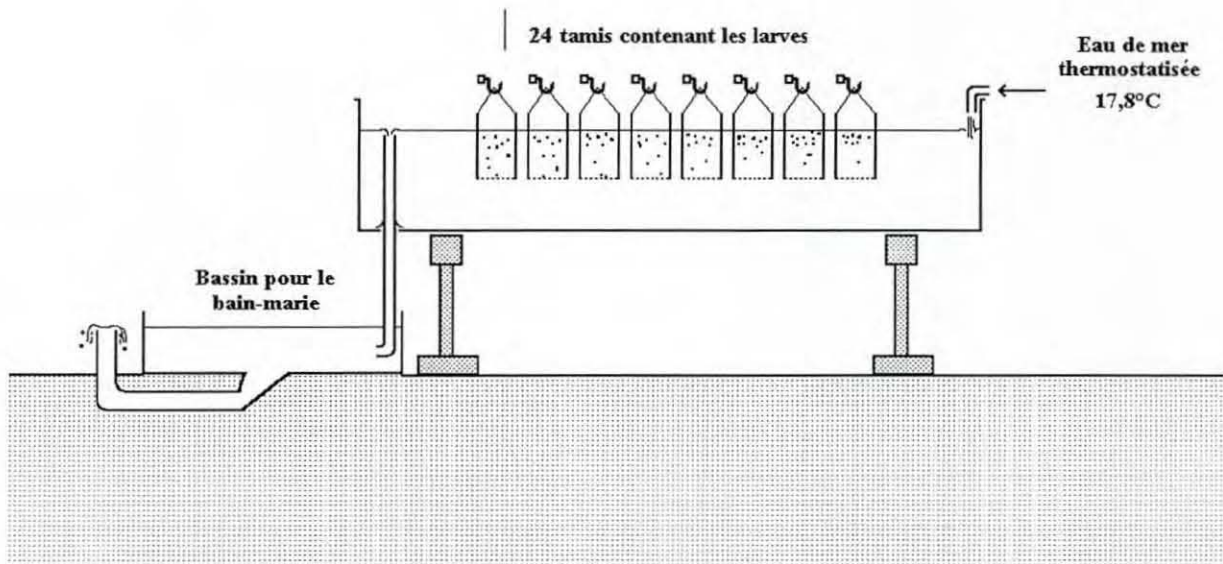
La courbe de corrélation obtenue diffère de celle d'Iglesias *et al* (1991). Les pentes des courbes sont similaires, mais les courbes sont décalées de 43 heures à 14 °C. Les incubations d'Iglesias *et al* (1991) ont été effectuées dans des incubateurs du même type que ceux utilisés pour notre expérimentation. Les seules différences entre les paramètres d'incubation sont d'ordre lumineuse (54 lx pour Iglesias contre 400 pour nous) et d'aération (nulle pour Iglesias contre un léger bullage pour nous). Les résultats de Kwain (1975) ne montrent cependant pas d'influence de l'intensité lumineuse chez la truite arc-en-ciel sur la durée d'incubation entre 2 et 400 lx. Il semblerait que le bullage ait une influence sur cette durée (Omnès et Gaignon, communications personnelles) qui paraît cependant ici très importante; le brassage des oeufs entrainerait une activation de l'éclosion. Avant de confirmer ce résultats, une investigation plus poussée serait néanmoins nécessaire.

Une réserve pourrait être émise quand à la représentativité du modèle réalisé. Il est en effet discutable de réaliser une régression sur l'ensemble des données concernant, à la fois, les incubateurs d'expérimentation et de production. La régression a été réalisée dans la mesure où les densités sont faibles dans les deux types d'incubateurs et où deux incubateurs de production ont des temps d'incubation analogues aux incubateurs d'expérimentation pour des températures d'incubations semblables. Les résultats sont corroborés à partir du moment où la pente de la droite obtenue est similaire à celle d'Iglesias *et al* (1991).

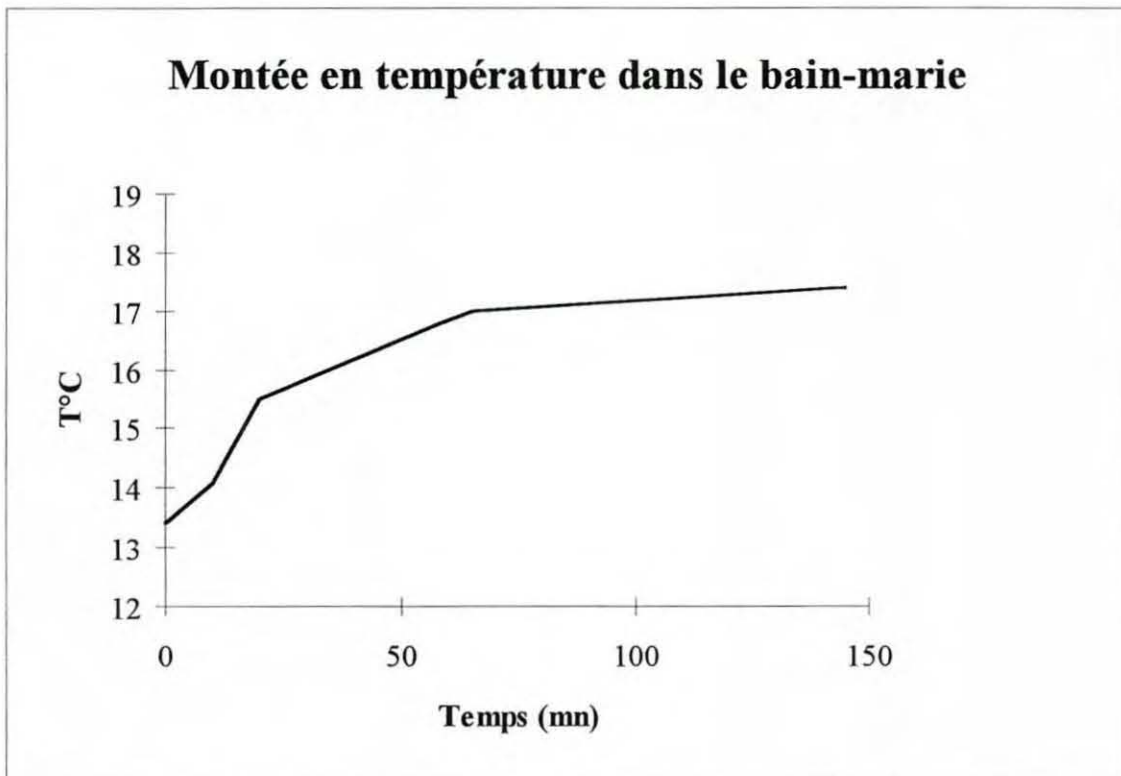


INSTALLATIONS DE JEUN

Bassin de survie à jeûn



**MONTEE EN TEMPERATURE**





**TABLE DE DOSAGE DES GELLULES EN FONCTION DU POIDS MOYEN DES PROIES**

<b>Poids moyen proies (g)</b>	<b>Ration Premix (ml proie)</b>	<b>Nbre gellules par proie</b>	<b>Dosage des gellules (ml)</b>	<b>Nbre gellules par kg</b>
145	1.22	3	0.41	21
140	1.18	3	0.39	21
135	1.13	3	0.38	22
130	1.09	3	0.36	23
125	1.05	2	0.53	16
120	1.01	2	0.50	17
115	0.97	2	0.48	17
110	0.92	2	0.46	18
105	0.88	2	0.44	19
100	0.84	2	0.42	20
95	0.80	2	0.40	21
90	0.76	2	0.38	22
85	0.71	2	0.36	24
80	0.67	2	0.34	25
75	0.63	2	0.32	27
70	0.59	2	0.29	29
65	0.55	2	0.27	31
60	0.50	1	0.50	17
55	0.46	1	0.46	18
50	0.42	1	0.42	20
45	0.38	1	0.38	22
40	0.34	1	0.34	25
35	0.29	1	0.29	29
30	0.25	1	0.25	33
25	0.21	1	0.21	40
20	0.17	1	0.17	50

## QUALITE DU SPERME :

### I. Introduction :

L'effet induit par le gamète mâle a été très peu étudié. Il est généralement négligé par rapport à l'effet induit par les réserves du gamète femelle (Mc Evoy, 1989). Dans l'expérimentation réalisée sur la qualité des oeufs et des larves, l'effet induit par la qualité des gamètes mâles a été considéré comme négligeable. Une expérimentation a été réalisée afin de déterminer si la différence de régime alimentaire des géniteurs avaient un impact sur la qualité des gamètes mâles, ou s'il existait des différences de fertilité entre les mâles utilisés pour les fécondations.

### II. Matériels et méthodes :

Le critère de qualité retenu est le critère d'aptitude d'un mâle à féconder (fertilité) une ponte de bonne viabilité.

Une ponte de taux de viabilité supérieure à 80 % est choisie pour les besoins de l'expérimentation ; le nombre d'ovules / ml est noté. La ponte est successivement fécondée par 12 mâles (3 par bassins). Un tirage au sort de l'ordre de fécondation est effectué. Afin de ne pas introduire d'effet temps entre les bassins, les fécondations sont alternées par traitement et bassins.

#### II.1. Fécondation :

Les fécondations ont été effectuées en conditions limitantes afin d'accroître les éventuels effets de fertilité des mâles. 2 ml d'ovules sont fécondés avec 1500 spermatozoïdes / ovule et 1 ml d'eau de mer. 30 ml d'eau de mer sont rajoutés après trois minutes de contact entre les gamètes (Suquet et al, 1995b).

La détermination du taux de fécondation est réalisée comme indiquée dans le paragraphe I.3.8.1..

