

D-75



IFREMER  
Bibliothèque  
NANTES

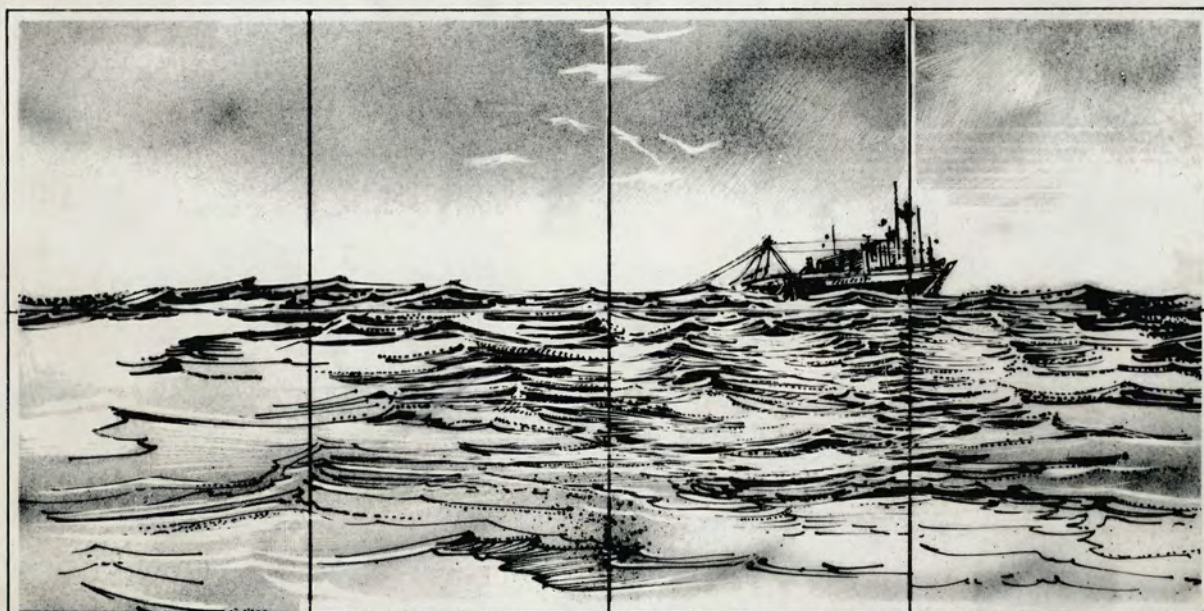
Publications du

# CENTRE NATIONAL POUR L'EXPLOITATION DES OCEANS



Actes de colloques

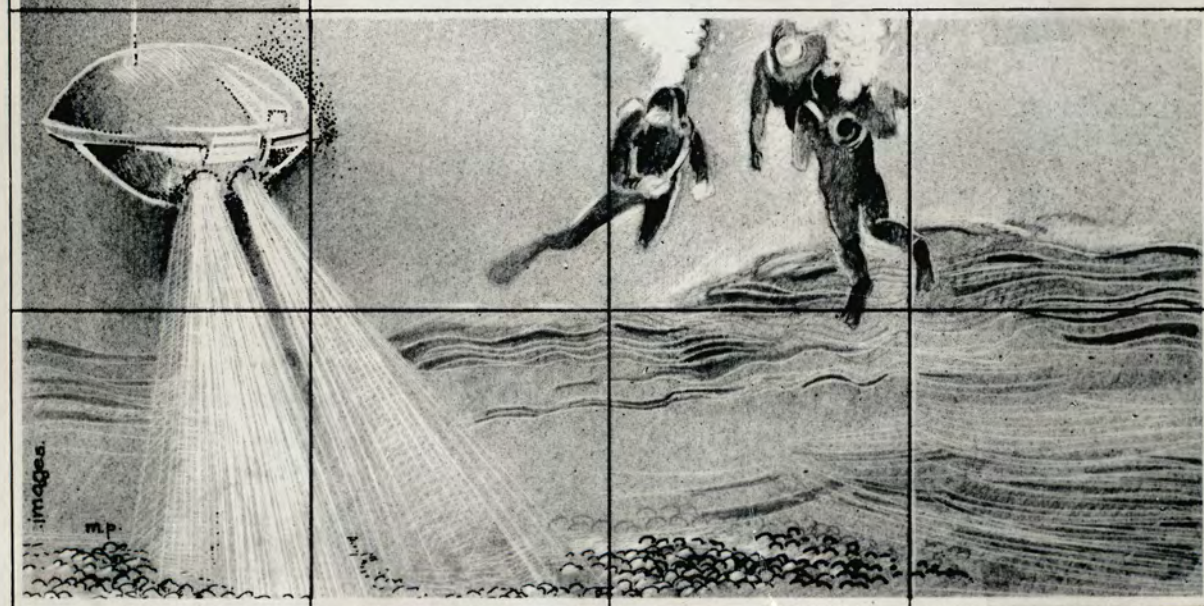
n°4 - 1977



## TROISIÈME RÉUNION DU GROUPE DE TRAVAIL DU C.I.E.M. SUR LA MARICULTURE

*THIRD MEETING OF THE I.C.E.S. WORKING GROUP ON MARICULTURE*

**BREST, France - 10-13 MAI 1977**





- Les Publications Scientifiques et Techniques du Centre National pour l'Exploitation des Océans (CNEXO) comportent les séries suivantes :

*The Scientific and Technical Publications of Centre National pour l'Exploitation des Océans (CNEXO) contain the following serials :*

- Rapports Scientifiques et Techniques - ISSN 0339-2899. 1971
- Rapports Economiques et Juridiques - ISSN 0339-2910. 1973
- Recueil des Travaux du Centre Océanologique de Bretagne - ISSN 0336-3112. 1972
- Résultats des Campagnes à la Mer - ISSN 0339-2902. 1971
- Actes de Colloques - ISSN 0335-8259. 1971

- Les travaux publiés dans ces séries sont analysés par :

*The works published in these serials are analysed by :*

- Aquatic Sciences and Fisheries Abstracts
- Bibliographie Géographique Internationale
- Biological Abstracts
- Bulletin Signalétique du C.N.R.S. - Informascience
- Chemical Abstracts
- Norois - Chronique Océanographique
- Hydrographische Bibliographie
- Oceanic Abstracts
- Oceanographic Abstracts and bibliography - Deep Sea Research
- Pollution Abstracts
- Underwater Information Bulletin
- Zoological Record

- Les demandes d'information et les commandes concernant toutes les publications scientifiques et techniques du CNEXO doivent être adressées à :

*The inquiries and orders which concern the whole of CNEXO scientific and technical publications have to be mailed to :*

SECTION DOCUMENTATION  
CENTRE OcéANOLOGIQUE DE BRETAGNE  
B.P. 337  
29273 BREST CEDEX

Les publications envoyées en échange doivent être expédiées à cette même adresse.

*The publications sent in exchange have to be forwarded to the same address.*



21 093





**PUBLICATIONS DU  
CENTRE NATIONAL POUR L'EXPLOITATION DES OCEANS  
(CNEXO)**

Actes de Colloques n° 4

**TROISIEME REUNION DU GROUPE DE TRAVAIL SUR LA MARICULTURE  
DU CONSEIL INTERNATIONAL POUR L'EXPLORATION DE LA MER**

**METHODOLOGIE DES ELEVAGES LARVAIRES ET PRODUCTION  
EN MASSE DE JUVENILES D'ESPECES SUSCEPTIBLES DE MARICULTURE,  
EN VUE D'ELEVAGES CONTROLES ET DE REPEUPLEMENT DES MERS.**

**THIRD MEETING OF THE WORKING GROUP ON MARICULTURE  
OF THE INTERNATIONAL COUNCIL FOR THE EXPLORATION OF THE SEA**

**METHODOLOGY OF REARING BROOD STOCK AND THE MASS  
REARING OF JUVENILES OF MARICULTURE SPECIES  
FOR CONTROLLED FARMING AND OCEAN RANCHING**

BREST, France, 10-13 mai 1977

préparé par

Michel GIRIN et Klaus TIEWS

C.I.E.M. - I.C.E.S.



COMMISSION INTERNATIONALE  
DE L'ÉTUDE SCIENTIFIQUE DE LA MER  
(C.I.E.M.)

1974

TRAVAIL RÉVISÉ DE LA COMMISSION INTERNATIONALE DE L'ÉTUDE SCIENTIFIQUE DE LA MER  
DU COMITÉ INTERNATIONAL POUR L'ÉTUDE DE LA MER  
DANS LE CADRE DE L'ÉCHANGE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE  
ENTRE LES PAYS EN DÉVELOPPEMENT ET LES PAYS  
DE LA MER

TRAVAIL RÉVISÉ DE LA COMMISSION INTERNATIONALE DE L'ÉTUDE SCIENTIFIQUE DE LA MER  
DU COMITÉ INTERNATIONAL POUR L'ÉTUDE DE LA MER

Ce volume a été réalisé avec l'agrément du C.I.E.M.

TRAVAIL RÉVISÉ DE LA COMMISSION INTERNATIONALE DE L'ÉTUDE SCIENTIFIQUE DE LA MER  
DU COMITÉ INTERNATIONAL POUR L'ÉTUDE DE LA MER  
DANS LE CADRE DE L'ÉCHANGE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE  
ENTRE LES PAYS EN DÉVELOPPEMENT ET LES PAYS  
DE LA MER

et

la collaboration technique de Jocelyne LE GALL



## T A B L E

### INTRODUCTION.

Organisation et objectifs de la réunion/ <i>Organisation and objectives of the meeting</i> .....	I
Résumé des discussions/ <i>Summary of the discussions</i> .....	III-V
Conclusions et recommandations de la session publique/ <i>Conclusion and recommendations from the open session</i> .....	VII-IX
Installations aquacoles visitées/ <i>Aquaculture facilities visited</i> .....	XI
Liste des participants/ <i>List of participants</i> .....	XIII-XVII

### POISSONS MARINS (GENERAL)/MARINE FISH SPECIES IN GENERAL.

NASH, C.E. The breeding and cultivation of marine fish species for mariculture.	1- 10
ELLERTSEN, B., E. MOKSNESS, P. SOLEMDAL, S. TILSETH and V. ØIESTAD. Rearing of marine fish fry in ponds on the natural food production (résumé seulement/ <i>abstract only</i> ).....	11
GATESOUBE, F.J. et P. LUQUET. Recherche d'une alimentation artificielle adaptée à l'élevage des stades larvaires des poissons. I- Comparaison de quelques techniques destinées à améliorer la stabilité à l'eau des aliments.....	13- 20
SORGeloos, P., M. BAEZA-MESA, F. BENIJTS, E. BOSSUYT, E. BRUGGEMAN, C. CLAUS, G. PERSOONE, G. VAN DE PUTTE and D. VERSICHELLE. The use of the brine shrimp, <i>Artemia salina</i> , in aquaculture.....	21- 25

### POISSONS MARINS PLATS/MARINE FLATFISH.

KINGWELL, S.J., M.C. DUGGAN and J.E. DYE. Large scale handling of the larvae of the marine flatfish turbot, <i>Scophthalmus maximus</i> L., and Dover sole, <i>Solea solea</i> L., with a view to their subsequent fattening under farming conditions...	27- 34
GIRIN, M., R. METAILLER et J. NEDELEC. Accoutumance de jeunes soles ( <i>Solea solea</i> ) à différents aliments inertes après achèvement de la métamorphose.....	35- 50
FONDS, M. and V.P. SAKSENA. The daily food intake of young soles ( <i>Solea solea</i> L.) in relation to their size and the water temperature.....	51- 58
GATESOUBE, F.J., M. GIRIN et P. LUQUET. Recherche d'une alimentation artificielle adaptée à l'élevage des stades larvaires des poissons. II- Application à l'élevage larvaire du bar et de la sole.....	59- 66
ADRON, J.M., A. BLAIR and C.B. COWEY. Rearing of plaice larvae to metamorphosis using an artificial diet (résumé seulement/ <i>abstract only</i> ).....	67

### POISSONS MARINS RONDS/MARINE ROUND FISH.

BARAHONA-FERNANDES, M.H. and M. GIRIN. Effect of different food levels on the growth and survival of laboratory-reared sea-bass larvae ( <i>Dicentrarchus labrax</i> (L.).....	69- 84
ALLIOT, E., A. PASTOUREAUD et J. TRELLU. Evolution des activités enzymatiques dans le tube digestif au cours de la vie larvaire du bar, <i>Dicentrarchus labrax</i> . Variations des protéinogrammes et des zymogrammes.....	85- 91
METAILLER, R., C. MERY, M.N. DEPOIS et J. NEDELEC. Influence de divers aliments composés sur la croissance et la survie d'alevins de bars ( <i>Dicentrarchus labrax</i> ).	93-109
KITAKA, J. Red sea bream culture in Japan.....	111-117



POISSONS ANADROMES ET D'EAU DOUCE/ANADROMOUS AND FRESHWATER FINFISH.