Une analyse de variance hiérarchisée est effectuée pour l'analyse des résultats. La hiérarchie utilisée relie le type de traitement au taux de fécondations, en passant successivement par le bassin et les mâles.

#### II.2. Détermination de la concentration en spermatozoïdes du sperme :

Afin d'ajuster le nombre de spermatozoïdes / ovule, il est nécessaire de déterminer la concentration en spermatozoïdes du sperme. La détermination de la concentration est effectuée par spectrophotométrie. La mesure de la densité optique ( $D_o$ ) du sperme mélangé à une solution de Triton X-100 (0.25 %) permet de déterminer la concentration à l'aide de la formule suivante, où C est la concentration en spermatozoïdes ( $10^9$  spz / ml) (Suquet *et al*, 1992) :

$$C = (0,06793 \times D_o - 1.7581) / 2$$

Un premier éjaculat est extrait pour chaque mâle afin de déterminer la concentration en spermatozoïdes / ml et le volume nécessaire pour fournir 1500 spermatozoïdes / ovules lors de la fécondation. Un deuxième éjaculat est ensuite prélevé pour la fécondation.

### III. Résultats :

Il existe aucune différence significative entre les bassins, ni entre les mâles, ni entre les traitements (cf. tableaux I et II).



Tableau I : Résultats des taux de fécondation.

Traitement	N° Bassin	N° Mâle	heure fec.	Tx Fec. 1	Tx fec. 2	Tx Fec. 3	Moy. Tx Fec.	Ec. Typ. Tx Fec.	Moy Tx fec/Bassin	Ec. Typ. Tx Fec./Bassin
Prémix	2	15	10:08	75.1	76.3	71.8	74.4	2.3	74.4	8.2
		22	11:06	79.8	78.1	81.7	79.9	1.8		
		18	11:45	54.5	72.2	80.1	68.9	13.1		
Prémix	7	1Z	10:19	75.4	52.9	79.6	69.3	14.4	75.5	10.8
		Z5	10:52	83.1	83.5	86.6	84.4	1.9		
		0	11:17	63.7	73.9	80.5	72.7	8.5		
Témoin	4	43	10:29	87.3	78.7	84.4	83.4	4.4	79.5	4.2
		3	10:59	81.6	79.8	76.4	79.3	2.6		
		23	11:26	74.1	76.8	76.5	75.8	1.5		
Témoin	5	17	09:59	73.3	79.1	76.9	76.4	2.9	76.7	4.0
		7	10:38	74.7	81.7	80.9	79.1	3.8		
		14	11:37	79.9	73.5	70.2	74.5	4.9		

Tableau II : Résultats de l'analyse de variance hiérarchisée.

Niveau d'analyse	Degré de liberté de l'effet	Degré de liberté de l'erreur	F	Probabilité
Traitements	1	24	1.884758	0.182487
Bassins	2	24	0.602646	0.555436
Mâles	8	24	2.112243	0.074960

#### IV. Discussion :

Nos résultats ne présentent pas d'effet individuel mâle chez le turbot, *Scophthalmus maximus*, et appuient la décision de ne pas en tenir compte dans l'expérimentation sur la qualité des oeufs et des larves.

Pourtant, Luquet et Watanabe (1986) mentionnent une publication indiquant un rôle possible des caroténoïdes lors de la fertilisation des oeufs. Le  $\beta$  carotène, la lutéine et l'asthaxanthine auraient un effet positif sur la mobilité du sperme. Si les mâles ont incorporés les pigments caroténoïdes dans leur tégument, visible par une coloration rosée des mâles en fin d'expérimentation, nos résultats ne montrent pas une éventuelle amélioration de la fertilité des mâles qui aurait pu être liée à un effet des caroténoïdes.

Goriczko et Tomasik (1975) ont mis en évidence une différence significative de fertilité chez les truites mâles, *Salmo trutta*, résultats corroborés par la mise en évidence de différences individuelles de

mobilité du sperme chez la truite arc en ciel (Tomasik, 1973). Chez la carpe commune, aucune différence d'activité des spermatozoïdes n'a pu être mise en évidence en fonction de l'âge et du poids des mâles (Slominska et Gluchowska, 1994). D'autre part, Robb et al (1995) n'ont pas montré de différence significative de fertilité entre des mâles *Salmo salar* dont l'alimentation était complétée en asthaxanthine (38 mg / kg d'aliment extrudé) et des mâles dont l'alimentation contenait moins de 4 mg / kg. Suquet (communication personnelle) a réalisé des tests de fertilité sur dix mâles d'un même bassin à trois moments différents de la période de reproduction. Il n'a pas mis en évidence de différence significative entre les 10 mâles à un même moment . Par contre, il existe des différences significatives entre les trois répétitions. La fertilité des mâles décroît au fur et à mesure de la saison de ponte.



## RELATION ENTRE LE TAUX DE VIABILITE ET LE TAUX DE FECONDATION

Fauvel *et al* (1993) indiquent que la taux de viabilité est un critère de qualité très subjectif permettant d'éliminer les pontes de mauvaise qualité, mais ne permettant pas à coup sûr d'estimer la qualité des pontes retenues. Une analyse de corrélation entre le taux de viabilité et le taux de fécondation a été réalisée à l'aide des données expérimentales obtenues des pontes de viabilité supérieure à 80 %. Elle confirme qu'il n'existe pas de lien entre les deux taux ( $r^2 = 0.11$ ).

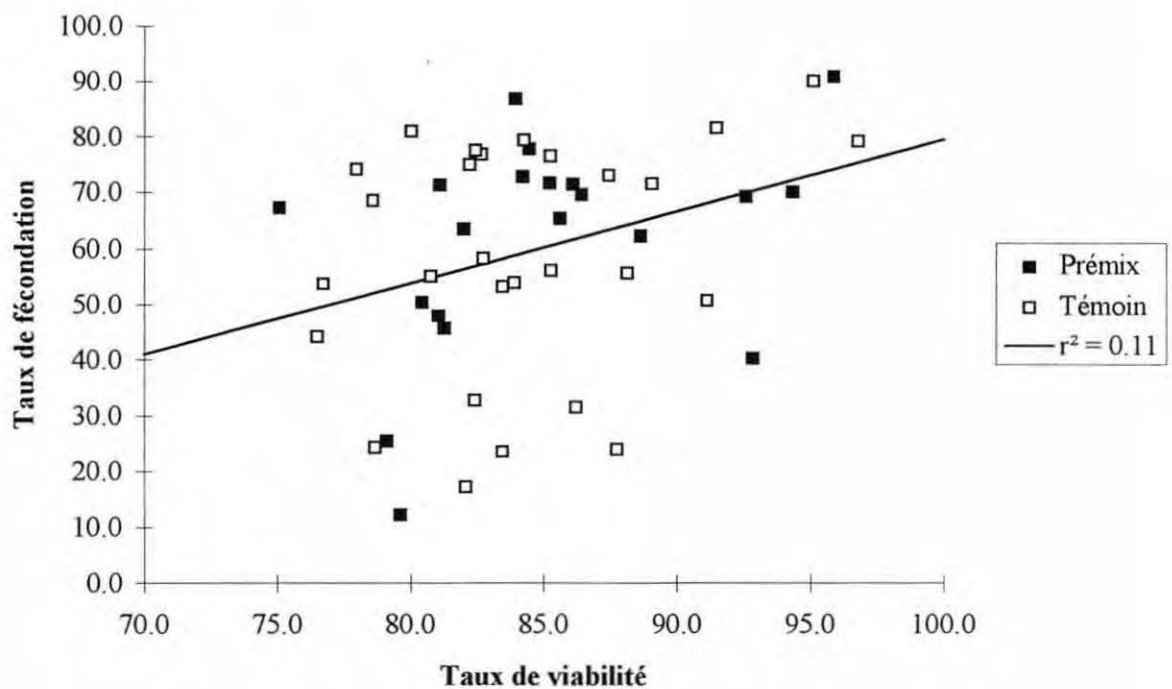


Figure 1 : Relation entre le taux de viabilité et le taux de fécondation.

### DETERMINATION DE LA VITESSE D'ECLOSION ENTRE 13.7 ET 14.1 °C

Une vitesse moyenne d'éclosion de 6.1 % (cf; figure 1 et tableau I) par heure a pu être déterminée pour les incubations entre 13.7 et 14.1°C en réalisant une régression linéaire des données d'éclosion (entre 10 et 90 % d'éclosion) en fonction du temps (centré à 50 % d'éclosion). Le coefficient de corrélation  $r^2 = 0.833$  de la droite permet d'affirmer que la méthode de détermination du temps d'incubation par régression linéaire est une méthode fiable chez le turbot.

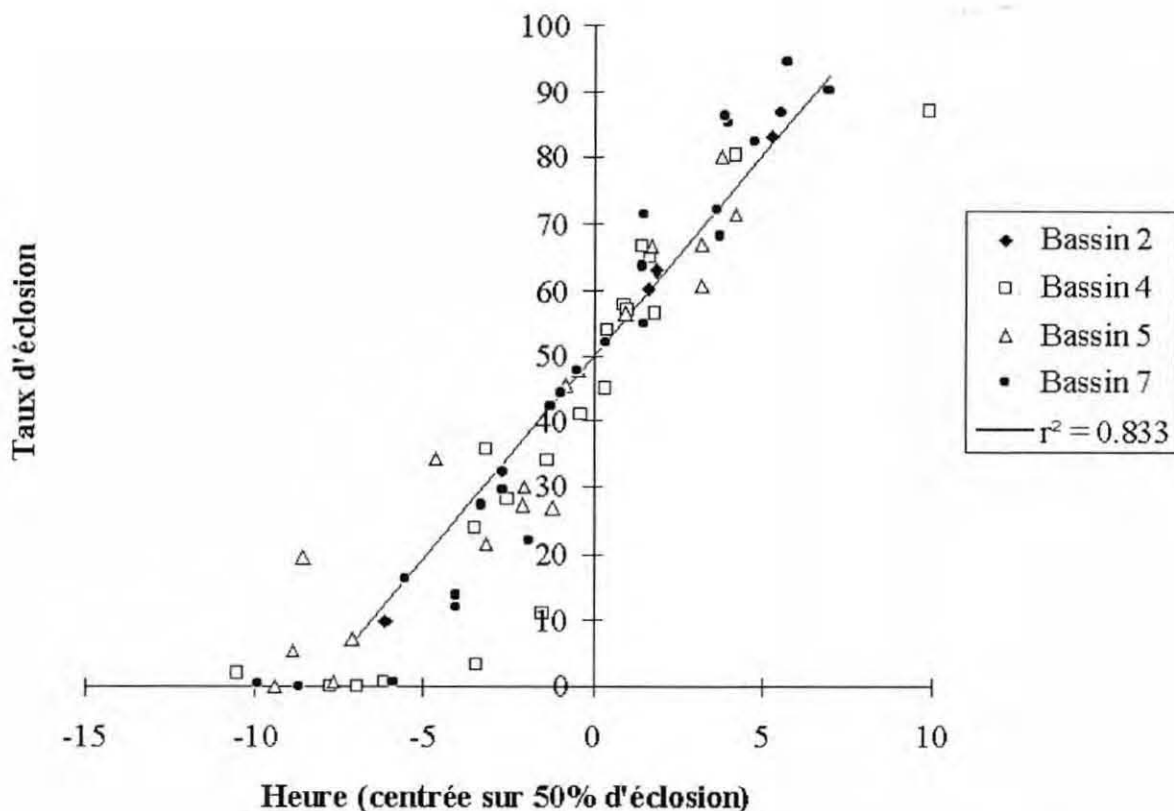


Figure 1 : Vitesse d'éclosion des incubateurs d'expérimentation (13.7- 14.1 °C).

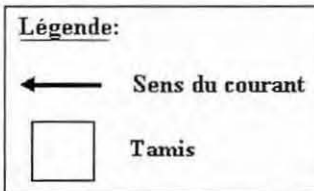
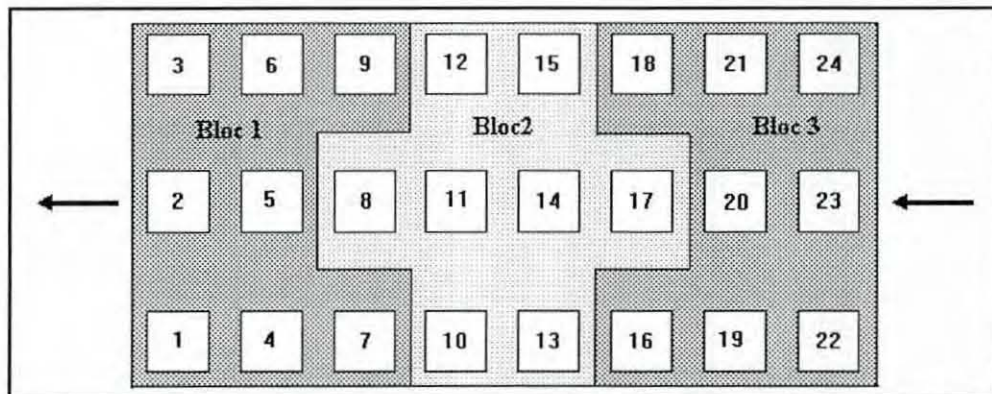
Tableau I : Paramètres de la régression linéaire sur la vitesse d'éclosion entre 10 et 90 % d'éclosion

Nombre de relevés de taux d'éclosion	F	Fc	Constante	Pente	$r^2$
53	260.2	1.1 10-21	50*	6.107	0.833

\* : le temps est centré sur 50 % d'éclosion.



**DECOUPAGE DU BASSIN DE MISE A JEUN EN 3 BLOCS**



## ANALYSES DE VARIANCE

Tableau.I : Résultats de l'analyse de variance sur les taux de viabilité des pontes retenues pour l'expérimentation.

Traitement	Nombre d'échantillons	Taux de viabilité des pontes	F	Fc	P
Prémix	20	85.6 ± 1.2 (se)	0.163	4.052	0.688
Témoin	28	84.4 ± 1.0 (se)			

Tableau.II : Résultats de l'analyse de variance sur les températures d'incubation.

Type d'incubateur	Traitement	Nombre d'échantillons	Températures d'incubation	F	Fc	P
Expérimentaux	Prémix	15	14.0 ± 0.1 (s)	0.392	4.160	0.536
	Témoin	18	14.0 ± 0.1 (s)			
Production	Prémix	10	13.4 ± 0.1 (s)	0.631	4.414	0.437
	Témoin	10	13.3 ± 0.0 (s)			

Tableau.III : Résultats de l'analyse de variance sur les températures de jeun.

Traitement	Nombre d'échantillons	Températures d'incubation	F	Fc	P
Prémix	15	17.5 ± 0.0 (s)	0.088	4.160	0.769
Témoin	18	17.5 ± 0.0 (s)			

Tableau.IV : Résultats de l'analyse de variance sur les rangs de ponte.

Niveau	Traitement	Nombre d'échantillons	Moyenne du rang de ponte	F	Fc	P
Pontes viables	Prémix	20	9.2 ± 8.9 (se)	0.494	4.051	0.486
	Témoin	28	7.9 ± 6.3 (se)			
Pontes incubées	Prémix	16	8.9 ± 9.7 (se)	0.109	4.130	0.743
	Témoin	20	9.6 ± 8.0 (se)			



## ALIMENTATION DES BASSINS D'ELEVAGE 2 ET 4

Bassin 2 : Premix

Date	Type nourriture	Qtte (kg) distribuée	Qtte (kg) récupérée	Qtte (kg) ingérée	Vol. premix ingéré (ml)
27-avr	LF	1.5	0.4	1.2	9.71
02-mai	LC	1.8	0.5	1.3	10.56
04-mai	SF	1.8	0.8	1.0	7.98
09-mai	SC	1.0	0.6	0.4	3.36
10-mai	SF	1.0	1.0	0.0	0.00
16-mai	SF	1.5	1.5	0.0	0.00
18-mai	SF	1.5	1.3	0.2	1.11
23-mai	SF	2.0	0.6	1.4	5.95
26-mai	SF	2.0	1.6	0.4	3.73
30-mai	SF	2.0	1.6	0.4	3.41
01-jun	SF	1.5	1.3	0.2	1.69
06-jun	SC	2.0	1.5	0.5	4.20
09-jun	SF	1.0	0.3	0.7	5.93
13-jun	SC	1.0	0.4	0.6	4.97
15-jun	SF	1.5	0.9	0.6	4.97
20-jun	SF	1.0	0.0	1.0	8.29
23-jun	SF	1.0	0.3	0.7	5.80
27-jun	SF	1.2	0.4	0.8	6.72
29-jun	SF	1.2	0.6	0.6	5.12
04-jul	SC	1.2	0.1	1.1	9.19
06-jul	SC	0.5	0.1	0.4	3.34
11-jul	SF	1.2	0.1	1.1	9.17
13-jul	SF	1.2	0.7	0.5	4.20
18-jul	SF	1.2	0.0	1.2	10.02
20-jul	SF	1.2	0.8	0.4	3.36
25-jul	SF	1.2	0.0	1.2	10.08
27-jul	SF	1.2	0.7	0.5	4.20
01-aoû	SF	0.9	0.0	0.9	0.00
03-aoû	SF	1.2	0.7	0.5	4.14
08-aoû	SF	0.9	0.5	0.4	3.35
10-aoû	SF	0.8	0.7	0.1	0.85
17-aoû	SF	1.5	0.6	0.9	7.68
22-aoû	SF	1.2	0.3	0.9	7.65
24-aoû	SF	1.2	0.6	0.6	5.10
29-aoû	SF	1.2	0.7	0.5	4.21
31-aoû	SF	1.2	0.5	0.7	5.97
Total alimentation		46.4	22.7	23.8	186.0

Bassin 4 : Témoin

Date	Type nourriture	Qtte (kg) distribuée	Qtte (kg) récupérée	Qtte (kg) ingérée
27-avr	LF	1.5	0.5	1.0
02-mai	LC	1.8	1.3	0.5
04-mai	SF	1.8	1.2	0.6
09-mai	SC	1.0	1.0	0.0
10-mai	SF	1.0	1.0	0.0
16-mai	SF	1.5	1.3	0.2
18-mai	SF	1.5	1.5	0.0
23-mai	SF	2.0	1.5	0.5
26-mai	SF	2.0	1.6	0.4
30-mai	SF	2.0	1.4	0.6
01-jun	SF	1.5	1.3	0.2
06-jun	SC	2.0	1.6	0.4
09-jun	SF	1.0	0.9	0.1
13-jun	SC	1.0	0.2	0.8
15-jun	SF	1.5	0.8	0.7
20-jun	SF	1.0	0.0	1.0
23-jun	SF	1.0	0.1	0.9
27-jun	SF	1.2	0.0	1.2
29-jun	SF	1.2	0.3	0.9
04-jul	SC	1.2	0.0	1.2
06-jul	SC	0.5	0.0	0.5
11-jul	SF	1.2	0.0	1.2
13-jul	SF	1.2	0.0	1.2
18-jul	SF	1.2	0.0	1.2
20-jul	SF	1.2	0.2	1.0
25-jul	SF	1.2	0.0	1.2
27-jul	SF	1.2	0.1	1.1
01-aoû	SF	0.9	0.0	0.9
03-aoû	SF	1.2	0.4	0.8
08-aoû	SF	0.9	0.0	0.9
10-aoû	SF	0.8	0.4	0.4
17-aoû	SF	1.5	0.2	1.3
22-aoû	SF	1.2	0.1	1.1
24-aoû	SF	1.2	0.4	0.8
29-aoû	SF	1.2	0.1	1.1
31-aoû	SF	1.2	0.8	0.4
Total alimentation		46.4	20.2	26.2