HARACHE, Y., G. BOEUF et H. CHARTOIS. Résultats d'adaptation à l'eau de mer de jeunes saumons coho ( <i>Oncorhynchus kisutch</i> Walbaum) pendant l'automne et l'hiver (résumé seulement/abstract only).....	119
PIGGINS, D.J. and J.P. LAWRIE. Rearing salmon and rainbow trout for sea cages. (résumé seulement/abstract only).....	121
HOGENDOORN, H. Progress in the controlled propagation of <i>Clarias lazera</i> (Cuvier & Valenciennes).....	123-130

CREVETTES/SHRIMPS.

LAUBIER-BONICHON, A., A. VAN WORMHOUDT et D. SELLOS. Croissance larvaire contrôlée de <i>Penaeus japonicus</i> Bate. Enzymes digestives et changements de régimes alimentaires.....	131-145
L'HERROUX, M., R. METAILLER et L. PILVIN. Remplacement des herbivores proies par des microparticules inertes ; une application à l'élevage larvaire de <i>Penaeus japonicus</i> .....	147-155
AQUACOP. Observations sur la maturation et la reproduction en captivité des crevettes pénéides en milieu tropical.....	157-178
AQUACOP. Elevage larvaire de Pénéides en milieu tropical.....	179-191
KITAKA, J. Recent progress in Penaeid shrimp culture.....	193-202
RICHARD, P. et H.J. CECCALDI. Variations des caractéristiques pondérales et des compositions amino-acide et protéique pendant le développement embryonnaire de <i>Palaemon serratus</i> .....	203-212
AQUACOP. Production de masse de post-larves de <i>Macrobrachium rosenbergii</i> (De Man) en milieu tropical : unité pilote.....	213-232
EBLE, A.F., M.C. EVANS, N. DEBLOIS and N.E. STOLPE. Maintenance of brood stock, larval rearing and nursery techniques used to grow <i>Macrobrachium rosenbergii</i> in waste-heat discharge waters of an electric generating station in New Jersey (U.S.A.).....	233-245

HOMARDS ET CRABES/LOBSTERS AND CRABS.

LE GALL, J.Y., J.C. MAUVIOT, R. METAILLER et P. BERTHOU. Croissance et survie du homard ( <i>Homarus vulgaris</i> ) pendant les quinze premiers stades en élevage et sous alimentation composée.....	247-259
CARLBERG, J.M. and J.C. VAN OLST. Methods for culturing the american lobster, <i>Homarus americanus</i> .....	261-275
CASTELL, J.D. Production of juvenile lobsters ( <i>Homarus americanus</i> ) for nutrition research.....	277-281
AIKEN, D.E. and S.L. WADDY. Communal rearing of juvenile lobsters ( <i>Homarus americanus</i> ) in a culture system (résumé seulement/abstract only).....	283
SHLESER, R.A. Crustacean culture at the Bodega Marine Laboratory ( <i>Homarus americanus</i> , <i>Cancer magister</i> ) (résumé seulement/abstract only).....	285

GASTEROPODES/GASTROPODS.

FLASSCH, J.P. et E. WOITELLIER. L'élevage de l'ormeau, <i>Haliotis tuberculata</i> L. 1. Action d'un régime alimentaire d'algues phytoplanctoniques sur la croissance post-larvaire.....	287-305
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------



BIVALVES/BIVALVES.

BUESTEL, D., P. ARZEL, P. CORNILLET et J.C. DAO. La production de juvéniles de coquille Saint-Jacques <i>Pecten maximus</i> (L.).....	307-315
LUCAS, A. Culture of the manila clam <i>Venerupis semidecussata</i> Reeve from hatchery-reared spat.....	317-330
( AQUACOP. Elevage larvaire et production de naissain de <i>Crassostrea gigas</i> en milieu tropical.....	331-346
PRUDER, G.D., E.T. BOLTON and C.E. EPIFANIO. Hatchery techniques for a controlled environment molluscan maricultural system.....	347-351
LE BORGNE, Y. L'écloserie-nurserie de la SATMAR et les possibilités actuelles de production de naissain de mollusques bivalves.....	353-360
UKELES, R. Culture of algae for feeding larval and juvenile molluscs in controlled aquaculture.....	361-370

GENERAL/GENERAL.

BLOGOSLAWSKI, W.J. Ozone as a disinfectant in mariculture.....	371-381
----------------------------------------------------------------	---------



## ORGANISATION AND OBJECTIVES OF THE MEETING

At the 64<sup>th</sup> Statutory Meeting of ICES in Copenhagen the following resolution (C. Res. 1976/2:25) was passed :

"It was decided, that : the Working Group on Mariculture should meet from 10 to 13 May 1977 in Brest to discuss the methodology of rearing brood stock and the mass rearing of juveniles of mariculture species for controlled farming and for ocean ranching. The meeting shall take the form of presentation and discussion of experience papers over 3 days, and an additional day will be used for the demonstration of systems and techniques".

The meeting was convened by Prof. Dr. K. TIEWS, Chairman of the Working Group and held in the Centre Océanologique de Bretagne (C.O.B.), Brest, France, from May 10 to 13, 1977, on invitation of the Centre National pour l'Exploitation des Océans (C.N.E.X.O.), proposed by the French member, Mr. J. LE NOAN. It was attended by 82 participants and 15 observers from 22 different countries. 37 experience papers were offered, and discussed, in 5 sessions, on the following topics :

- Marine Fish Species in General (4 papers), and Marine Flatfish (5 papers) with Mr. A.L.S. MUNRO (U.K.) as discussion leader.

- Marine Roundfish (4 papers), and Anadromous and Freshwater Finfish (3 papers), with Dr. C.E. NASH (U.S.A.) as discussion leader.

- Shrimps (8 papers), and Lobsters and Crabs (5 papers), with Mr. A. MICHEL (France) as discussion leader.

- Gastropods (1 paper), Bivalves (7 papers) and General (1 paper) with Dr. AUDOUIN (France) as discussion leader.

- Conclusions and recommendations with Pr. TIEWS (Federal Republic of Germany) as discussion leader.

The rapporteurs were Mr. M. GIRIN, Pr. G. PERSOONE and Dr. P. SORGELOOS (Belgium).

At the opening, the meeting was addressed by Mr. J. PERROT, Assistant Director of CNEOX. Prof. TIEWS expressed on behalf of the participants their sincere thanks for the invitation to convene the meeting in Brest and for the excellent local organisation of it.

On May 11 and 12, afternoon excursions were organized by the host to visit several aquaculture facilities of Western Brittany (see p. XI).



## SUMMARY OF THE DISCUSSIONS

### FINFISH.

The rearing of several hundred thousand larvae of marine finfish past metamorphosis, on live food, has to date been realized successfully on a few species only, namely plaice (*Pleuronectes platessa*), sole (*Solea solea*), red sea bream (*Chrysophrys major*), and sea bass (*Dicentrarchus labrax*). In the near future, success with mullet (*Mugil cephalus*), milkfish (*Chanos chanos*), turbot (*Scophthalmus maximus*), gilthead sea bream (*Sparus aurata*), and rabbitfish (*Siganus rivulatus*) is likely.

One of the common problems presently encountered with many species, at any scale, is the high mortality related to gas bubble symptoms, which occur 1 to 4 weeks after the start of feeding, when the fish swim close to the surface, before the completion of metamorphosis.

The live feed offered during the larval rearing are mostly cultured *Brachionus* and *Artemia*, and Copepods caught from the wild. There is presently no important research effort towards new food organisms. On large scale, the only practical problem associated with *Brachionus* production is the mass culture of algae. A shortage of *Artemia* cysts results in a bottleneck for the expansion of pilot scale and commercial hatcheries. However, in view of the reported very high potential for the harvest of *Artemia* cysts at many sites all over the world, the present production should be increased widely in the next few years.

The rearing techniques are shifting back from the utilization of tanks from several tens of m<sup>3</sup> or more, to smaller ones. At the same time, the stocking densities of newly hatched larvae have increased above 10, and sometimes up to 50/l.

After metamorphosis, in some species such as the red sea bream, the young fish, weighing less than 100 mg, for a length not exceeding 40 mm, are widely used for restocking natural areas. The subsequent studies to determine the survival of the fish after release are however rare.

When intensive culture techniques are applied for on-growing, the larvae are weaned as soon as possible on fabricated diets. The methods are well established with the red sea bream and the sea bass, for production of several hundred thousands of animals, with survival rates usually over 50 %. Diets for sole are still being tested at the laboratory scale.

Important progress would be achieved if live feeds were replaced by suitable fabricated diets right from the start, as is current practice in salmonid culture. Although to date some preliminary successes have been obtained, it is clear that further research is needed

.../...



to achieve this objective with other species. It is interesting to note that, except for salmonids, the same feeding problems exist in the culture of the larvae of many fresh-water fishes.

For the cultivation of weaned juveniles, it appears that most of the information presently available, either on the diet, the physiology in relation to the environment (particularly temperature and salinity), the behaviour, or the pathology, concerns salmonids. However, some preliminary information is now also available for some marine species, i.e. for sole, turbot, red sea bream and sea bass.

#### CRUSTACEANS.

The major effort in Crustacean culture is focused on Penaeid shrimps (among which *Penaeus japonicus* is already cultured at commercial scale), *Macrobrachium rosenbergii* and the American lobster *Homarus americanus*.

The problems in feeding the larval stages of decapod crustaceans seem to be analogous to those already mentioned for the culturing of fish larvae. An important research effort is being undertaken presently to replace *Artemia* nauplii by fabricated diets, due to the present critical shortage of cysts.

Interesting biochemical studies are in progress on the physiology of digestion. They will hopefully contribute to reveal the mechanism of succession in the herbivorous-carnivorous feeding behaviour of the larvae, and help in the development of new diets.

The bacterial and fungal infections occurring in larval cultures can be treated successfully by various methods, such as antibiotic treatment or addition of herbicides respectively. This may however result in the development of resistant strains.

In the case of Penaeid shrimps, recent successes in the control of reproduction of captive spawning stocks open new possibilities. However, the culturing potential of the different species varies from one geographical area to another in regard to their ecological and physiological tolerances, as well as the prevailing local rearing technology.

The feasibility of large scale production of young Penaeid and *Macrobrachium* shrimp, as well as lobster, has been demonstrated repeatedly at several places. The present studies are now directed towards the economics of the culture. Cold water shrimps, such as *Leander serratus* are not yet produced on a large scale.

Studies on lobster ongrowing, which are carried out most intensively in North America, usually rely on highly sophisticated methods of individual rearing. An interesting new and promising approach to the problem of cannibalism, tested out at lab-scale, is based on social culturing with repeated sorting and restocking. Successes in hybrid production should soon help in estimating the survival chances of young lobsters released in the open sea. .../...



MOLLUSCS.

The controlled reproduction and larval rearing of several species of molluscs is now common practice in experimental as well as commercial hatcheries of ICES member countries. The following bivalves can be quoted in this regard : oysters (*Ostrea edulis*, *Crassostrea gigas*, *C. virginica*) and clams (*Mercenaria mercenaria*, *Venerupis decussata*, *V. semi-decussata*). The larval rearing of some other species, such as the scallop (*Pecten maximus*), has not yet developed beyond the laboratory stage.

For the hatcheries, the possibility of storing deep-frozen algae opens new interesting perspectives, particularly with regard to the cost-benefit of commercial ventures. In order to assure a high water quality for the hatchery, the systematic use of antibiotics is still a common practice and new progress in ozonization techniques is opening interesting perspectives.

The problem of the transfer of the juveniles to the natural environment is presently receiving much attention. Nurseries, where the post-larval stages are grown under controlled conditions, eventually with controlled heating of the water with thermal effluents, are a most welcome intermediate step between the hatchery and the wild. Improvements of the phytoplankton mass production techniques are however still hampering the economic profitability.



CONCLUSION AND RECOMMENDATIONS FROM THE OPEN SESSION

PRESENT STATUS OF KNOWLEDGE.

Without considering the collection of natural spat, when trying to list the different species presently cultured in hatcheries and nurseries, it appears that they can be classified in 5 different groups :

- Species for which larval rearing is technically possible, practiced, and commercially profitable on a large scale :

- Salmonids (*Salmo* spp., *Oncorhynchus* spp.)
- Oysters (*Ostrea edulis*, *Crassostrea gigas*, maybe *C. virginica*).
- Macrobrachium rosenbergii*.
- Penaeid shrimps (*Penaeus japonicus*, *P. monodon*).
- Red sea bream (*Chrysophrys major*).

- Species for which larval rearing is technically possible, practiced, but commercially risky on a large scale :

- Oysters (*Crassostrea virginica*).
- Clams (*Mercenaria mercenaria*, *Venerupis decussata*, *V. semi-decussata*).
- Abalones (*Haliotis* spp.).
- Penaeid shrimps (*Penaeus vannamei*, *P. stylirostris*).
- Lobster (*Homarus americanus*).
- Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*).

- Promising species for the near future (from both the technical and the commercial point of view) which are already produced in quantities exceeding several thousands :

- Scallops (*Pecten maximus*).
- Mullet (*Mugil cephalus*).
- Rabbitfish (*Siganus rivulatus*).
- Turbot (*Scophthalmus maximus*).
- Gilthead sea bream (*Sparus aurata*).
- Black porgy (*Mylio macrocephalus*).
- Yellowtail (*Seriola quinqueradiata*).
- Sturgeon (*Acipenser sturio*).

.../...



- Possible species for the future, which are promising from the commercial point of view, but whose larval rearing is still hardly successful :

- Milkfish (*Chanos chanos*).
- Eels (*Anguilla* spp.).
- Black sea turbot (*Scophthalmus maeoticus*).
- Lates* spp.
- Tuna* spp.

- Possible species for the future, for which larval rearing has been achieved on at least several thousand individuals, but that are hardly attractive from the commercial point of view :

- Plaice (*Pleuronectes platessa*).
- Herring (*Clupea harengus*).
- Cod (*Gadus callarias*).

#### POSSIBLE REASONS FOR SUCCESS.

It is without any doubt that the prime factors for success are both the technical and economical feasibility of the operation, depending largely from the market price of the cultured product. For example, the rearing of the plaice (*Pleuronectes platessa*), is technically feasible but the prospect for a commercially profitable venture is so low that presently this species does not appear any more in aquaculture programs in the United Kingdom.

After success at the lab-scale has been achieved, and before a large commercial venture is started, a pilot-scale operation should be set up for a production of at least 100 tons of full grown animals.

In order to permit the development of family enterprises (the financial investments of which are limited) aquaculture facilities should be set up with governmental funding as transition phases, especially for those types of species for which the culturing implies different biological and/or technological steps.

#### MAJOR GAPS IN THE KNOWLEDGE.

Despite the research effort to develop new live and fabricated foods, feeding is still a limiting factor for many aquacultural developments. Several biological and technological problems have to be solved yet in order to improve our knowledge in this field.

Whereas the physiology of reproduction has received much attention during the last years, only a few studies on the physiology of the larvae and juveniles are available. More research is necessary.



Last but not least major research areas in aquaculture where we are only at the pioneering stage are engineering, genetics and pathology.

RECOMMENDATIONS FOR RESEARCHERS.

Papers on larval rearing often lack some fundamental information. The following informations are most desirable :

- Origin of the larvae : characteristics of the spawners and their stocking conditions, conditions of spawning and incubation, percentage of hatching, size of eggs or larvae.

- Food : quality and quantity of food offered, feeding technique, techniques of food production (compare also recommendations given by the Working Group at its second meeting, ICES Coop. Research Report 65).

- Density : density of the food particles, density of the larvae.

- Abiotic factors : size, colour and shape of the containers, temperature, light (quality and intensity), aeration, water flow, oxygen, pH and if possible ammonia.

- Mortality : whenever possible, indication of the daily mortality is useful. In case of high mortality, possible diseases should be checked.

- Growth : information should not be restricted to the length of the animals, but also include weight, calculation of the condition factor, and whenever possible, the conversion efficiency.



AQUACULTURE FACILITIES VISITED

May 11. Tour n° 1.

*Experimental abalone hatchery*  
Module expérimental de production  
d'ormeaux

Module ormeaux  
Viviers d'Argenton  
Argenton en Landunvez  
29236 PORSPODER

*Oyster culture facility*  
Entreprise ostréicole

Etablissements MADEC  
Huîtres de Prat-ar-Coum  
B.P. 9  
29214 LANNILIS

May 11. Tour n° 2.

*Shellfish nursery and oyster culture unit*  
Ecloserie-nurserie de bivalves et  
entreprise ostréicole

UNICOB  
Port du Tinduff  
29213 PLOUGASTEL-DAOULAS

*Salmon net-pen culture unit*  
Cages d'élevage de saumons

AQUACOOP  
Port du Tinduff  
29213 PLOUGASTEL-DAOULAS

May 12.

*Pilot salmon farm*  
Ferme pilote pour l'élevage du saumon

SODAB  
Moulin du Carpont  
Trédarzec  
22220 TREGUIER



LIST OF PARTICIPANTS

BELGIUM

Prof. Dr. G. PERSOONE, Member of the Working Group, Laboratorium voor Biologisch Onderzoek van Milieuverontreiniging, Josef Plateaustraat 22, B-9000 GENT.

Dr. SORGELOOS, Laboratorium voor Biologisch Onderzoek van Milieuverontreiniging, Josef Plateaustraat 22, B-9000 GENT.

CANADA

Dr. K.S. NAIDU, Fisheries and Marine Service, Fisheries and Environment Canada, 3 Water Street, St-Johns, Newfoundland.

Dr. T.W. ROWELL, Member of the Working Group, Fisheries and Marine Environment Canada, P.o. Box 550, Halifax, Nova Scotia.

DENMARK

Dr. E. HOFFMANN, Member of the Working Group, Danmarks Fiskeri und Havundersøgelse, Charlottenlund Slot, 2920 Charlottenlund.

EUROPE

Dr. B. KIRK, Commission des Communautés Européennes, Rue de la Loi 200, B-1049 BRUXELLES.

FRANCE

Dr. Sp. E. ALLIOT, Station Marine d'Endoume, Rue de la Batterie des Lions, 13007 MARSEILLE.

Mr. J. BARRET, Centre Océanologique de Bretagne, B.P. 337, 29273 BREST Cédex.

Mr. G. BOEUF, Centre Océanologique de Bretagne, B.P. 337, 29273 BREST Cédex.

Mr. D. BUESTEL, Centre Océanologique de Bretagne, B.P. 337, 29273 BREST Cédex.

Dr. Sp. G. CUZON, Centre National pour l'Exploitation des Océans, 39 avenue d'Iéna, 75783 PARIS Cédex 16.

Mr. J.C. DAO, Centre Océanologique de Bretagne, B.P. 337, 29273 BREST Cédex.

Mr. DENIEUIL, ACDAF-SANDERS, 17 quai de l'Industrie, B.P. 32, 91201 ATHIS MONS Cédex.

Dr. Sp. J.P. FLASSCH, Centre Océanologique de Bretagne, B.P. 337, 29273 BREST Cédex.

Mr. G. FONTENELLE, Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie de Rennes, 65 route de Saint-Brieuc, 35042 RENNES Cédex.

Mr. J. FUCHS, Centre Océanologique de Bretagne, B.P. 337, 29273 BREST Cédex.

Dr. Sp. M. GIRIN, Centre Océanologique de Bretagne, B.P. 337, 29273 BREST Cédex.

Dr. Sp. J.M. GRIESSINGER, Centre National pour l'Exploitation des Océans, 39 avenue d'Iéna, 75783 PARIS Cédex 16.

.../...



- Mr. Y. HARACHE, Centre Océanologique de Bretagne, B.P. 337, 29273 BREST Cédex.
- Mr. HIRIUS, Ecloserie de l'Ile de Sein, 29162 ILE DE SEIN.
- Mr. HUSSENOT, Centre Océanologique de Bretagne, B.P. 337, 29273 BREST Cédex.
- Mr. J. QUERELLOU, C.I.G.R.E.F., B.P. 3, 30 avenue de Verdun, 33160 GAZINET.
- Prof. Dr. J. LAHAYE, Université de Bretagne Occidentale, Faculté des Sciences, 20 avenue Le Gorgeu, 29283 BREST Cédex.
- Prof. LAMARQUE, INRA, Station d'Hydrologie, B.P. 79, 64200 BIARRITZ.
- Dr. LASSERRE, S.A. Produits Trouw France, Pont de Pierre, Fontaine-Les-Vervins.
- Dr. L. LAUBIER, Directeur, Centre Océanologique de Bretagne, B.P. 337, 29273 BREST Cédex.
- Dr. A. LAUBIER-BONICHON, Centre Océanologique de Bretagne, B.P. 337, 29273 BREST Cédex.
- Mr. Y. LE BORGNE, S.A.T.M.A.R., "La Saline", Commune de Gatteville-Phare, 50760 BARFLEUR.
- Dr. J.Y. LE GALL, Centre Océanologique de Bretagne, B.P. 337, 29273 BREST Cédex.
- Mr. J. LE NOAN, Member of the Working Group, Centre National pour l'Exploitation des Océans, 39, avenue d'Iéna, 75783 PARIS Cédex 16.
- Dr. Sp. M. L'HERROUX, Centre Océanologique de Bretagne, B.P. 337, 29273 BREST Cédex.
- Pr. A. LUCAS, Université de Bretagne Occidentale, Faculté des Sciences, 20 avenue Le Gorgeu, 29283 BREST Cédex.
- Dr. P. LUQUET, Station Centrale de Nutrition, C.N.R.Z., Domaine de Vilvert, 78350 JOUY-EN-JOSAS.
- Mr. MARIE-CARDINE, ACDAF-SANDERS, 17 quai de l'Industrie, 91201 ATHIS MONS Cédex.
- Mr. M. MERCERON, Centre Océanologique de Bretagne, B.P. 337, 29273 BREST Cédex.
- Dr. Sp. R. METAILLER, Centre Océanologique de Bretagne, B.P. 337, 29273 BREST Cédex.
- Mr. A. MICHEL, Centre Océanologique du Pacifique, B.P. 7004, Taravao, Ile de Tahiti, Polynésie Française.
- Dr. Sp. A. PASTOUREAUD, Station Marine d'Endoume, Rue de la Batterie des Lions, 13007 MARSEILLE.
- Mr. J. PERROT, Centre National pour l'Exploitation des Océans, 39 avenue d'Iéna, 75783 PARIS Cédex 16.
- Dr. Sp. J. PERSON, Centre Océanologique de Bretagne, B.P. 337, 29273 BREST Cédex.
- Mr. POLINE, ACDAF-SANDERS, 17, quai de l'Industrie, B.P. 32, 91201 ATHIS MONS Cédex.
- Mr. L. QUINIOU, Université de Bretagne Occidentale, Faculté des Sciences, 20 avenue Le Gorgeu, 29283 BREST Cédex.
- Mr. P. RICHARD, Station Marine d'Endoume, Rue de la Batterie des Lions, 13007 MARSEILLE
- Mr. J.J. SABAUT, G.I.E.E.R.N.A., Domaine du Roulet, 33240 SAINT ANDRE DE CUBZAC.
- Dr. TIXERANT, Laboratoire de Pathologie, Centre Océanologique de Bretagne, B.P. 337, 29273 BREST Cédex.
- Mr. VAN WORMHOUDT, Laboratoire de Biologie Marine du Collège de France, 29110 CONCARNEAU



GERMANY

Dr. H. GRAVE, Institut für Meereskunde der Universität Kiel, Düsternbrooker Weg 20, 2300 KIEL.

Dr. KUHLMANN, Institut für Küsten-und Binnenfischerei der Bundesforschungsanstalt für Fischerei, Palmaille 9, D 2000 HAMBURG 50.

Ltd. Dir. und Pr. Dr. K. TIEWS, Member of the Working Group, Institut für Küsten-und Binnenfischerei der Bundesforschungsanstalt für Fischerei, Palmaille 9, D 2000 HAMBURG 50.

Dr. R. Van THIELEN, Institut für Meereskunde der Universität Kiel, Düsternbrooker Weg 20, 2300 KIEL.

ICELAND

Dr. A. ISAKSSON, Veidimalastofnunin, Institute of Freshwater Fisheries, P.C. Box 754, REYKJAVIK.

IRELAND

Pr. P. O'CEIDIGH, Zoology Department, University College, GALWAY.

Dr. D. MINCHIN, Member of the Working Group, Department of Fisheries, 3, Cathal Brugha St., DUBLIN 1.

Dr. D.J. PIGGINS, Salmon Research Trust Inc., Traenlaur, NEWPORT, CO MAYO.

ITALY

Dr. G. ARCARESE, S.I.R.A.P., Venezia, SAN ANGELO 3870.

Dr. M. BILIO, Centro Ricerche Ittiologiche, S.I. VAL. Co, COMACCHIO (FE).

Mr. FRANCHETTI

Mr. TOGNON, S.I.R.A.P., Venezia, SAN ANGELO 3870.

Mr. RAVAGNAN, S.I.R.A.P., Venezia, SAN ANGELO 3870.

JAPAN

Pr. Dr. J. KITAKA, Laboratorium of Aquaculture, Kitasato University, School of Fisheries Sciences, Sanriku-Cho, Kesen-Gun, IWATE prefecture.

NETHERLANDS

Dr. M. FONDS, Nederlands Instituut voor Onderzoek der Zee, Postbox 59, DEN BURG-TEXEL.

Dr. S.J. De GROOT, Member of the Working Group, Ministerie van Landbouw en Visserij, Rijksinstituut voor Visserijonderzoek, Haringkade 1, Postbus 68, IJMUIDEN 1620.

Dipl. Ing. H. HOGENDOORN, Landbouwschool, Duivendaal 5, Postbus 339, WAGENINGEN.

Dr. C.L. Van LIMBORGH, TROUW and Co NV., Nijverheidsweg 2, Postbus 40, PUTTEN (Gld.).