Légende: F: frais  
D: décongelé  
  
S: sardines  
L: Lançons

## ALIMENTATION DES BASSINS D'ELEVAGE 5 ET 7

Bassin 7 : Premix

Date	Type nourriture	Qtté (kg) distribuée	Qtté (kg) récupérée	Qtté (kg) ingérée	Vol. premix ingéré (ml)
27-avr	LF	1.5	0.4	1.2	9.71
02-mai	LC	1.8	0.5	1.3	10.56
04-mai	SF	1.8	0.8	1.0	7.98
09-mai	SC	1.0	0.0	1.0	8.40
10-mai	SF	1.0	0.3	0.7	5.89
16-mai	SF	1.5	0.9	0.6	10.13
18-mai	SF	1.5	0.9	0.6	3.34
23-mai	SF	2.0	0.2	1.8	7.65
26-mai	SF	2.0	1.3	0.7	6.53
30-mai	SF	2.0	1.0	1.0	8.53
01-jun	SF	1.5	1.2	0.3	2.53
06-jun	SC	2.0	0.9	1.1	9.24
09-jun	SF	1.0	0.6	0.4	3.39
13-jun	SC	1.0	0.2	0.8	6.63
15-jun	SF	1.5	1.1	0.4	3.31
20-jun	SF	1.0	0.4	0.6	4.97
23-jun	SF	1.0	0.0	1.0	8.29
27-jun	SF	1.2	1.1	0.1	0.84
29-jun	SF	1.2	1.2	0.0	0.00
04-jul	SC	1.2	0.3	0.9	7.52
06-jul	SC	0.5	0.4	0.1	0.84
11-jul	SF	1.2	0.2	1.0	8.33
13-jul	SF	1.2	1.2	0.0	0.00
18-jul	SF	1.2	0.1	1.1	9.19
20-jul	SF	1.2	0.9	0.3	2.52
25-jul	SF	1.2	0.0	1.2	10.08
27-jul	SF	1.2	1.1	0.1	0.84
01-aoû	SF	0.9	0.0	0.9	0.00
03-aoû	SF	1.2	0.8	0.4	3.31
08-aoû	SF	0.9	0.0	0.9	7.53
10-aoû	SF	0.8	0.3	0.5	4.23
17-aoû	SF	1.5	0.4	1.1	9.39
22-aoû	SF	1.2	0.0	1.2	10.20
24-aoû	SF	1.2	0.6	0.6	5.10
29-aoû	SF	1.2	0.1	1.1	9.27
31-aoû	SF	1.2	0.5	0.7	5.97
Total alimentation		46.4	19.9	26.6	212.3

Bassin 5 : Témoin

Date	Type nourriture	Qtté (kg) distribuée	Qtté (kg) récupérée	Qtté (kg) ingérée
27-avr	LF	1.5	0.5	1.0
02-mai	LC	1.8	1.3	0.5
04-mai	SF	1.8	1.2	0.6
09-mai	SC	1.0	0.6	0.4
10-mai	SF	1.0	0.8	0.2
16-mai	SF	1.5	0.8	0.7
18-mai	SF	1.5	0.8	0.7
23-mai	SF	2.0	1.1	0.9
26-mai	SF	2.0	0.5	1.5
30-mai	SF	2.0	1.5	0.5
01-jun	SF	1.5	1.4	0.1
06-jun	SC	2.0	1.6	0.4
09-jun	SF	1.0	0.1	0.9
13-jun	SC	1.0	0.4	0.6
15-jun	SF	1.5	0.8	0.7
20-jun	SF	1.0	0.6	0.4
23-jun	SF	1.0	0.0	1.0
27-jun	SF	1.2	0.2	1.0
29-jun	SF	1.2	0.8	0.4
04-jul	SC	1.2	0.0	1.2
06-jul	SC	0.5	0.0	0.5
11-jul	SF	1.2	0.0	1.2
13-jul	SF	1.2	0.5	0.7
18-jul	SF	1.2	0.0	1.2
20-jul	SF	1.2	0.5	0.7
25-jul	SF	1.2	0.0	1.2
27-jul	SF	1.2	0.1	1.1
01-aoû	SF	0.9	0.0	0.9
03-aoû	SF	1.2	0.5	0.7
08-aoû	SF	0.9	0.0	0.9
10-aoû	SF	0.8	0.5	0.3
17-aoû	SF	1.5	0.4	1.1
22-aoû	SF	1.2	0.1	1.1
24-aoû	SF	1.2	0.2	1.0
29-aoû	SF	1.2	0.2	1.0
31-aoû	SF	1.2	0.0	1.2
Total alimentation		46.4	18.0	28.4

Légende: F: frais  
D: décongelé  
  
S: sardines  
L: Lançons



## EVOLUTION DE POIDS DES GENITEURS

N° Bassin	Males				Femelles					
	N° géniteur	Poids initial (Kg)	Poids final (kg)	gain de poids (%)	Gain de poids moyen (%)	N° géniteur	Poids initial (Kg)	Poids final (kg)	gain de poids (%)	Perte de poids moyen (%) femelles ovulantes
Bassin 2 prémix	13	2.0	2.1	5.0	4.7 2.6 (se)	A18	3.2	3.2	0.0	9.6 4.2 (se)
	18	2.4	2.7	12.5		10A	4.0	4.1	2.5	
	12	2.9	2.7	-6.9		12A*	4.0	4.5	12.5	
	5	3.6	3.8	5.6		A26*	4.4	3.8	-13.6	
	22	3.6	4.1	13.9		Z20	4.9	4.3	-12.2	
	8	4.4	4.9	11.4		A16	5.6	4.9	-12.5	
	15	4.1	4.3	4.9		20Z	6.2	4.6	-25.8	
	5Z	5.2	5.4	3.8						
21	6.6	6.1	-7.6							
Bassin 4 témoin	7	2.0	2.4	20.0	7.6 2.6 (se)	A	3.0	2.7	-10.0	9.1 2.1 (se)
	23	2.3	2.5	8.7		A34	3.5	3.2	-8.6	
	3	3.1	3.3	6.5		8Z*	4.0	3.9	-2.5	
	43	3.6	3.7	2.8		A30	4.1	3.4	-17.1	
	15	4.1	4.0	-2.4		2A	4.2	3.6	-14.3	
	3Z	4.2	4.5	7.1		A14	4.3	3.9	-9.3	
	Z7	6.7	7.4	10.4		A20	4.5	4.5	0.0	
						51	6.6	5.8	-12.1	
				A32	6.2	6.1	-1.6			
				10Z**	6.5					
Bassin 5 témoin	21	2.1	2.4	14.3	7.2 4.3 (se)	A36	3.6	3.5	-2.8	7.5 1.9 (se)
	24	2.8	3.0	7.1		I4	4.0	3.8	-5.0	
	23	3.2	2.8	-12.5		A0	4.6	4.0	-13.0	
	14	3.4	4.1	20.6		28A	4.7	4.7	0.0	
	Mâle	4.3	5.3	23.3		6A	4.9	4.3	-12.2	
	17	4.5	4.8	6.7		Z18*	5.9	5.5	-6.8	
	Z1	4.6	4.5	-2.2		A28	6.5	5.8	-10.8	
	7	5.0	5.0	0.0		12Z	7.9	7.2	-8.9	
Bassin 7 prémix	0	2.9	2.9	0.0	7.4 4.7 (se)	16A*	3.8	4.7	23.7	9.8 4.2 (se)
	28	3.5	3.8	8.6		A22*	4.1	3.5	-14.6	
	1Z	4.0	5.2	30.0		18A	4.6	3.9	-15.2	
	111	4.2	4.3	2.4		A24	4.9	5.0	2.0	
	25	4.3	3.9	-9.3		I22	5.0	4.6	-8.0	
	37	4.3	4.9	14.0		Z10	5.8	4.5	-22.4	
	57	4.9	5.2	6.1		18Z	7.3	6.9	-5.5	
						32A**	7.0			