NORWAY

Dr. V. ØIESTAD, Representative of the Member of the Working Group, Fiskeridirektoratets Havforsningsinstitutt, Nordnesparken 2, Postboks 2906, BERGEN.



PORTUGAL

Miss M.H. BARAHONA-FERNANDES, Faculty of Sciences, LISBON, (presently at COB, B.P. 337, 29273 BREST CEDEX, France).

SWEDEN

Dr. B. Holmberg, Member of the Working Group, National Board of Fisheries, P.O. Box, S. 40310, GOTEBOG.

TURKEY

Mr. O. UÇAL, Ege University, Faculty of Science, Department of General Zoology, BORNOVA, IZMIR.

UNITED KINGDOM

Dr. J.W. ADRON, Department of Agriculture and Fisheries for Scotland, Marine Laboratory, Victoria Road, TORRY ABERDEEN AB9 8BD.

Dr. S.J. KINGWELL, White Fish Authority, Marine Farming Unit, Ardtoe, Acharacle, ARGYLL PH36 4LD.

Mr. ALS MUNRO, Member of the Working Group, Department of Agriculture and Fisheries for Scotland, Marine Laboratory, Victoria Road, P.O. Box 101, ABERDEEN AB9 8BD.

Dr. C.C. PHILLIPS, Unilever Research, Colworth/Welwyn Laboratory, Unilever Limited, Greyhope Road, ABERDEEN AB9 2JA.

Dr. C. PURDOM, Ministry of Agriculture Fisheries and Food, Fisheries Laboratory, LOWESTOFT, SUFFOLK, NR 33 OHT.

Mr. W.R. SMALL, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Fisheries Division IA, Great Westminster House, Horseferry Road, LONDON, SW 1 P 2AE.

U.S.A.

Dr. W.J. BLOGOSLAWSKI, U.S. Department of Commerce, National Oceanic and Atmospheric Administration, National Marine Fisheries Service, Milford Laboratory, 212 Rogers Avenue, MILFORD, CONNECTICUT.

Dr. J.M. CARLBERG, Department of Biology, San Diego State University, SAN DIEGO, CALIFORNIA 92182.

Mr. J.R. MITCHELL, Member of the Working Group, Assistant Program Manager for Environmental Quality, National Science Foundation, Office for the International Decade of Ocean Exploration, WASHINGTON, D.C., 20550.

Dr. C.E. NASH, The Oceanic Institute, Makapuu point, Waimanalo, HAWAII 96795.

Dr. G. PRUDER, University of Delaware, 115 East Third St, Hews, DELAWARE 19958.

Dr. R. UKELES, U.S. Department of Commerce, National Oceanic and Atmospheric Administration, National Marine Fisheries Service, Milford Laboratory, 212 Rogers Avenue, MILFORD, CONNECTICUT.

VENEZUELA

Miss B. GONZALES-GUERRA (presently at Station Marine d'Endoume), Marseille, France.



YUGOSLAVIA

Mr. E. TESKEREDZIC, Zavod Za Biologiju i patologiju Riba i Pcela, Veterinarski Fakultet Sveucilista u Zagrebu, Heinzelova 55, p.p. 190, 41001 ZAGREB.

OBSERVERS :

J.P. ALAYSE (France), P. BERTHOU (France), R. BIAZ (Maroc), A. BIZOT-ESPIARD (France),  
D. BOUBERI (Côte d'Ivoire), J.C. COCHARD (France), J. HAMOU-TAHRA (Maroc), G. LE MARIE  
(France), M.F. PIZARRO (Chili), E. YANEZ (Chili), E. ZAMORA (Costa Rica), B. MENU (France),  
S. BROUILLET (France), D. GASNIER (France), P. DIVANACH (France).



**POISSONS MARINS (GENERAL)**

*MARINE FISH SPECIES IN GENERAL*



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4 : 1-10.

## THE BREEDING AND CULTIVATION OF MARINE FISH SPECIES FOR MARICULTURE.

by

Colin E. NASH

The Oceanic Institute, Makapuu Point, Waimanalo, Hawaii 96795, U.S.A.

### ABSTRACT.

*The culture of the marine fish has not made as much progress as other species in aquaculture, for example the marine and freshwater prawns. The large number of red seabream released each year by the Japanese into the Seto Inland Sea constitutes one of the major marine fish projects, but the economic benefit for this type of ocean ranching is uncertain, and the cost of the fry is high.*

*Dover sole and turbot still offer good potential for marine fish culture in European and Mediterranean waters, but many of the farming techniques have been developed for the less valuable but more easily produced plaice.*

*The grey mullet has increasing farm potential but its commercial markets are limited as it has low value. It is more important as a subsistence brackishwater pond fish in Southeast Asia.*

*In order to make marine fish culture or farming more successful during the next twenty years, there is great need for a concentration of effort on a few selected species. There is also need for good facilities built on experiences derived from many workers in the field. Taking the lead from the salmonids, it might be very opportune to concentrate on the migratory species of marine fish, which provide far greater opportunities for total management through ocean ranching. The migratory species are more likely to provide the gross tonnages of fish to increase market levels much more than the individual high priced fish cultured in small farms, either on land or in coastal areas.*

### RESUME.

*L'aquaculture des poissons marins n'a pas progressé aussi rapidement que celle d'autres espèces, comme, par exemple, les crevettes. Les grandes quantités de daurades royales relâchées chaque année par les Japonais dans la Mer Intérieure, représentent l'un des plus importants projets en cours, mais le coût des juvéniles est élevé, et l'intérêt financier de ce type de repeuplement est incertain.*

*La sole et le turbot sont des espèces prometteuses pour les côtes atlantiques de l'Europe et la Méditerranée, mais la plupart des méthodes d'élevage ont été mises au point sur la plie, plus facile à produire, mais de moindre valeur.*

*Les perspectives d'élevage du mullet gris progressent, mais sa valeur commerciale est faible, et les marchés sont limités. Il est surtout important comme aliment de subsistance en Asie du Sud-Est.*

*Pour obtenir plus de succès dans les vingt années qui viennent, une concentration des efforts sur quelques espèces est indispensable. Il faut aussi de bonnes installations, conçues à partir de l'expérience de nombreux spécialistes. En prenant l'exemple des salmonidés, il pourrait être très intéressant de concentrer les recherches sur des espèces migratrices, qui offrent d'intéressantes possibilités d'élevage en mer libre. Les espèces migratrices sont mieux susceptibles de fournir de gros tonnages, pouvant accroître les marchés, que des espèces chères, élevées dans de petites fermes, à terre ou dans des lagunes côtières.*

.../...



## INTRODUCTION.

Of all the marine fish species, excluding anadromous salmonids, the marine flatfish of the order *Pleuronectiformes*, have been cultured the most successfully throughout the last twenty years of contemporary aquaculture. The marine flatfish as a group are a desirable market commodity and valuable to the fishing industry. The total annual landings of the flatfish are approximately 1.7 % of the total world catch, or 1.18 million metric tons (FAO, 1974).

The use of brine shrimp nauplii, *Artemia salina*, by ROLLEFSON (1940) and the basic research on the plaice, *Pleuronectes platessa*, by SHELBOURNE (1964, 1967) were probably more responsible for renewed investigations into marine fish culture and aquaculture than any other single event since the hiatus of propagation and culture for ocean ranching in the last two decades of the nineteenth century. Their results, followed by those of others (FLUCHTER, 1965), led to the mass propagation from breeding adults of large numbers of plaice and Dover sole, *Solea solea*, and their culture in a number of locations (SHELBOURNE and NASH, 1966 ; NASH and SHELBOURNE, 1967).

Recent work with the turbot, *Scophthalmus maximus* (JONES, 1972 ; PURDOM *et al.*, 1972), the Black Sea turbot, *Scophthalmus maeoticus* (SPECTOROVA *et al.*, 1974), the brill, *Scophthalmus rhombus* (JONES, 1972), lemon sole, *Microstomus kitt*, (HOWELL, 1972), has enabled these fish to be included among those which can now be reared in reasonable numbers from breeding adults. The most attractive flatfish to the fishing industry is the Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus*, and the Pacific halibut, *Hippoglossus stenolepis*, but to date only some preliminary capture work has been achieved by the Canadians and the British. The size of adult halibuts is intimidating, making them difficult to catch and keep alive, and to form a broodstock in captivity without adequate facilities. The most attractive flatfish species to the culture industry which can be reared are therefore the turbot and the soles.

All these species are temperate water fish of the Atlantic and the North Sea, but some flatfish range into the colder waters around Greenland, or into the warmer waters of the Mediterranean and the Black Sea. The countries with an opportunity to culture marine flatfish are therefore many and are distributed across a broad range of latitudes.

Although the marine flatfish have dominated the marine fish culture scene, other equally important results have been obtained. Complete production cycles have been developed for other tropical and sub-tropical species. For example, excellent techniques have been established for the live-bearing topminnow, *Poecilia vittata* and other bait fish species (BALDWIN, 1975), the threadfin or moi, *Polydactylus sexfilis* (MAY, 1976), the red seabream, *Sparus major* (HANAMURA, 1976) and the rabbit fishes of the genus *Siganidae* (LAM, 1974). All these marine fish have local important commercial value.

Other than these examples, breeding and culture successes predominantly involve captive temperate water fish and, for the most part, are still confined to rearing a small percentage of larvae through metamorphosis to juvenile stages and subsequent grow-out.

.../...



None of the species has been carried through pilot scale hatchery production or farming. For example, three White Sea species, the navaga, *Eleginus navaga*, polar cod, *Boreogadus saida*, and Arctic flounder, *Liopsetta glacialis*, (ARANOVICH *et al.*, 1975) have been reared in the laboratory ; and the sea bass, *Dicentrarchus labrax* (BARNABE, 1974) can be produced in good numbers on the large laboratory scale. Similarly, successes have been achieved with several other important captive marine species, such as the pompano, *Trachinotus carolinus* (FINUCANE, 1970), the anchovy, *Engraulis mordax* (LASKER *et al.*, 1970 ; HUNTER, 1975) and the gilthead, *Sparus aurata* (RENE, 1974). Many other marine species have been reared from eggs taken from plankton tows (BLAXTER, 1968 ; HASSLER and RAINVILLE, 1975) but these are excluded from this review.

Mass propagation has been achieved with two species of mullets which breed at sea, namely the grey mullet, *Mugil cephalus* (LIAO, 1969 ; KUO *et al.*, 1973) and the white mullet (HOUDE *et al.*, 1976). These are two species which have a broad range of distribution and are important subsistence fish for developing countries. For all these examples, with the exception of the grey mullet, no culture practices have been taken beyond the laboratory or experimental stages. A hatchery has been proposed for grey mullet propagation in Hawaii, and is in the process of being constructed.

In summary, marine fish propagation has progressed slowly over the last twenty years. The greatest successes are still attributed to the culture of the marine flatfish, particularly the plaice and Dover sole.

#### ADULTS IN CAPTIVITY.

Nearly all the marine fish species considered desirable for culture because of their high market value have been held in captivity for long periods with little effort. The golden age of culture and attempted ocean ranching at the turn of the century confirmed that many adult fish could be caught and artificially fertilized at sea, or moved great distances to the coastal hatcheries that were being constructed at the time (IFC, 1908 ; GROSS, 1947).

Since then, most of the marine laboratories of the world have worked on the biology of these species and have continued to hold adults in captivity for research or public aquaria. Apart from the Pacific and Atlantic halibuts, all the commercial flatfish species have been contained before and through spawning activity, and it is true to say that the practices for obtaining viable eggs from these fish are almost one hundred years old.

The intensive effort and expense utilized in the early days of marine fish cultivation are both needless and prohibitive. Modern methods and management can sustain the same populations of adult broodstock for many years with few annual replacements. The requirements are for good husbandry and correct feeding in the right environmental conditions, and the production of viable eggs is assured.

.../...



Artificial stripping and spawning in captivity are not practiced on a wide scale although simple to perform and do little harm to the scale-less fish. More care has to be taken with scaled fish. Spawning stock are brought in from the sea and are usually permitted to spawn naturally in onshore tanks. The fish are first introduced into these tanks well in advance of the spawning season. Experience has shown that it is better to have the spawning stock on site and accustomed to their environmental conditions at least six months prior to spawning. Thereafter, a third of the stock are replaced each year.

The use of controlled methods with hormone injections for the breeding of captive fish has been reviewed by SHEHADEH (1970). Injection with salmon gonadotropin, followed by natural spawning, has been essential for the successful breeding of the grey mullet (SHEHADEH and ELLIS, 1970). LIAO (1969) had used the homogenates of mullet pituitaries to achieve similar results. Induced spawning out of season with this species has also been effected with environmental manipulation using a photoperiod of 18D/6L at 20° C for a period of 120 days (KUO *et al.*, 1974).