\* : Femelle n'ayant pas ovulé

\*\* : Femelle morte

(se) : erreur standard

## PRODUCTIVITE DES FEMELLES

Traitement	Bassin n°	Femelle n°	Poids femelle (kg)	Date de la 1ère ponte	Date de la dernière ponte	Durée de ponte (j)	Nombre de pontes	Nombre total d'oeuf	Nombre total d'oeuf/kg	Nombre total d'oeuf/bassin
Prémix	2	A18	3.22	26-jul	23-aoû	29	12	219000	68012	5485000
		10A	3.98	14-aoû	28-aoû	15	3	96000	24121	
		12A*	4.02							
		A26*	4.36							
		A16	5.56	28-jul	07-aoû	11	4	437000	78597	
		Z20	4.86	15-aoû	29-aoû	15	7	987000	203086	
		20Z	6.2	07-jun	09-aoû	64	20	3746000	604194	
	7	16A*	3.8							13628000
		A22*	4.1							
		18A	4.58	19-jun	07-aoû	50	18	3103000	677511	
		A24	4.92	17-jul	01-aoû	16	9	856000	173984	
		32A**	7.04	10-jul	21-jul	12	6	811000	115199	
		Z10	5.76	03-jul	24-aoû	53	22	5360000	930556	
		18Z	7.3	10-aoû	21-aoû	12	5	314000	43014	
I22	4.98	26-jun	07-aoû	43	19	3184000	639357			
Témoin	4	A	3.04	23-aoû	11-sep	20	6	855000	281250	10485000
		A34	3.48	15-aoû	11-sep	28	11	1779000	511207	
		A30*	4.06							
		2A	4.22	15-aoû	03-sep	20	4	219000	51896	
		A14	4.28	02-aoû	23-aoû	22	7	556000	129907	
		A20	4.52	21-jul	18-sep	60	20	3275000	724558	
		A32	6.24	20-jul	28-aoû	40	18	3265000	523237	
		8Z*	4							
	51	6.62	17-aoû	17-aoû	1	1	252000	38066		
	10Z**	6.46	07-aoû	07-aoû	1	1	284000	43963		
	5	A36	3.58	15-aoû	05-sep	22	7	336000	93855	10944000
		A0	4.6	17-jul	22-aoû	37	9	508000	110435	
		28A	4.68	28-jul	31-jul	4	2	196000	41880	
		6A	4.9	26-jun	21-aoû	57	22	3086000	629796	
A28		6.52	26-jun	07-aoû	43	14	2179000	334202		
Z18*		5.9								
12Z		7.88	07-aoû	28-aoû	22	9	2470000	313452		
I4	3.96	07-jun	24-jul	48	17	2169000	547727			

\* : femelle non ovulante.

\*\* : femelle morte.



## TAILLES DES OEUFES ET DES GLOBULES LIPIDIQUES

Traitement	Bassin	N° femelle	Date fécondation	Rang de ponte	Tailles (mm)		
					Ovules	Globules lipidiques	
Prémix	2	20z	28/06/1995	10	1.10	0.18	
			09/08/1995	19	1.02	0.18	
		a18	26/07/1995	1	1.05	0.20	
			03/08/1995	3	1.06	0.20	
		Z20	23/08/1995	5	1.01	0.18	
	7	18a	29/06/1995	6	1.08	0.19	
			18z	10/08/1995	1	1.08	0.18
				17/08/1995	3	1.09	0.18
		a24	27/07/1995	6	1.08	0.18	
			i22	28/06/1995	2	1.05	0.18
		06/07/1995		4	1.05	0.18	
		20/07/1995		10	1.02	0.18	
		27/07/1995		13	0.98	0.18	
		02/08/1995		16	0.98	0.18	
		z10	02/08/1995	14	1.00	0.18	
			17/08/1995	19	0.97	0.17	
			24/08/1995	21	0.95	0.17	
témoin	4	A	23/08/1995	1	1.07	0.19	
			31/08/1995	5	1.06	0.19	
		a14	02/08/1995	2	1.21	0.19	
			a20	27/07/1995	3	1.12	0.18
		24/08/1995		13	1.09	0.18	
		31/08/1995		18	1.07	0.18	
		a32	02/08/1995	7	1.07	0.18	
			10/08/1995	11	1.04	0.18	
			23/08/1995	16	1.04	0.18	
		a34	16/08/1995	2	1.19	0.18	
	31/08/1995		9	1.07	0.20		
	5	12z	09/08/1995	2	1.06	0.18	
			16/08/1995	5	1.03	0.18	
			23/08/1995	7	1.04	0.18	
		6a	28/06/1995	2	1.10	0.18	
			05/07/1995	4	1.08	0.21	
			19/07/1995	9	1.05	0.21	
			10/08/1995	19	0.94	0.18	
			16/08/1995	21	0.93	0.18	
		a28	29/06/1995	2	1.15	0.21	
02/08/1995			11	1.04	0.19		
i4	28/06/1995	9	1.14	0.18			
	05/07/1995	11	0.98	0.18			

## RESULTATS DE VIABILITE ET DE FECONDATION

Traitement	Bassin	N° femelle	Date	Taux de viabilité	Taux de fécondation				
					1er réplikat	2ème réplikat	3ème réplikat	moyenne	Erreur standard
Prémix	2	20z	28/06/1995	79.6	23.8	1.8	10.7	12.1	3.7
			06/07/1995	79.1	25.0	24.3	26.7	25.3	0.4
			09/08/1995	92.9	37.9	31.7	51.1	40.2	3.3
		a18	26/07/1995	83.9	90.0	76.4	93.8	86.7	3.1
			03/08/1995	95.9	90.0	89.8	92.2	90.7	0.5
	Z20	23/08/1995	85.6	63.0	61.0	71.6	65.2	1.9	
	7	18a	29/06/1995	80.4	59.0	49.0	43.2	50.4	2.7
			13/07/1995	88.6	65.1	64.7	56.5	62.1	1.6
		18z	10/08/1995	81.3	47.9	48.0	40.9	45.6	1.4
			17/08/1995	86.1	72.8	76.5	64.8	71.4	2.0
		a24	27/07/1995	92.6	72.0	67.6	67.8	69.1	0.8
		i22	28/06/1995	75.1	60.4	68.3	72.7	67.2	2.1
			06/07/1995	85.2	72.8	66.4	75.3	71.5	1.5
			13/07/1995	81.1	52.1	49.3	42.2	47.9	1.7
			20/07/1995	82.0	62.7	65.4	61.9	63.3	0.6
			27/07/1995	84.2	76.8	71.6	69.6	72.7	1.2
	z10	02/08/1995	86.4	70.7	70.2	67.6	69.5	0.6	
		02/08/1995	81.1	70.0	70.8	72.8	71.2	0.5	
		17/08/1995	84.4	86.9	72.3	73.5	77.6	2.7	
			24/08/1995	94.4	73.2	64.6	71.8	69.9	1.5
témoin	4	A	23/08/1995	82.7	58.9	55.7	60.1	58.2	0.8
			31/08/1995	96.8	76.2	82.4	78.2	78.9	1.1
		a14	02/08/1995	91.2	51.3	54.6	45.9	50.6	1.5
		a20	27/07/1995	80.8	54.6	54.8	55.6	55.0	0.2
			24/08/1995	89.1	71.4	73.9	69.1	71.5	0.8
			31/08/1995	83.9	48.5	45.8	67.5	53.9	3.9
		a32	02/08/1995	78.0	76.5	72.7	72.9	74.0	0.7
			10/08/1995	85.2	71.2	82.5	75.4	76.4	1.9
		a34	23/08/1995	82.2	72.3	75.2	77.0	74.9	0.8
			16/08/1995	86.2	30.5	33.3	30.6	31.5	0.5
			31/08/1995	91.5	81.3	80.1	82.8	81.4	0.5
	5	12z	09/08/1995	95.1	89.9	89.4	90.6	89.9	0.2
			16/08/1995	82.7	79.7	70.7	79.7	76.7	1.7
			23/08/1995	80.1	80.8	82.5	79.1	80.8	0.6
		6a	28/06/1995	82.1	20.7	16.5	14.2	17.1	1.1
			05/07/1995	82.4	34.0	31.4	32.9	32.8	0.4
			12/07/1995	76.5		44.2		44.2	
			19/07/1995	83.5	27.1	24.5	18.9	23.5	1.4
			10/08/1995	78.6	60.3	67.0	78.2	68.5	3.0
			16/08/1995	87.4	68.8	76.2	73.8	72.9	1.2
		a0	19/07/1995	87.8	29.4	15.7	26.7	23.9	2.4
			27/07/1995	78.7	32.5	28.4	11.9	24.3	3.6
		a28	29/06/1995	76.7	57.3	52.8	50.8	53.7	1.1
			12/07/1995	84.3	78.3	80.0	79.6	79.3	0.3
			02/08/1995	88.1	58.0	55.9	52.8	55.6	0.9
		i4	28/06/1995	85.3	60.5	57.7	50.0	56.0	1.8
			05/07/1995	82.4	69.2	85.7	77.4	77.4	2.8
			20/07/1995	83.5	49.0	54.2	56.3	53.2	1.2