Induced spawning has been attempted with many marine fish. It has been used to induce final ovulation and oviposition. Oviposition was attained with turbot (FLUCHTER, 1972) threadfin (MAY, 1976), pompano (FINUCANE, 1970), milkfish, *Chanos chanos*, (NASH and KUO, 1976), sea bass (BARNABE, 1974), gilthead (RENE, 1974), and eels, *Anguilla anguilla* and *Anguilla japonica* (SHEHADEH, 1970). Of those that were induced through oviposition, the quality and/or quantity of eggs was poor and few could be fertilized. MAY (1976) reported subsequently that the threadfin spawned naturally without the aid of hormone treatment.

Correct nutrition for all broodstock is important and breeding fish require certain nutrients which can only be supplied in the diet. In the absence of a complete knowledge of the nutritional requirements of spawning stock, fish are fed with fresh natural foods at intervals between their standard ration of prepared food at about 3 % of their body weight per day for carnivores (SHELBOURNE, 1964 ; HOUDE, 1973), and providing a small supplement to the naturally available feed in ponds for omnivores or herbivores (SHEHADEH *et al.*, 1973).

Natural spawning of flatfish has occurred in many irregular shaped tanks and pools both indoors and outdoors. Modern methods, which require good control of the environmental conditions, have been developed for protected indoor tanks about 4' deep and of floor area 120-150 square feet. Exposure to the natural diurnal photoperiod is preferred by way of adjustable skylights which reduce the light intensity to between 100-350 m.c.

The tanks are supplied with pumped tidal seawater at 6-10° C at such a rate that the volume of water in each tank is replaced four times each day. The fish are held in the tanks at a density of one fish per four square feet of tank bottom. The level of dissolved oxygen in the water is maintained at over 80 % saturation. The salinity is entirely dependent on the locality of the area but should be as high as possible, preferably between 30-40‰.

.../...



Spawning fish are stocked in the ratio of one female to two or three males. This ratio is necessary to reduce the chances of including a high proportion of immature and infertile male fish in the population.

The fish spawn freely in late winter and early spring and the fertilized eggs, which for all the most desirable species are pelagic, are skimmed from the water surface with a net and transferred to the hatchery for incubation.

Artificial stripping and spawning reduces the amount of tank space needed for the holding of broodstock but the practice has not been relied on to meet the demands of a prototype commercial flatfish hatchery. It is however worthwhile trying to use this form of fertile eggs production (as is achieved for the salmonids) providing that the expense of obtaining new broodstock each year is accepted.

FECUNDITY.

Compared with the fecundity of the freshwater and anadromous fish, the fecundity of the marine fish is extremely high. At the present low level of marine fish propagation technology, this high fecundity is a disadvantage. Marine fish eggs are invariably small (less than 2 mm in diameter), and the emerging larvae are equally small with little feed reserves in the yolk-sac. The larvae are therefore delicate to handle and require feeding usually within two to seven days.

The following table illustrates some of the reasons for the success of salmon and trout production in hatcheries, why the plaice and Dover sole are among the first marine fish species to be cultured, and why turbot, mullet and rabbit fish, etc., have proved more difficult.

Species	Diameter (mm)	Fecundity (n x 1000)
Salmon	6.0	1 - 4
Trout	4.0	0.5 - 1
Plaice.	2.2	250 - 500
Lemon sole	1.4	150 - 650
Dover sole	2.2	150 - 350
Turbot	1.0	1000 - 4000
Milkfish	1.1	2000 - 5000
Halibut	0.9	2000 - 9000
Mullet	0.9	750 - 1000
Moi	0.8	200 - 500
Rabbitfish	0.60	200 - 500

TABLE 1 : Approximate diameters (millimeters) of eggs and fecundity of some marine species, and salmon and trout.

.../...



#### EGG INCUBATION.

The viable eggs of most marine species are pelagic. Non viable eggs may float or stay suspended for several hours before becoming opaque and sinking out. Bouyancy of the eggs is maintained by the oil globule. Eggs with high viability are thought to have a single oil droplet (NASH and KUO, 1975). This is very evident for the grey mullet (LIAO *et al.*, 1971). However, LAM (1974) records multi-oil droplets in viable eggs, and others have observed the same with other species.

Pelagic eggs are removed at interval from the spawning ponds or tanks with fine nets, and taken to the incubators containing seawater at temperatures and salinities as close to that of conditions in the spawning location. After 24 hours, during which time the majority of the infertile eggs sink, the viable eggs are transferred to the main incubation tanks in constant temperature conditions. Conditions for incubation are extremely important and are believed to be more critical for control than the close regulation of the larval rearing conditions (NASH and KUO, 1975). The importance of temperature, salinity, oxygen level and light have been illustrated by JOHANSEN and KROGH (1914), SHELBOURNE (1964), and BLAXTER (1968), among many others.

Increased survival was indicated by SHELBOURNE (1964) incubating flatfish eggs in static filtered seawater under controlled conditions and with the addition of the antibiotics sodium penicillin G (50 I.U.) and streptomycin sulphate (0.05 mg/ml). Similar use of these antibiotics was tried initially by other workers, but are at present not widely used.

Egg density in the incubators is important and is dependent on the method of incubation being static or agitated by mechanical stirrers or aeration. In the static technique for flatfish, the egg density is about 2,000 eggs/ft<sup>2</sup> of water surface (SHELBOURNE, 1964). The grey mullet eggs (NASH and KUO, 1974) are incubated in aerated tanks at a density of 250 eggs/liter. Depending on the levels of circulation, egg densities within this range are probably desirable.

Throughout incubation the eggs are sensitive to environmental change and light intensity. Incubation is preferred indoors under subdued light and with regulated temperature and salinity controls. The eggs of many tropical and semi-tropical marine fish hatch within a period of 24 - 72 hours. Temperate water fish usually take several weeks, and SHELBOURNE (1964) operated a schedule increasing the temperature 0.5° C per week for the six weeks of plaice incubation.

From a large broodstock (which is very desirable) the total number of eggs stocked in incubation tanks or a hatchery is estimated to be about 20 % of the eggs collected from the spawning tanks throughout the season. This is because the quality and viability of the eggs varies, and it is better to confine collection of eggs for the hatchery to the middle of the season. The survival of good quality eggs during incubation is high (over 95 %) providing that a good technique is closely followed, and the incubators are cleaned of eggs which die and sink to the bottom. There can be a variation in technique before hatching depending

.../...



on the species. The eggs may remain in the same static incubator for larval rearing, or they may be removed from circulated incubators as they can withstand a certain amount of careful handling by this time. As the larvae will require progressively more space it is better to have incubators as separate units to the larval rearing containers.

#### LARVAL REARING.

Rearing the larvae of the marine species continues to prove the major factor restricting the hatchery propagation and farming of the more valuable fish. The problems associated with larval rearing have been summarized by HOUDE (1973) and NASH and KUO (1975).

Successful larval rearing is influenced strongly by many of the same factors that effect incubation of the eggs. For example, salinity (HOLLIDAY and BLAXTER, 1960 ; DOROSHEV and ARONOVICH, 1974), temperature (LASKER, 1964 ; RYLAND and NICHOLS, 1967), oxygen (SYLVESTER *et al.*, 1975), light (BLAXTER, 1968), and density (FLUCHTER, 1972 b), have all been identified by these and many other workers. However, probably the key factor preventing successful propagation is the lack of suitable larval nutrition and the related factors of feed density and water quality. A review of the many different feeds provided to marine fish larvae through the years has been provided by MAY (1970). Larval nutrition has been diversely studied from mechanically regulated feeding trials on particulate size (BARNABE, 1976) to detailed bioenergetics (EHRlich, 1974).

Many marine fish are cultured successfully with a series of live feeds. The presence of phytoplankters in the rearing tanks is common. Many phytoplankters absorb metabolites effectively and maintain ecological stability in the tanks. They also provide nutrition for the rotifer *Brachionus plicatilis*, which is now used widely for the first feed of many species reared in large or small numbers.

Rotifers are usually followed by day old nauplii of the brine shrimp *Artemia salina*. Intermediate feeds with copepods and amphipods have proved to be beneficial, and survival of the larvae through the early critical stages has been increased for very many species.

Artificial feeds have been compounded from both natural and synthesized materials and tried on a variety of species with mixed results. Microencapsulated or flaked feeds have been used by very many workers and reported widely. Microencapsulation prevents the hazards of tank fouling which is prevalent when other prepared feeds are used, but miniaturization and digestibility of the capsules for first feeding larvae are major problems.

Using the best techniques available, plaice and Dover sole have been produced consistently by many workers and anticipated larval survival at metamorphosis (6 weeks) is as high as 40 % or over. Turbot and lemon sole have been reared through metamorphosis with a lower survival (less than 10 %) as have grey mullet, red seabream, and many other species. However, not all have been produced at such levels consistently, and the reasons for the lack of repeatability are far from being clear. .../...



BIBLIOGRAPHY.

- ARONOVICH, T.M., S.I. DOROSHEV, L.V. SPECTOROVA and V.M. MAKHOTIN, 1975. Egg incubation and larval rearing of navaga *Eleginus navaga* P., polar cod *Boreogadus saida* L., and Arctic flounder *Liopsetta glacialis* P., in the laboratory. Aquaculture, 6 : 233-242.
- BALDWIN, W.J., 1975. Development of skipjack tuna fisheries in the tropical Pacific with cultured baitfishes. Regional Technical Meeting on Fisheries, South Pacific Commission, Noumea.
- BARNABE, G., 1974. Mass rearing of the bass *Dicentrarchus labrax* L. In J.H.S. Blaxter (Editor). The Early Life History of Fish. Springer-Verlag, Berlin, 749-753.
- BARNABE, G., 1976. Elevage larvaire du loup *Dicentrarchus labrax* L. à l'aide d'aliment sec composé. Aquaculture, 9 : 237-252.
- BLAXTER, J.H.S., 1968. Rearing herring larvae to metamorphosis and beyond. J. Mar. Biol. Ass. U.K., 48 : 17-28.
- DOROSHEV, S.I. and T.M. ARONOVICH, 1974. The effects of salinity on embryonic and larval development of *Eleginus navaga* P., *Boreogadus saida* L. and *Liopsetta glacialis* P. Aquaculture, 4 : 353-362.
- EHRlich, K.F., 1973. Chemical changes during growth and starvation of herring. In J.H.S. Blaxter (Editor). The Early Life History of Fish. Springer-Verlag, Berlin.
- FAO Yearbook of Fisheries Statistic, 1974. Catches and landings, 38.
- FINUCANE, J.H., 1970. Pompano mariculture in Florida. Contribution 54, Bur. Comm. Fish. Biol. Lab., St. Petersburg Beach, Fla.
- FLUCHTER, J., 1965. Versuche zur brutaufzucht der seezunge *Solea solea* in kleinen aquarien. Helgoland Wiss. Meeresuntersuch., 12 (4) : 395-403.
- FLUCHTER, J., 1972 a. Inducing of spawning in the turbot *Rhombus maximus* L. by injection of hypophyseal suspensions. Aquaculture, 1 : 285-287.
- FLUCHTER, J., 1972 b. Rearing of common sole *Solea solea* L. in small containers and in high density under laboratory conditions. Aquaculture, 1 : 289-291.
- GROSS, F., 1974. An experiment in marine fish cultivation. Proc. Roy. Soc. Ed. B., 63 (1) : 1-3.
- HANAMURA, N., 1976. Advances and problems in culture-based fisheries in Japan. FAO Technical Conference on Aquaculture, Kyoto, Japan. FIR:AQ/Conf/76/R.18.
- HASSLER, W.W. and R.P. RAINVILLE, 1975. Techniques for hatching and rearing dolphin *Coryphaena hippurus* through larval and juvenile stages. University of North Carolina UNC-SG-75-31.



- HOLLIDAY, F.G.T. and J.H.S. BLAXTER, 1960. The effects of salinity on the developing eggs and larvae of the herring. J. Mar. Biol. Ass. U.K., 39 : 591-603.
- HOUDE, E.D., 1973. Some recent advances and unsolved problems in the culture of marine fish larvae. Proc. World Mariculture Soc., 3 : 83-112.
- HOUDE, E.D., S.A. BERKELEY, J.J. KLINOVSKY and R.C. SCHEKTER, 1976. Culture of larvae of the white mullet, *Mugil curema* V. Aquaculture, 8 : 365-370.
- HOWELL, B.R., 1972. Preliminary experiments of the rearing of larval lemon sole *Microstomus kitt* W. on cultured foods. Aquaculture, 1 (1) : 39-44.
- HUNTER, J.R., 1976. Culture and growth of northern anchovy *Engraulis mordax* larvae. Fishery Bulletin, 74 (1) : 81-88.
- IFC, 1908. Proc. 4th International Fish Congress, Washington, D.C.
- JOHANSEN, A.C. and A. KROUGH, 1914. The influence of temperature and certain other factors upon the rate of development of the eggs of fishes. Cons. Int. Explor. Mer Bull., 68 : 1-44.
- JONES, A., 1972. Studies on egg development and larval rearing of turbot *Scophthalmus maximus* L., and brill *Scophthalmus rhombus* L. in the laboratory. J. Mar. Biol. Ass. U.K., 52 (4).
- KUO, C.M., C.E. NASH and Z.H. SHEHADEH, 1974. The effects of temperature and photoperiod on ovarian development in captive grey mullet *Mugil cephalus* L. Aquaculture, 3 : 25-43.
- KUO, C.M., Z.H. SHEHADEH and K. Kathy MILISEN, 1973. A preliminary report on the development, growth and survival of laboratory reared larvae of the grey mullet *Mugil cephalus* L. J. Fish Biol., 5 : 459-470.
- LAM, T.J., 1974. Siganids : their biology and mariculture potential. Aquaculture, 3 : 325-354.
- LASKER, R., 1964. An experimental study of the effect of temperature on the incubation time, development and growth of Pacific sardine embryos and larvae. Copeia, n° 2, 399-405.
- LASKER, R., H.M. FEDER, G.H. THEILACKER and R.C. MAY, 1970. Feeding, growth, and survival of *Engraulis mordax* larvae reared in the laboratory. Mar. Biol. (Berl.), 5 : 345-353.
- LIAO, I.C., 1969. Artificial propagation of grey mullet *Mugil cephalus* L. Fishery Ser. Chin. - Am. jt Comm. Rur. Reconstr. n° 8, 10-20 (in Chinese).
- LIAO, I.C., Y.J. LU, T.L. HUANG and M.C. LIN, 1971. Preliminary report on the mass propagation of grey mullet *Mugil cephalus* L. Fishery Ser. Chin.-Am. jt Comm. Rur. Reconstr., n° 11, 1-29.
- MAY, R.C., 1970. Feeding larval marine fishes in the laboratory : a review. Calif. Coop. Oceanic Fish. Invest., 14 : 76-83. .../...



- MAY, R.C., 1976. Studies on the culture of the threadfin *Polydactylus sexfilis* in Hawaii. FAO Technical Conference on Aquaculture, Kyoto, Japan. FIR:AQ/Conf/76/E:5.
- NASH, C.E. and J.E. SHELBORNE, 1967. Power station effluent as an environment for flatfish culture. ICES CM/E:10.
- NASH, C.E. and C.M. KUO, 1974. Operational procedures for rearing larvae of the grey mullet *Mugil cephalus* L. Aquaculture, 5 : 15-24.
- NASH, C.E. and C.M. KUO, 1975. Hypotheses for problems impeding the mass propagation of grey mullet and other finfish. Aquaculture, 5 : 119-133.
- NASH, C.E. and C.M. KUO, 1976. Preliminary capture, husbandry and induced breeding results with the milkfish *Chanos chanos* F. Proceedings of the International Milkfish Workshop Conference, SEAFDEC Iloilo, Philippines.
- PURDOM, C.E., A. JONES and R.F. LINCOLN. Cultivation trials with turbot *Scophthalmus maximus*. Aquaculture, 1 (2) : 213-230.
- RENE, F., 1974. Rearing of gilt-head *Sparus aurata*. In J.H.S. Blaxter (Editor). The Early Life History of Fish. Springer-Verlag. Berlin,
- ROLLEFSON, G., 1940. Artificial rearing of fry of seawater fish. Preliminary Communication, Rapp. Conseil Exp. Mer., 109 : 197-217.
- RYLAND, J.S. and J.H. NICHOLS, 1967. Effect of temperature on the efficiency of growth of plaice prolarvae. Nature, 214 (5087) : 529-530.
- SHEHADEH, Z.H., 1970. Controlled breeding of culturable species of fish - a review of progress and current problems. 14th Session of the Indo-Pacific Fisheries Council IPFC/C70/SYM 2.
- SHEHADEH, Z.H. and J.N. ELLIS, 1970. Induced spawning of the striped (grey) mullet *Mugil cephalus* L. J. Fish Biol., 2 : 355-360.
- SHELBORNE, J.E., 1964. The artificial propagation of marine fish. Adv. Mar. Biol., 2 : 1-83.
- SHELBORNE, J.E., and C.E. NASH, 1966. Sea fish culture in Britain. Proc. Nutr. Soc., 25 (2), 133.
- SHELBORNE, J.E., 1967. A technique for mass-producing young sole *Solea solea* in hatcheries. ICES CM/E:9.
- SPECTOROVA, L.V., T.M. ARONOVICH, S.I. DOROSHEV and V.P. POPOVA, 1974. Artificial rearing of the Black Sea turbot larvae. Aquaculture, 4 : 329-340.
- SYLVESTER, J.R., C.E. NASH and C.R. EMBERSON, 1975. Salinity and oxygen tolerances of eggs and larvae of Hawaiian striped mullet *Mugil cephalus* L. J. Fish Biol., 7 : 621-629.
- WIMPENNY, R.S., 1953. The plaice. The Buckland Lectures for 1949. Edward Arnold and Co., London.



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4 (abstract only) : p. 11.

## REARING OF MARINE FISH FRY IN PONDS ON THE NATURAL FOOD PRODUCTION

by

B. ELLERTSEN<sup>+</sup>, E. MOKSNESS<sup>++</sup>, P. SOLEMDAL<sup>+</sup>, S. TILSETH<sup>+</sup> and V. ØIESTAD<sup>+</sup>

<sup>+</sup> Institute of Marine Research, Directorate of Fisheries, N- 5011 Bergen, Nordnes, Norway.

<sup>++</sup>Department of Fisheries Biology, University of Bergen, N- 5011 Bergen, Norway.

### ABSTRACT.

During 1975 and 1976 survival and growth experiments were carried out in a 4 400 m<sup>3</sup> outdoor basin on larvae of cod (*Gadus morhua* L.), herring (*Clupea harengus* L.), plaice (*Pleuronectes platessa* L.), flounder (*Platichthys flesus* (L.)) and the hybrid obtained from crossing plaice females and flounder males.

The growth period was in the range 66-140 days and daily growth rates varied between 0.42-0.75 mm for different species. The survival rate was 2-3 % for cod, 10-11 % for herring, 7-9 % for plaice, 23 % for flounder and 10 % for hybrid. Incubation of pelagic eggs in the basin did not give viable larvae.

The carrying capacity of the basin was 5 300 fry (1.2 fry/m<sup>3</sup>) in 1975 and 4 800 fry (1.1 fry/m<sup>3</sup>) in 1976. During the pelagic stage of the larvae competition for food occurred, but after metamorphosis the different species exploited different niches, favoring a multiculture rearing. The cod fry predated heavily on smaller fry and on larvae, and cannibalism reduced the number of cod fry considerably. The fry produced had learned to hunt for food and escape from enemies and might be suitable for release in the sea being less naive than laboratory-reared fry.

### RESUME.

Des expériences de survie et de croissance ont été menées en 1975 et 1976 dans un bassin extérieur de 4 400 m<sup>3</sup>, sur des larves de morue (*Gadus morhua* L.), de hareng (*Clupea harengus* L.), de plie (*Pleuronectes platessa* L.), de flet (*Platichthys flesus* (L.)) et hybride plie femelle x flet mâle.

La période de croissance a duré 66 à 140 jours, et les taux de croissance quotidiens ont varié entre 0,42 et 0,75 mm, pour les différentes espèces. Le taux de survie a été de 2 à 3 % pour la morue, 10 à 11 % pour le hareng, 7 à 9 % pour la plie, 23 % pour le flet, et 10 % pour l'hybride. L'incubation des oeufs pélagiques dans le bassin n'a pas fourni de larves viables.

Le bassin a été chargé de 5 300 alevins (1,2/m<sup>3</sup>) en 1975 et 4 800 (1,1/m<sup>3</sup>) en 1976. Pendant les stades pélagiques des larves, il y a eu une compétition alimentaire, mais après la métamorphose, les différentes espèces ont exploité des niches différentes, élément favorable à une polyculture. Les alevins de morue se sont nourris activement d'alevins plus petits et de larves, et le cannibalisme a considérablement réduit leur nombre.

Les alevins produits par cette méthode ont appris à chasser pour se nourrir et à échapper à des ennemis. Moins innocents que des animaux élevés en laboratoire, ils pourraient convenir à des repeuplements en mer.



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4 : 13-20.

RECHERCHE D'UNE ALIMENTATION ARTIFICIELLE ADAPTEE  
A L'ELEVAGE DES STADES LARVAIRES DES POISSONS.  
I - COMPARAISON DE QUELQUES TECHNIQUES DESTINEES  
A AMELIORER LA STABILITE A L'EAU DES ALIMENTS.

par

François-Joël GATESOUBE et Pierre LUQUET

Avec la collaboration technique de Martine MALAVAL

Laboratoire de Nutrition des Poissons, I.N.R.A. - C.N.R.Z., 78350 Jouy-en-Josas, France.

ABSTRACT.

*The aim of the present work is to compare different methods employed for increasing the stability to water of diets used for feeding fish larvae.*

*The various methods of protection tested are :*

- *the addition of gelatin to the diet,*
- *the encapsulation by synthetic (nylon) or natural (gelatin, zein) polymers,*
- *the coating by zein.*

*The water stability of the unprotected diet particles is very low : only 3 % of the diets are recovered by filtration after 4 hours in water. The addition of 10 % gelatin improves slightly this stability (13 to 25). While encapsulation with nylon considerably increases the water-standing capacity of diets (56 to 66 %), the best results are obtained with the particles encapsulated using natural polymers (74 to 79 %).*

*Though coating with zein offers lesser stability (35 %) this method is tentatively retained due : to the ease of operation, to the absence of risks of toxicity or loss of soluble elements during fabrication and also, due to the possibility of incorporating attractant substances.*

RESUME.

*Le travail présenté a pour objet de comparer différentes méthodes permettant de conférer une meilleure stabilité à l'eau des aliments destinés à l'alimentation des larves des poissons.*

*Les procédés de protection testés sont l'addition de gélatine au régime, l'encapsulation par des polymères synthétiques (nylon) ou naturels (gélatine, zéine), ainsi que l'enrobage par de la zéine.*

*La stabilité à l'eau des particules alimentaires non protégées est très faible : seulement 3 % de l'aliment sont récupérés par filtration au bout de 4 heures. L'addition de 10 % de gélatine améliore légèrement cette stabilité (13 à 25 %). Si l'encapsulation par le nylon améliore considérablement la teneur à l'eau des aliments (56 à 66 %), ce sont les procédés d'encapsulation par les polymères naturels qui confèrent les meilleures qualités technologiques aux particules (74 à 79 %).*

*Bien que l'enrobage à la zéine procure des résultats inférieurs (35 p. 100), cette méthode est provisoirement retenue en raison de sa facilité de mise en oeuvre, de l'absence de risques de toxicité ou de pertes d'éléments solubles en cours de fabrication et de la possibilité d'incorporation de substances appétentes.*

.../...



## INTRODUCTION.

La production intensive de poissons marins implique actuellement la distribution de proies vivantes au cours des stades larvaires. Si des travaux récents (BARAHONA-FERNANDES et GIRIN, 1976 ; METAILLER et GIRIN, 1976) ont permis de réduire la période d'utilisation de telles proies, les tentatives de suppression totale, effectuées depuis longtemps (voir revue de MAY, 1970), se sont généralement soldées par des échecs et ne permettent pas d'envisager, dès à présent, une production de masse. Il semble qu'un des principaux obstacles soit l'altération du milieu provoqué par la dégradation de l'aliment non ingéré qui s'accumule sur le fond des bassins (MAY, 1970 ; ADRON *et al.*, 1974).

Afin de résoudre ce problème, MEYERS *et al.* (1971) ont proposé l'application des techniques de microencapsulation. Les aliments encapsulés sont mieux protégés contre le déliement et, de plus, leur remise en suspension ainsi possible leur confère une meilleure disponibilité ce qui permet de réduire notablement la quantité à distribuer. Il semble, cependant, que les capsules actuellement disponibles ne donnent pas satisfaction (GABBOTT *et al.*, 1975).

C'est la raison pour laquelle nous avons entrepris le travail faisant l'objet du présent article, qui a pour objectif de comparer différentes techniques d'encapsulation. L'application des techniques retenues à l'alimentation des larves de bar et de sole fera l'objet d'une deuxième publication.

## MATERIEL ET METHODES.

### Principe général de l'encapsulation.

On réalise une suspension du produit à encapsuler dans un solvant contenant le matériel de la paroi de la future capsule. On provoque ensuite une modification physique ou chimique du milieu afin d'isoler, par précipitation ou polymérisation, ce matériel en une troisième phase qui se dépose, par le jeu des tensions superficielles, à l'interface du solvant et de la phase interne. Les capsules ainsi formées sont durcies et séparées du solvant.

### Formulation des régimes.

Les substances encapsulées peuvent indifféremment être de nature liquide ou solide. Cependant, comme la réalisation d'une formule alimentaire complète et équilibrée dans la seule phase interne d'une émulsion est problématique (JONES *et al.*, 1974 ; JONES et GABBOTT, 1976), nous avons utilisé des particules alimentaires solides dont les formules sont rapportées dans le tableau 1.

- L'aliment semi-synthétique P, à base de concentré de protéines de poisson (CPSP 80) et d'amidon de maïs pré-gélatinisé (amigel) renferme environ 60 p. 100 de protéines et 9 p. 100 de lipides.