## RESULTATS DE DIVISION CELLULAIRE

Traitement	Bassin	N° femelle	Date fec.	Division cellulaire										
				Pourcentage d'oeufs au stade 8					Pourcentage de "bonnes" divisions					
				1er réplcat	2ème réplcat	3ème réplcat	moyenne	Erreur standard	1er réplcat	2ème réplcat	3ème réplcat	moyenne	Erreur standard	
Prémix	2	20z	28/06/1995	85.5	100.0	90.5	92.0	4.3	20.0	0.0	28.6	16.2	4.9	
			06/07/1995	86.2	92.2	98.2	92.2	3.5	1.7	3.0	1.8	2.2	0.2	
			09/08/1995	58.4	80.0	85.8	74.8	8.3	7.9	4.6	9.7	7.4	0.9	
		a18	26/07/1995	100.0	99.4	98.6	99.3	0.4	2.2	0.6	1.2	1.3	0.3	
			03/08/1995	98.2	98.8	100.0	99.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	Z20	23/08/1995	56.0	13.3	53.1	40.8	13.8	0.9	2.3	0.5	1.3	0.3		
	7	18a	29/06/1995	95.2	84.8	86.9	89.0	3.2	7.2	9.3	6.9	7.8	0.4	
			13/07/1995	99.4	98.6	98.4	98.8	0.3	0.0	2.8	1.7	1.5	0.5	
		18z	10/08/1995	0.0	46.2	98.8	48.3	28.5	1.3	0.0	1.2	0.8	0.2	
			17/08/1995	99.4	92.2	97.2	96.3	2.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
		a24	27/07/1995	80.3	99.4	96.5	92.1	5.9	5.4	2.8	0.7	3.0	0.8	
			i22	28/06/1995	93.4	95.9	94.2	94.5	0.8	2.9	4.9	2.5	3.4	0.4
		06/07/1995		95.2	97.0	96.4	96.2	0.5	2.4	0.6	0.0	1.0	0.4	
		13/07/1995		97.3	94.6	96.1	96.0	0.8	0.0	1.2	2.6	1.3	0.4	
		20/07/1995		89.2	98.0	92.7	93.3	2.6	0.9	0.2	0.6	0.6	0.1	
		z10	02/08/1995	98.5	98.7	100.0	99.0	0.5	0.5	0.5	0.0	0.3	0.1	
	02/08/1995		97.8	99.6	100.0	99.1	0.7	25.6	8.4	0.0	11.3	4.3		
	17/08/1995		100.0	100.0	100.0	100.0	0.0	0.4	0.0	0.0	0.1	0.1		
	4	a14	24/08/1995	96.8	96.7	94.7	96.1	0.7	0.5	2.8	0.4	1.2	0.5	
			A	23/08/1995	23.5	13.6	61.9	33.0	14.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
témoin	4	a20	02/08/1995	100.0	100.0	97.0	99.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
			27/07/1995	37.5	16.4	5.4	19.8	9.4	6.7	5.1	7.6	6.4	0.4	
		a32	24/08/1995	100.0	100.0	96.1	98.7	1.3	1.9	0.0	1.7	1.2	0.4	
			02/08/1995	99.2	100.0	95.9	98.4	1.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
		a34	10/08/1995	100.0	100.0	100.0	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
			23/08/1995	95.9	96.0	100.0	97.3	1.4	1.5	0.0	0.9	0.8	0.3	
	5	12z	16/08/1995	16/08/1995	33.3	55.9	33.3	40.9	7.5	5.9	0.0	4.2	3.4	1.0
			09/08/1995	89.9	89.4	90.6	89.9	0.4	0.0	0.0	4.4	1.5	0.8	
			23/08/1995	95.7	99.5	100.0	98.4	1.3	7.1	4.0	0.0	3.7	1.2	
		6a	28/06/1995	7.6	11.1	3.3	7.3	2.2	9.4	11.1	10.0	10.2	0.3	
			12/07/1995		5.1		5.1			5.1		5.1		
			19/07/1995	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	32.7	38.5	7.7	26.3	5.4	
			10/08/1995	98.4	99.5	98.5	98.8	0.3	0.0	1.6	0.4	0.6	0.3	
		a0	16/08/1995	93.7	74.0	89.3	85.6	6.0	0.0	1.0	1.7	0.9	0.3	
19/07/1995	0.0		0.0	0.0	0.0	0.0	2.7	2.9	0.0	1.9	0.5			
a28	27/07/1995	100.0	27.0	60.0	62.3	21.1	1.6	3.5	2.5	2.5	0.3			
	29/06/1995	83.1	84.1	89.3	85.5	1.9	4.8	3.5	3.9	4.1	0.2			
	12/07/1995	98.7	99.2	100.0	99.3	0.4	4.1	1.4	0.9	2.1	0.6			
i4	02/08/1995	99.4	100.0	94.9	98.1	1.6	0.0	0.0	1.0	0.3	0.2			
	28/06/1995	82.2	95.1	97.2	91.5	4.7	15.9	5.6	0.9	7.5	2.6			
		20/07/1995	95.3	98.2	95.1	96.2	1.0	1.4	0.0	0.0	0.5	0.3		

## RESULTATS D'INCUBATION I

Traitement	Bassin	N° femelle	Date fec.	Incubateurs d'expérimentation						
				Durée d'incubation		T°C		Ecllosion		
				Heure	Heure degré	Moyenne	Ecart type	Eclos	Mortalités	% éclosion
Prémix	2	a18	26/07/1995	115.4	1534.7	13.9	0.0	1736	215	89.0
			03/08/1995	115.6	1535.3	13.9	0.2	1501	179	89.3
		Z20	23/08/1995							0.0
	7	18a	29/06/1995	103.6	1429.1	14.6	0.4	695	1337	34.2
			13/07/1995	113.1	1518.9	14.0	0.2	1412	761	65.0
		18z	17/08/1995	111.8	1499.7	14.0	0.2	1189	436	73.2
		a24	27/07/1995	113.4	1502.3	13.8	0.1	1219	672	64.5
		i22	28/06/1995	107.7	1499.9	14.7	0.3	1094	743	59.6
			06/07/1995	112.6	1518.8	14.1	0.5	1116	413	73.0
			13/07/1995	105.0	1407.8	14.1	0.2	859	674	56.0
			20/07/1995	112.1	1497.9	14.0	0.2	1484	587	71.7
			27/07/1995	110.7	1470.2	13.9	0.1	1471	230	86.5
			02/08/1995	108.1	1452.4	13.8	0.2	2256	553	80.3
		z10	02/08/1995	119.2	1581.0	13.9	0.2	1996	511	79.6
			17/08/1995	117.7	1581.0	14.0	0.2	2026	790	71.9
24/08/1995	115.1		1509.0	13.7	0.2	1793	337	84.2		
témoin	4	A	23/08/1995							0.0
			31/08/1995	125.0	1614.7	13.8	0.2	1608	454	78.0
		a20	27/07/1995	107.1	1420.2	13.9	0.1	807	761	51.5
			24/08/1995	120.8	1585.7	13.7	0.2	834	1163	41.8
			31/08/1995	120.5	1695.4	13.8	0.1	961	829	53.7
		a32	02/08/1995	119.6	1579.8	13.8	0.2	1533	392	79.6
			10/08/1995	116.1	1537.6	13.9	0.2	1678	379	81.6
	23/08/1995		116.0	1532.2	13.8	0.2	1703	480	78.0	
	5	12z	09/08/1995	108.6	1456.3	14.1	0.2	1730	296	85.4
			16/08/1995	116.3	1557.1	14.0	0.2	1111	527	67.8
			23/08/1995	117.0	1540.3	13.8	0.3	1126	448	71.5
		6a	10/08/1995							0.0
			16/08/1995	116.6	1560.2	14.0	0.2	2042	588	77.6
		a28	29/06/1995	104.3	1451.9	14.5	0.5	1062	928	53.4
			12/07/1995	105.6	1417.7	14.1	0.2	1365	277	83.1
			02/08/1995	115.7	1534.9	14.1	0.3	1471	704	67.6
		i4	28/06/1995	104.3	1461.2	14.6	0.3	1125	854	56.8
			05/07/1995	102.9	1379.0	13.9	0.4	1149	634	64.4
20/07/1995			118.2	1578.8	14.0	0.2	1518	698	68.5	



## RESULTATS D'INCUBATION II

Traitement	Bassin	N° femelle	Date fécondation	Incubateurs de production				
				Durée d'incubation		T°C		Mortalité
				Heure	Heure degré	Moyenne	Ecart type	
Prémix	2	a18	26/07/1995	132.4	1678.0	13.2	0.1	7.5
			03/08/1995	117.4	1566.5	14.1	1.3	69.5
	7	18a	29/06/1995	126.6	1633.3	13.3	0.3	23.5
		18z	17/08/1995	128.4	1657.6	13.4	0.1	29.5
		i22	28/06/1995	127.7	1652.5	13.5	0.3	14.8
			06/07/1995					30.3
			13/07/1995	127.9	1653.2	13.5	0.1	29.1
			20/07/1995	129.5	1662.1	13.4	0.2	30.8
			27/07/1995	126.5	1600.6	13.2	0.1	29.4
		02/08/1995	129.5	1686.7	13.5	0.4	54.5	
	z10	24/08/1995	133.5	1692.3	13.2	0.1	37.9	
témoin	4	A	31/08/1995	129.3	1652.3	13.3	0.1	21.1
		a20	27/07/1995	126.4	1612.0	13.3	0.2	66.8
			24/08/1995	133.1	1687.7	13.2	0.1	36.5
		a32	31/08/1995	140.7	1803.8	13.3	0.1	81.1
			10/08/1995	108.5	1427.5	13.8	1.0	26.0
		23/08/1995	133.5	1698.0	13.2	0.1	28.4	
	a34	31/08/1995					100.0	
	5	12z	09/08/1995	120.8	1532.9	13.2	0.1	22.8
			16/08/1995					50.5
			23/08/1995	131.6	1672.7	13.2	0.1	26.5
		6a	10/08/1995					100.0
		a28 i4	29/06/1995	124.7	1608.3	13.4	0.3	31.2
			12/07/1995	128.2	1674.5	13.6	0.2	27.7
28/06/1995							59.6	
05/07/1995						36.1		