- L'aliment C, de nature plus complexe, renferme, en outre, de l'autolysat de poisson, de la farine de sang, des levures de distillerie et du germe de blé : ce mélange représente environ 45 p. 100 de protéines et 15 p. 100 de lipides.

.../...



Dénomination de l'aliment Composant	P	PG	C	CG
CPSP 80	78	78	30	30
Autolysat	-	-	10	10
Farine de sang	-	-	5	5
Levure de distillerie	-	-	5	5
Germe de blé	-	-	20	20
Vitamines <sup>(1)</sup>	2	2	2	2
Minéraux <sup>(2)</sup>	1	1	2	2
Huile de soja	2,5	2,5	6	6
Huile de foie de morue	2,5	2,5	6	6
Gélatine	-	10		10
Amigel	14	4	14	4

TABLEAU 1 : Composition centésimale des aliments destinés à être encapsulés (g p. 100 g de M.S.).

(1) HALVER, 1969

(2) LUQUET, 1971

Une première variante technologique a consisté en la substitution de 10 p. 100 d'amigel par de la gélatine. Celle-ci a été ajoutée selon le procédé décrit par ADRON et al. (1974) ; la dénomination des aliments correspondants est PG et CG.

Après broyage et tamisage, la fraction granulométrique comprise entre 400 et 630 microns a été retenue pour réaliser les essais d'encapsulation.

#### Techniques d'encapsulation.

Il existe de très nombreuses techniques d'encapsulation (GUTCHO, 1972 ; NIXON, 1976). Notre choix a été guidé par la nature du polymère constitutif de la paroi qui, compte tenu de l'utilisation à des fins alimentaires, doit, d'une part être non toxique, et d'autre part pouvoir être rompu dans le tube digestif par voie mécanique ou enzymatique.

#### Encapsulation par un polymère synthétique : le nylon

##### a) Procédé de CHANG et al., 1966

Cinq grammes de particules PG sont mises en suspension, par agitation constante, dans un bécher contenant 40 ml de chloroforme, 10 ml de cyclohexane et 0,1 ml de Span 80. On ajoute successivement 170 µl de chlorure sébacique, 5 ml d'une solution d'hexaméthylène diamine 0,4 M, d'acide 44' diamino 22' biphenyl disulforique 0,006 M et de tampon carbonate-bicarbonate de sodium 0,45 M ; après 3 minutes d'agitation, les capsules sont centrifugées et lavées dans une solution à 50 p. 100 de Tween 20, puis rincées trois fois à l'eau. Après lyophilisation, les capsules sont tamisées, la fraction 400-630 étant retenue pour les essais ultérieurs. La dénomination des capsules ainsi élaborées est : aliment PNE.

.../...



b) Procédé de SUZUKI *et al.* (1968)

Dans un bécher de 2 litres, on réalise une suspension d'aliment PG dans 225 ml de chloroforme, 75 ml de cyclohexane et 3 ml de Span 80. Sont ensuite ajoutés successivement, 4 ml d'éther dichloroéthyle et 100 ml de la solution complexe d'héxaméthylène diamine précédemment détaillée. Les centrifugations ont été remplacées par de simples filtrations et la lyophilisation par un séchage aux solvants : après 3 minutes d'agitation, la suspension est lavée par une solution de Tween 20 et d'éthanol 50/50, puis par du chloroforme et enfin par de l'éther diéthyle. L'aliment ainsi obtenu après un séchage rapide à 30° C est broyé et tamisé. La dénomination retenue pour ces capsules est aliment PEE.

Encapsulation par des polymères naturels :

L'exigence d'obtenir une capsule insoluble dans l'eau réduit considérablement le choix quant aux polymères naturels facilement utilisables : ce sont essentiellement des protéines.

a) Encapsulation par la gélatine

La gélatine est le polymère le plus couramment employé ; pour rendre les capsules insolubles, il est nécessaire de les traiter avec un aldéhyde.

Nous avons retenu le procédé de GREEN et SCHLECHER (1957) qui joue sur l'incompatibilité des solutions de gélatine et de gomme arabique : à concentration égale, il existe une dilution limite au-dessus de laquelle il se forme un précipité complexe des deux substances.

Dans la cuve d'un broyeur-mélangeur Stéphan de 25 litres, maintenue à 50° C sous agitation constante, on dissout 125 g de gomme arabique dans 2 litres d'eau ; on met en suspension 1 kg de particules d'aliment P. Une solution de 125 g de gélatine dans 1 litre d'eau à 50° C est alors ajoutée. Pour provoquer l'encapsulation, on dilue lentement avec 10 litres d'eau à 50° C (débit approximatif : 10 ml/sec). On insolubilise les parois de la capsule en ajoutant 200 ml de glutaraldéhyde. La gélatine est durcie en abaissant rapidement la température à 10° C, l'agitation étant maintenue encore pendant 10 minutes. L'ensemble des opérations déjà décrites dure une heure environ. Ensuite, la phase solide est récupérée par centrifugation, lyophilisée et tamisée. L'aliment ainsi obtenu est dénommé : aliment PGE.

b) Encapsulation par la zéine

- Méthode de BRYNKO et BAKAN, 1963

Dans un bécher de 5 litres, on ajoute à 1 350 ml d'eau, soumise à une agitation constante, 50 ml d'une solution de soude 0,3 N. Le pH d'environ 11,5 permet de dissoudre 28 g de zéine. On ajoute ensuite une suspension de 140 g d'aliment PG dans 420 ml de soude 0,3 N (ou dans 500 ml pour l'aliment CG qui est plus acide). Après une dilution lente par 2 380 ml d'eau, le pH est lentement abaissé à 4 par 200 ml d'une solution d'acide acétique à 10 p. 100 en poids. La phase solide est ensuite recueillie par centrifugation et tamisée. Les aliments ainsi préparés sont dénommés : aliments PZH et CZH.

.../...



- Utilisation du diagramme de solubilisation dans l'éthanol (MOSSE, 1961)

Dans un bécher de 5 litres, on ajoute lentement 24 g de zéine à 340 ml d'eau et 120 ml d'éthanol à 95° B (soit un degré d'alcool final de l'ordre de 75). On réalise la suspension de 120 g d'aliment PG ou CG, puis on ajoute lentement 3 litres d'eau : le degré alcoolique tombe à environ 25 et l'encapsulation se réalise. Les aliments dénommés PZA ou CZA sont alors centrifugés, lyophilisés puis tamisés.

#### Enrobage par la zéine et le gluten de maïs :

Les propriétés de solubilité de la zéine dans l'alcool permettent, en outre, de procéder à un simple enrobage : 10 g de zéine sont dissous dans 25 ml d'alcool à 60° B. Cette solution est mélangée lentement à 90 g d'aliment P ou G ; les particules enrobées sont grossièrement désagrégées, puis séchées à l'étuve à 30° C (aliments PZR et CZR).

Un procédé dérivé du précédent consiste à placer une enceinte fermée sous agitation constante à 55° C pendant une heure, 10 g de farine de gluten de maïs, tamisée à 200 µ. Après refroidissement, cette solution alcoolique permet de procéder à l'enrobage de la même façon qu'avec la solution de zéine ainsi que décrit précédemment (aliments PGR, CGR).

#### Méthode de mesure de la stabilité à l'eau des aliments.

La mesure de la stabilité à l'eau des aliments a été effectuée de façon suivante : 1 g d'échantillon, de granulométrie comprise entre 400 et 630 µ est placé dans un erlenmeyer contenant 50 ml d'eau de mer. L'erlenmeyer est soumis, pendant 4 heures, à une agitation permanente sous la forme de déplacements linéaires de 4 cm alternatifs à la fréquence de 90 va-et-vient à la minute. Les particules sont ensuite recueillies dans un entonnoir en verre fritté de porosité comprise entre 90 et 150 µ. Ces résultats sont exprimés en grammes de matière sèche restante par 100 g d'aliment sec, sur une moyenne de 4 mesures.

#### RESULTATS.

Le tableau 2 résume l'ensemble des essais réalisés et les résultats correspondants, quant à la stabilité à l'eau des aliments obtenus.

L'aliment non traité présente une stabilité à l'eau très faible (3 p. 100) quelle que soit la formulation : aliments P ou C.

L'addition de 10 p. 100 de gélatine par dissolution dans l'eau à 50° C améliore sensiblement la stabilité à l'eau, puisqu'au bout de 4 heures, 13 p. 100 (aliment CG) à 25 p. 100 (aliment PG) demeurent encore disponibles. Le dépôt de capsules de polymères synthétiques permet une nouvelle amélioration de la qualité physique recherchée, puisque les valeurs moyennes de 56 p. 100 et 66 p. 100 ont été trouvées respectivement pour les aliments PNE et PEE.

.../...



Code de l'aliment	Traitement	Référence	Stabilité à l'eau g/100 g	Risques prévisibles	
				Toxicité	Perte d'éléments solubles
P	Témoin	-	3	-	-
C	Témoin	-	3	-	-
PG	[Addition de 10 % de gélatine dissoute dans de l'eau à 50° C	ADRON et al. (1974)	25	0	0
CG			13	0	0
PNE	Encapsulation au nylon	JONES et al. (1974) CHANG et al. (1966)	56	?	+
PEE	Encapsulation à partir de l'éther dichloroéthyle	SUZUKI et al. (1968)	66	++	+
PGE	Encapsulation de la gélatine avec tannage au glutaraldéhyde	GREEN et SCHLEICHER (1957)	74	+	++
PZH	[Encapsulation à la zéine (variation de pH)	BRYNKO et BAKAN (1963)	79	?	++
CZH			79		
PZA	[Encapsulation à la zéine (solution alcoolique)	MOSSE (1961)	79	0	+++
CZA			75	0	+++
PZR	[Enrobage à la zéine	MOSSE (1961)	34	0	0
CZR			36	0	0
PGR	[Enrobage au gluten	MOSSE (1961)	14	0	0
CGR			21	0	0

TABLEAU 2 : Comparaison des différents procédés utilisés. Résultats des tests de stabilité à l'eau (en g pour 100 g) et estimation des risques (0 risque nul, + existence d'un risque).

Ce sont les miettes encapsulées par précipitation de polymères naturels qui présentent les meilleurs résultats (74 à 79 p. 100). La gélatine et la zéine, quel que soit le mode de précipitation utilisé pour cette dernière, donnent des résultats équivalents.

La technique d'enrobage à la zéine donne encore des résultats satisfaisants (35 p. 100), tandis que la protection réalisée à partir du gluten de maïs est moindre ; elle est cependant équivalente à celle réalisée par le procédé de ADRON *et al.* (1974).

#### DISCUSSION.

Une des difficultés rencontrées dans cette étude a consisté dans le choix d'une méthode d'estimation de la stabilité à l'eau des particules. D'une part, il n'existe aucune méthode de mesure standardisée, d'autre part, la plupart des tests réalisés, jusqu'à l'heure, l'ont été sur des granulés de plus grande taille et non des miettes de quelques centaines de microns de diamètre.

Le principe en est toujours d'agiter les particules dans de l'eau et de récupérer la fraction qui reste à une taille granulométrique donnée ; le mode et la durée de l'agitation sont très variables : par exemple COMBS et BURROWS (1958) placent les granulés 3 minutes dans un mixer, tandis que FORSTER (1972) les immerge durant 16 heures sur un filet et les agite doucement par des bulles d'air.

La méthode que nous allons utiliser est donc intermédiaire. Le choix de 100 - 150 microns comme taille des particules minimales à retenir lors de la filtration est basé sur le

.../...



fait qu'il s'agit d'une taille de particule susceptible d'être absorbée par les larves de poissons. Quoi qu'il en soit, il faut bien préciser que ce test n'a qu'une valeur comparative, pour permettre de différencier les effets des divers modes de protection des particules. On ne saurait attribuer aux résultats une valeur absolue quant à leur signification biologique.

Le choix définitif d'une méthode devra s'appuyer sur des essais *in vivo*. Cependant, dès à présent, il est possible d'évaluer les risques inhérents à chacune des méthodes utilisées (tableau 2).

La microencapsulation par les polymères de synthèse possède l'avantage de s'effectuer à froid ce qui diminue les risques de dénaturation ou de perte de substances thermolabiles. Par contre, c'est là un risque commun à toutes les méthodes d'encapsulation en milieu liquide, il existe des risques de pertes d'éléments solubles. Deux autres inconvénients méritent également d'être signalés, le coût élevé du chlorure sébacique et la toxicité éventuelle de la méthode d'encapsulation à partir de l'éther dichloréthyle faisant intervenir des lavages aux solvants organiques.

Bien que les polymères naturels utilisés (gélatine et zéine) soient constitués par des protéines alimentaires médiocres, leur rôle nutritionnel doit être mentionné. Si les risques de toxicité sont plus faibles que dans le cas précédent, mis à part le risque dû à l'utilisation du glytaraldéhyde lors du tannage de la gélatine, en revanche, les risques de pertes d'éléments solubles sont très élevés notamment avec la technique d'encapsulation par la zéine en milieu alcoolique.