## RESULTATS DE SURVIE A JEUN

Traitement	Bassin	N° femelle	Date fec.	Mortalités à jeûn								
				Temps de 50% de mortalité (heure)					Tps 50% mort. en h°C	Température		
				1er réplikat	2ème réplikat	3ème réplikat	Moyenne	Ecart type		Moyenne	Ecart type	
Prémix	2	a18	26/07/1995	131.6	135.1	132.2	133.0	0.6	2345.1	17.6	1.2	
			03/08/1995	96.6	109.1	124.2	110.0	4.6	1928.5	17.5	1.4	
	7	18a	29/06/1995	109.6	121.7	124.5	118.6	2.6	2069.7	17.4	1.3	
			13/07/1995	121.2	118.8	141.2	127.0	4.1	2216	17.4	1.1	
		18z	17/08/1995	126.3	140.2	138.9	135.1	2.5	2377.5	17.6	1.0	
			a24	27/07/1995	126.1	126.5	131.1	127.9	0.9	2253.8	17.6	1.2
		i22	28/06/1995	120.8	117.2	125.6	121.2	1.4	2123	17.5	1.1	
			06/07/1995	137.1	128.2	128.5	131.3	1.7	2289.6	17.5	1.0	
			13/07/1995	131.2	116.5	137.8	128.5	3.6	2239.7	17.4	1.2	
			20/07/1995	118.0	119.4	127.7	121.7	1.8	2134.6	17.5	1.2	
			27/07/1995	115.9	120.4	115.3	117.2	0.9	2054.7	17.6	1.3	
			02/08/1995	105.0	105.0	95.9	102.0	1.7	1784.5	17.5	1.3	
			z10	02/08/1995	98.4	118.7	120.6	112.6	4.1	1983.8	17.6	1.3
				17/08/1995	117.4	118.3	105.4	113.7	2.4	1985.5	17.4	1.2
		24/08/1995	123.2	139.5	103.9	122.2	5.9	2103.2	17.4	1.3		
témoin	4	A	31/08/1995	129.0	139.5	148.1	138.9	3.2	2425.9	17.5	1.1	
			27/07/1995	137.9	150.6	154.3	147.6	2.9	2613.3	17.7	1.1	
		a20	24/08/1995	143.5	140.0	141.2	141.5	0.6	2459.2	17.4	1.2	
			31/08/1995	140.6	152.8	151.0	148.1	2.2	2586.1	17.5	1.1	
			02/08/1995	121.0	127.9	120.7	123.2	1.4	2163	17.6	1.3	
			10/08/1995	124.6	127.5	134.2	128.7	1.6	2301.4	17.8	1.4	
	a32	23/08/1995	131.3	131.4	131.0	131.2	0.1	2281.2	17.4	1.2		
		31/08/1995	136.9	140.5	144.1	140.5	1.2	2443.7	17.5	1.1		
	5	12z	09/08/1995	111.1	135.4	110.6	119.0	4.7	2104.2	17.7	1.2	
			16/08/1995	134.2	130.8	119.7	128.2	2.5	2245.7	17.5	1.2	
			23/08/1995	125.1	142.7	134.8	134.2	2.9	2334.6	17.4	1.2	
		6a	16/08/1995	127.0	126.8	123.8	125.9	0.6	2210.8	17.5	1.2	
			29/06/1995	105.6	109.2	122.6	112.5	3.0	1966	17.4	1.3	
		a28	12/07/1995	139.3	141.4	140.8	140.5	0.4	2442.4	17.4	1.1	
			02/08/1995	124.7	132.8	140.0	132.5	2.6	2345.6	17.6	1.2	
			28/06/1995	89.3	71.6	84.4	81.8	3.0	1411.1	17.2	1.4	
		i4	05/07/1995	139.2	138.0	129.1	135.4	1.8	2366.4	17.5	1.0	
			20/07/1995	118.1	122.8	130.9	123.9	2.2	2170.6	17.5	1.2	



## **BIBLIOGRAPHIE**

## BIBLIOGRAPHIE :

- \* **BARTON L.A., 1981.** Egg quality of turbot (*Scophthalmus maximus*) kept in captive conditions. Thesis of philosophy of the university of Liverpool. 129pp.
- \* **BRANDT T.M., 1985.** Alternate source of vitamin C for channel catfish. *Prog. Fish-Cult.*, 47 (1): 55-59.
- \* **CALUWE J., LAVENS P. AND SORGELOOS P., 1995.** The influence of *Macobranchium rosenbergii* broodstock diet on egg and larval characteristics. Lavens P., Jaspers E. and Roelants I. Eds. Fish and Shellfish Larviculture Symposium, september 3-7 1995, Gent, Belgium. *European Aquaculture Society Special Publication*, 24: 79-82.
- \* **CARILLO M., ZANUY S., PRAT F., CERDA J., RAMOS J., MANANOS E. AND BROMAGE N., 1995.** Sea bass (*Dicentrarchus labrax*). In broodstock management and egg and larval quality. Bromage R. and Roberts J. Eds: 138-168.
- \* **CERDA J., CARILLO M., ZANUY S. AND RAMOS J., 1994.** Effect of food ration on estrogen and vitellogenin plasma levels, fecundity and larval survival in captive sea bass, *Dicentrarchus labrax*: preliminary observations. *Aquatic Living Ressources*, 7: 255-266.
- \* **CERDA J., CARILLO M., ZANUY S., RAMOS J. AND DE LA HIGUERA M., 1994.** Influence of nutritional composition of diet on sea bass, *Dicentrarchus labrax* L., reproductive performance and egg and larval quality. *Aquaculture*, 128 : 345-361.
- \* **CHAUCHADIS D., 1993.** Influence de la température sur le développement embryonnaire du Turbot. Rapport de stage 3ème année ESAP. 44pp.
- \* **CHUBERT G., 1986.** Carotenoid pigments and reproduction of fish. *Bulletin Français pour la Pêche et la Pisciculture*, 300 : 25-32.
- \* **CRAIK J.C.A., 1985.** Egg quality and egg pigment content in salmonid fishes. *Aquaculture*, 47: 61-88.
- \* **DEUFEL J., 1965.** Pigmentierungsversuche mit Cathaxanthin bei Regenbogenforellen. *Arch. Fischereiwiss.*, 16 : 125-132.
- \* **DEVAUCHELLE N. ET CLADAS Y., 1982.** Influence de la taille, du poids et du taux d'humidité d'oeufs de trois espèces de poissons marins sur les taux d'éclosion et d'anormalités des larves. International Council for the Exploration of the Sea, Comité 1982/F: p19.
- \* **DEVAUCHELLE N., ALEXANDRE J.C., CORRE N.L. AND LETTY Y., 1988.** Spawning of turbot (*Scophthalmus maximus*) in captivity. *Aquaculture*, 69: 159-184.
- \* **FAUVEL C., OMNES M.H., SUQUET M. AND NORMAND Y., 1992.** Enhancement of the production of turbot, *Scophthalmus maximus* (L.), larvae by controlling overripening in mature females. *Aquaculture Fisheries Management*, 23 : 209-216.
- \* **FAUVEL C., OMNES M.H., MUGNIER C, NORMANT Y., DORANGE G. ET SUQUET M., 1993.** La reproduction du turbot - Aspects biologiques et gestion des reproducteurs. *La Pisciculture Française*, 112: 23-38.
- \* **FERRARO S.P., 1980.** Daily time of spawning of twelve fishes in the Peconic Bays, New-York. *U.S. Natural Fisheries Bulletin*, 78: 455-464.



- \* **FUKUHARA O., 1990.** Effects of temperature on yolk utilization, initial growth, and behaviour of unfed marine fish larvae. *Marine Biology*, 106: 169-174.
- \* **GAUMET F., 1994.** Contribution à l'étude des capacités d'adaptation au milieu et de croissance chez le turbot (*Scophthalmus maximus*) en fonction des facteurs écologiques, salinité et température. Thèse de sciences biologiques de l'Université de Rennes I. 190pp.
- \* **GORYCZKO K. AND TOMASIK L., 1975.** An influence of males on the viability and fertilization degree of trout eggs. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 5 (1): 3-12.
- \* **HAREL M., TANDLER A., KISSIL G. AND APPELBAUM S., 1994.** The kinetics of nutrient incorporation into body tissues of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) females and the subsequent effects on egg composition and egg quality. *British Journal of Nutrition*, 72 : 45-58.
- \* **HARRIS L.E., 1984.** Effects of a broodfish diet fortified with canthaxanthin on female fecundity and egg color. *Aquaculture*, 43: 179-183.
- \* **HILTON J.L., CHO C.Y. AND SLIGER S.T., 1977.** Factors affecting the stability of supplemental ascorbic acid in practical trout diets. *Journal of Fisheries Research Board of Canada*, 34: 683-687.
- \* **IGLESIAS J., RODIGES-OJEA G. AND PELETEIRO J.B., 1991.** Effect of light and temperature on the development of turbot eggs (*Scophthalmus maximus* L.). International Council for the Exploration of the Sea, Mariculture Committee 1991/F: p19.
- \* **JERROLD H.Z., 1984.** Biostatistical analysis - second edition. Prentice Hall International Editions. 718 pp.
- \* **KING J., HARDY R.W. AND HALVER J.E., 1983.** The effect of dietary vitamin E on the distribution of  $\alpha$ -tocopherol in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) during ovarian maturation. Abstract of the International Symposium of Salmonid Reproduction, July 2-8 1995, Seattle, Washington. p24.
- \* **KJORSVIK E., MANGOR-JENSEN A. AND HOMEFJORD I., 1990.** Egg quality in fishes. *Advances in Marine Biology* 26 : 71-113.
- \* **KWAIN W.H., 1975.** Effects of temperature on development and survival of rainbow trout, *Salmo gairdneri*, in acid waters. *Journal of Fisheries Research Board of Canada*, 32: 493-497.
- \* **LUQUET P. AND WATANABE T., 1986.** Interaction "nutrition-reproduction" in fish. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2 : 121-129..
- \* **MANGOR-JENSEN A., HOLM J.C., ROSEN LUND G., LIE O. AND SANDNES K., 1994.** Effects of dietary vitamin C on maturation and egg quality of Cod *Gadus morhua* L.. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2 : 30-40.
- \* **MARINO G., BOGLIONE C., FINIOA M.G., BRONZI P., MONACO G., BERTOLINI B. AND CATAUDELLA S., 1991.** Effects of incubation temperature on embryonic development and hatching of *Dicentrarchus labrax* (L.) eggs. Lavens P., Sorgeloos E., Jaspers E. and Ollevier F. Eds. Fish and Crustacean Larviculture Symposium, Gent, Belgium. *European Aquaculture Society Special Publication*, 15: 230-232.
- \* **MC EVOY L.A., 1984.** Ovulatory rhythms and over-ripening of eggs in cultivated turbot *Scophthalmus maximus* L.. *Journal of Fish Biology*, 24 : 437-448.
- \* **MC EVOY L.A., 1989.** Reproduction of turbot (*Scophthalmus maximus*) in captivity. Seminario de Estudos Galegos, Cuadernos da Area de Ciencias Marinas, 3: 9-28.



- \* **MC EVOY L.A. AND MC EVOY J., 1991.** Size fluctuation in the eggs and newly hatched larvae of captive turbot (*Scophthalmus maximus*). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 71: 679-690.
- \* **MIKI W., YAMAGUCHI K., KONOSU S., AND WATANABE T., 1984.** Metabolism of dietary carotenoids in eggs of red sea bream. *Comparative Biochemistry and Physiology B*, 71 (4): 665-668.
- \* **NOGUERRA B., 1994.** Evaluation de la qualité des oeufs et des larves de turbot (*Scophthalmus maximus* L.), mise au point d'un test discriminant de la qualité des larves. DAA Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes. 53pp.
- \* **NOMURA M., SAKAI K. AND TAKASHIMA F., 1974.** The over-ripening phenomenon of rainbow trout, I. Temporal morphological changes of eggs retained in the body cavity after ovulation. *Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries*, 40: 977-984.
- \* **NUTRITIONAL RESEARCH COUNCIL, 1993.** Nutrient requirements of fish. Committee on Animal Nutrition Board on Agriculture. 115pp.
- \* **PELETEIRO J.B., LAVENS P., RODRIGUEZ-OJEA G. AND IGLESIAS J., 1993.** Relationship between egg quality of various turbot (*Scophthalmus maximus* L.) broodstocks and its fatty acid content. International Council for the Exploration of the Sea, Mariculture Committee 1993. Poster 34: 11pp.
- \* **QUANTZ G., 1980.** Über den Einfluss von Carotenoidreichem Trockenfutter auf die Eibefruchtung der Regebogenforelle (*Salmo gairdneri* R.). *Arch. Fishereiwiss.*, 31 : 29-40.
- \* **QUANTZ G., 1985.** Use of endogeneous energy sources by larval turbot *Scophthalmus maximus*. *Transactions of American Fisheries Society*, 114: 558-563.
- \* **ROBB D., VÖLKER L., HORREX H. AND KESTIN S., 1995.** The effect of astaxanthin on the survival of eggs from atlantic salmon (*Salmo salar*). In the 5th International Symposium on Reproductive Physiology of Fish, july 2-9 1995, Austin Texas U.S.A.: 100-101.
- \* **ROBIN J. AND KAUSHIK S.J., 1994.** Nutrition and broodstock performance. AADCP, second Fish Nutrition Workshop, oct. 25-27 1994, Singapore. 10pp.
- \* **RUBION RINCON E.F., 1986.** Evolution de la composition en acides gras de l'ovocyte à la larve de turbot (*Psetta maxima* L.) en fonction du régime alimentaire des reproducteurs et des larves, ainsi que de la température d'incubation. Thèse d'Océanographie Biologique de l'Université de Bretagne Occidentale de Brest. 183pp.
- \* **SANDNES K. AND BRAEKKAN O.R., 1981.** Ascorbic acid and reproduction in fish. In Ascorbic acid in domestic animals. Wegger J., Tagwerker F.J. and Moustgaard J. Eds. The Royal Danish Agricultural Society, Copenhagen: 206-212.
- \* **SANDNES K., ULGENES Y., BRAEKKAN O.R. AND UTNE F., 1984.** The effect of ascorbic acid supplementation in broodstock feed on reproduction of rainbow trout (*salmo gairdneri*). *Aquaculture*, 43 : 167-177.
- \* **SANDNES K., 1991.** Vitamin C in fish nutrition - a review. *Fisk. Dir. Skr., Ser. Ernoering*, Vol. IV (1) : 3-32.
- \* **SEYMOUR E.A., 1981.** Gonada ascorbic acid and changes in level with ovarian development in the crucian carp *Carassius carassius* (L.). *Comparative Biochemistry and Physiology A*, 63: 447-453.
- \* **SHIELDS R.J., BROWN N.P. AND BROMAGE N.R., 1995.** The use of blastomere morphology as a predictive indicator of fish egg viability. Lavens P., Jaspers E. and Roelants I. Eds. Fish and Shellfish Larviculture Symposium, september 3-7 1995, Gent, Belgium. *European Aquaculture Society Special*



- \* **SHNAREVICH I.D. AND SACHNENKO E.G., 1972.** Influence of carotenoid content of eggs of brown and rainbow trout on development of young. *Biology Nauki (Moscow)*, 15 (12): 20-30.
- \* **SLOMINSKA I. AND GLUCHOWSKA E., 1994.** Quality parameters of common carp eggs and milt. Bordeaux Aquaculture' 1994. Bordeaux, France, March 23-25 1994: 168-169.
- \* **SOLIMAN A.K., JAUNCEY K. AND ROBERTS R.J., 1986.** The effect of dietary ascorbic acid supplementation on hatchability, survival rate and fry performance in *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Aquaculture*, 59 : 197-208.
- \* **SPRINGATE J.C.R. AND BROMAHE N.R., 1985.** Effects of egg size on early growth and survival in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Aquaculture*, 47: 163-172.
- \* **STRÜSSMANN C.A. AND TAKASHIMA F., 1989.** P.N.R., histology and morphometry of starved pejerrey *Odontheistes bonariensis* larvae. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 55 (2): 247-254.
- \* **SUQUET M., OMNES M.H., NORMANT Y. AND FAUVEL C., 1992.** Assessment of sperm concentration and motility in turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture*, 101: 177-185.
- \* **SUQUET M., GAINON J.L., QUEMENER L. AND NORMANT Y., 1995a.** Artificial insemination of turbot (*Scophthalmus maximus*) eggs: a procedure for experimental purposes. Lavens P., Jaspers E. and Roelants I. Eds. Fish and Shellfish Larviculture Symposium, september 3-7 1995. Gent, Belgium. *European Aquaculture Society Special Publication*, 24: 57-59.
- \* **SUQUET M., BILLARD R., COSSON J., NORMANT Y. AND FAUVEL C., 1995b.** Artificial insemination in turbot (*Scophthalmus maximus*): determination of the optimal sperm to egg ratio and time of gamete contact. *Aquaculture*, 133: 83-90.
- \* **TAKEUCHI M., ISHII S. AND OGISO T., 1981.** Effect of dietary vitamin E on growth, vitamin E distribution and mortalities of the fertilised eggs and fry in ayu *Plecoglossus altivelis*. *Bulletin of Tokai Registry of Fisheries Research Laboratory*, 104: 111-120.
- \* **TAKEUCHI T., TOYOTA M. AND WATANABE T., 1991.** Dietary value to red sea bream of artemia nauplii enriched with EPA and DHA. Abstracts of the Annual Meeting of Japanese Society of Scientific Fisheries, Tokyo. p 243.
- \* **TOMASIK L., 1973.** Specific and individual differences in motility between salmonid spermatozoa. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 31: 11-17.
- \* **TORRISSEN O.J., 1984.** Pigmentation of salmonids. Effect of carotenoids in eggs and start-feeding diet on survival growth rate. *Aquaculture*, 43:185-193.
- \* **WAAGBO R., THORSEN T. AND SANDNES K., 1989.** Role of dietary ascorbic acid in vitellogenesis in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, 80: 301-314.
- \* **WATANABE T., ARAKAWA T., KITAJIMA C., FUKUSH F. AND FUJITA S., 1978.** Nutritional quality of living feed from the view point of essential fatty acids for fish. *Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries*, 44 (1): 1223-1227.
- \* **WATANABE T., OHHASHI S., ITOH A., KITAJIMA C. AND NISHIMURA K., 1984a.** Effect of nutritional composition of diets on chemical components of red sea bream broodstock and eggs produced. *Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries*, 50 : 505-515.
- \* **WATANABE T., SATHOH S., TAKEUCHI T., YOSHIDA N., KITADA T. ET ARAKAWA T., 1984b.** Effect of broodstock diets on the spawning and quality of eggs of red sea bream. IX effective components of cuttle-fish meal and raw krill. American Meeting of Japanese Society of Scientific Fisheries,

october 1984, 20p.

- \* **WATANABE T., ARAKAWA T., KITAJIMA C. AND FUJITA S., 1984c.** Effect of nutritional quality of broodstock diets on reproduction of red sea bream. *Bulletin of Japanese Society for Scientific Fisheries*, 50 : 495-501.
- \* **WATANABE T., TAKEUSHI T., SAITO M. AND NISHIMURA K., 1984d.** Effect of low protein-high calory or essential fatty acid deficiency diet on reproduction of rainbow trout. *Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries*, 50 : 1207-1215.
- \* **WATANABE T., 1989.** Effect of broodstock diets on reproduction of fish. Advances in Tropical Aquaculture Tahiti, february 20 - march 4, 1989. Aquacop. Ifremer. Actes de Colloque, 9 : p 542.
- \* **WATANABE T., ISQUIERDO T., TAKEUCHI T., SATOH H. ET KITAJIMA C., 1989.** Comparison between eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid in terms of essential fatty acid efficiency in larval red sea bream. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 55: 1635-1640.
- \* **WATANABE T. AND KIRON V.,1995.** Red sea bream. In broodstock management and egg and larval quality. Bromage R. and Roberts J. Eds: 398-413.