La technique d'enrobage permet d'éliminer ces risques, elle permet en outre, par son principe même, d'ajouter à la capsule des substances destinées à améliorer l'appétence. C'est donc la méthode d'enrobage que nous avons retenue pour la plupart des essais d'application à l'élevage des larves, essais faisant l'objet d'une publication séparée.

#### REMERCIEMENTS.

Ce travail a été réalisé grâce à l'aide financière du C.N.E.X.O. (contrat 75-1294). Nous remercions également cet organisme pour les facilités expérimentales qu'il nous a accordées.

#### BIBLIOGRAPHIE.

- ADRON, J.W., A. BLAIR and C.B. COWEY, 1974. Rearing of plaice (*Pleuronectes platessa*) larvae to metamorphosis using an artificial diet. Fish. Bul., 72 (2) : 353-357.
- BARAHONA-FERNANDES, M.H. et M. GIRIN, 1976. Preliminary tests on the optimal pellet adaptation age for sea bass larvae (*Pisces, Dicentrarchus labrax* L. 1758). Aquaculture, 8 (3) : 283-290.
- BRYNKO, C. and J.A. BAKAN, 1963. US Pat. 3, 116, 206, December 31.



- CHANG, T.M.S., F.C. McINSTOSH and S.C. MASON, 1966. Semi permeable aqueous microcapsules. I.- Preparation and properties. Can J. Physiol. Pharmacol., 44, 115-128.
- COMBS, B.D. and R.E. BURROWS, 1958. An evaluation of bound diets. Prog. Fish. Cult., 124-128.
- FORSTER, J.R.M., 1972. Some methods of binding prawn diets and their effects on growth and assimilation. J. Cons. int. explor. mer., 34 (2) : 200-216.
- GABBOTT, T.A., D.A. JONES, D.H. NICHOLLS, R.W. LANGTON and M.M. HELM, 1975. Studies on the design and acceptability of microcapsulated diets for marine particulate feeders. II.-Bivalve molluscs and fish larvae. Presented at 10th Eur. Symp. Mar. Biol. Ostend, Sept. 1975.
- GREEN, B.K. and L. SCHLEICHER, 1957. U.S. Pat. 2, 800, 457, July 23.
- GUTCHO, M., 1972. Capsule technology and microencapsulation, 369 pp. Noyes Data Corporation, Noyes Building Park Ridge, New-Jersey 07656, U.S.A.
- HALVER, J.E., 1969. In Neuhaus O.W. and HALVER J.E., Fish in Research, 209-232. Academic Press New-York, London.
- JONES, D.A. and P.A. GABBOTT, 1976. In Nixon J.R., Microencapsulation, 77-91, Marcel Dekker Inc., New-York and Basel.
- JONES, D.A., J.G. MUNFORD and P.A. GABBOTT, 1974. Microcapsules as artificial food particules for aquatic filter feeders. Nature, 247 : 233-235.
- LUQUET, P., 1971. Efficacité des protéines en relation avec leur taux d'incorporation dans l'alimentation de la truite arc-en-ciel. Ann. Hydrobiol., 2 (2) : 175-186.
- MAY, R.C., 1970. Feeding larval marine fishes in the laboratory : a review. Calif. Mar. Res. Comm. Calcofi Rep., 14, 76-83.
- MEYERS, S.P., D.P. BUTLER and G.F. SIRINE, 1971. Encapsulation : a new approach to larval feeding. The American Fish Farmer, Jul. 1971, 15-20.
- METAILLER, R. et M. GIRIN. Croissance de jeunes soles (*Solea solea*) nées en laboratoire et conditionnées à l'aliment composé (à paraître).
- MOSSE, J., 1961. Monographie sur une protéine du maïs : la zéine. Ann. Physiol. Veg., 3 (2) : 105-139.
- NIXON, J.R., 1976. Microencapsulation. 215 pp. Marcel Dekker Inc., New-York, and Basel.
- SUZUKI, S., T. KONDO and S.G. MASON, 1968. Studies on microcapsules. I.- Preparation of polyurethane and polyphenolester microcapsules. Chem. pharmacol. Bull., 16 (8) : 1629-1631.



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4 : 21-25.

## THE USE OF THE BRINE SHRIMP (*ARTEMIA SALINA*) IN AQUACULTURE.

by

P. SORGELOOS<sup>†</sup>, M. BAEZA-MESA, F. BENIJTS, E. BOSSUYT, E. BRUGGEMAN,

C. CLAUS, G. PERSOONE, G. VAN DE PUTTE and D. VERSICHELE

State University of Ghent, Laboratory for Biological Research in Environmental Pollution,  
B 9000 Ghent, Belgium.

### RESUME.

Pour couvrir les besoins en recherche sur l'utilisation pratique du Branchiopode *Artemia salina* pour l'aquaculture, une équipe scientifique de l'Université d'Etat de Gand (Belgique) étudie les points suivants :

- 1- Culture de masse automatisée des larves.
- 2- Production contrôlée d'oeufs de durée.
- 3- Etude comparative des différentes variétés géographiques.
- 4- Etude du métabolisme des oeufs de durée.

### ABSTRACT.

In view of the need for research on the practical use of the brine shrimp *Artemia salina* in aquaculture, our research team at the State University of Ghent (Belgium) is studying the following aspects :

- 1- The automatized mass-culturing of larvae.
- 2- The controlled production of cysts.
- 3- The comparative study of geographical strains.
- 4- The study of the metabolism of the cysts.

.../...

---

<sup>†</sup> "aspirant" at the Belgian National Foundation for Scientific Research (N.F.W.O.).



Since both aquaculture and fish keeping as a hobby expand almost exponentially, it is expected that the provision of *Artemia* cysts, which presently can already not meet the demands any more, will become more and more a bottle-neck in the future.

In view of the crucial importance of the brine shrimp *Artemia salina* for the future developments of fish and crustacean aquaculture throughout the world, our team at the State University of Ghent, Belgium, is focusing on various aspects of the use of *Artemia* in aquaculture. The following research programs are in progress :

THE AUTOMATIZED MASS-CULTURING OF ARTEMIA LARVAE AT HIGH DENSITIES IN PILOT SCALE 2m<sup>3</sup> RACEWAYS  
(M. BAEZA-MESA, E. BOSSUYT, E. BRUGGEMAN).

In order to produce larvae which are larger than the freshly hatched nauplii and thus have a higher nutritional value, or to produce adults for controlled reproduction (oviparous or ovoviviparous) an air-water-lift operated raceway technique was developed (figures 1 et 2) (MOCK *et al.*, 1975 ; SORGELOOS *et al.*, 1977 a).

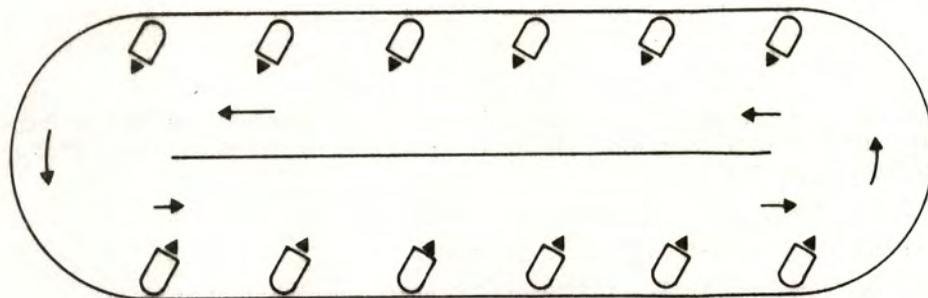


FIGURE 1 : Top view of air-lift-pump operated raceway.

As compared to other methods described in literature for the culturing of *Artemia*, this technique has several advantages : high densities of larvae (up to 3,000 per liter) can be cultured to the adult stage without any dilution nor renewal of the medium ; the oxygen level of the medium can be kept close to saturation and the culturing technique can be automatized.

A 2 m<sup>3</sup> pilot-scale model has been built in which a number of determinants (maximal input-output rates of larvae, food conversion efficiencies, cheaper food sources, etc...) are presently analyzed in detail. In view of a possible application to the maintenance of adults over longer periods of time and to the mass production of cysts, water treatment techniques for recycling of the medium are also in progress. (Technical details on the 2 m<sup>3</sup> raceway technique can be found in SORGELOOS *et al.*, 1977 a, b).

.../...



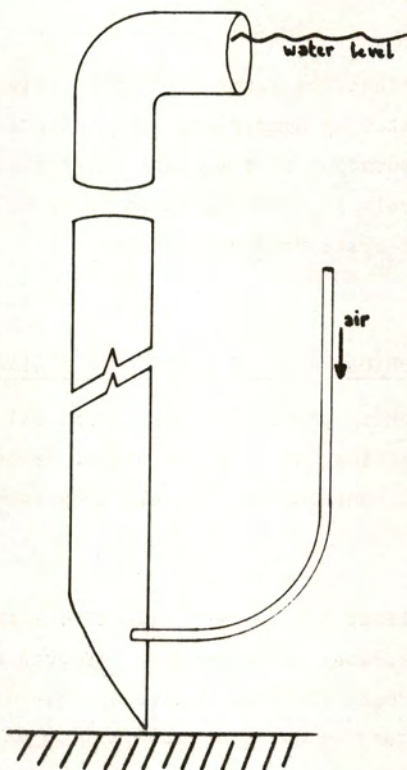


FIGURE 2 : Disassembled air-lift-pump.

THE CONTROLLED PRODUCTION OF CYSTS (D. VERSICHELE).

Although it is probable that the production costs of *Artemia* cysts artificially produced will be higher than the price paid for cysts harvested from nature, the study of the oviparous reproduction biology of the brine shrimp is important not only for a better understanding of the cyst production in nature but also and especially for the variety of fundamental research brine shrimp are utilized as a test-organism. Indeed, contrary to cysts harvested in nature, artificially produced cysts have a well-known prehistory, i.e. the abiotic and biotic conditions to which the mother *Artemia* was subjected when producing these cysts, and constitute as such a much more reliable study-material.

At the lab scale we are already able to control the mode of reproduction in *Artemia* populations : the application of cyclic oxygen stresses or the addition to the medium of ferric EDTA, induces the production of haemoglobin and seems to shift reproduction from ovoviviparity to oviparity. Techniques are now worked out to produce cysts in *Artemia* cultures of several hundred liters.

Preliminary data seem to indicate that the  $F_1$  produced cysts can differ considerably from the cysts originating from natural populations ( $P_1$ ) : e.g. cyst's size, chorion thickness, fatty acid composition, etc...

.../...



The abiotic and biotic parameters which determine these characteristics are now under investigation.

It is well-known that the dormancy of the cysts is discontinued by their transfer in a medium with suitable hatching conditions. The induction to hatch is, however, totally dependent of a previous dehydration of the cysts after their deposition by the female *Artemia*. The critical dehydration levels are now traced in order to work out practical techniques for harvesting and processing of cysts produced indoor.

COMPARATIVE STUDY OF GEOGRAPHICAL STRAINS OF ARTEMIA SALINA (C. CLAUS, F. BENIJTS).

Although brine shrimp populations are found all over the world, cysts are only harvested for commercial exploitation at a few places (especially in North America). The present shortage of cysts, as a consequence, is only temporary since many other sources could be exploited commercially.

At the European level f.ex., many aquaculture farms are complaining of difficulties to obtain good quality cysts, whereas in several European countries there are numerous salterns where *Artemia* cysts can be found (France, Italy, Spain, Portugal, Sardinia, Bulgaria, etc...). It is clear that prior to start commercial exploitation of stocks that are available locally, the quality as well as the quantity of the cysts have to be evaluated. Indeed, from the comparative study which is presently carried out in our laboratory on 50 different strains collected from all over the world, it appears that there are important differences from one strain to another : e.g. cyst's size, chorion thickness, hatching rate, tolerance ranges for survival and growth of the larvae in function of the temperature and salinity of the medium, mode of reproduction (zygogenesis versus parthenogenesis), etc... Other characteristics which are under study are the biochemical composition of the freshly hatched nauplii, their nutritional value as a food source for fish and crustacean larvae and the optimum growth and reproduction rates. Preliminary data on this comparative study have already been reported in SORGELOOS *et al.* (1976) and CLAUS *et al.* (1977).

STUDY OF THE METABOLISM OF ARTEMIA CYSTS (F. BENIJTS, G. VAN DE PUTTE).

Aquaculture farmers often complain about the considerable differences in hatchability from one batch of cysts to another. In our opinion this can be explained by the uncontrolled harvesting techniques which are utilized for collecting the cysts in nature ; indeed the time lapse between the washing ashore of the cysts and their harvest is not constant and often extends over several weeks. Fundamental research on the cyst's metabolism (SORGELOOS *et al.*, 1976 ; BENIJTS *et al.*, 1977) revealed that during this period, the cysts can be subjected to repeated metabolic activities due to the local climatic conditions. As a consequence the energetic contents of the cysts might decrease and result in a prolonged incubation time from immersion until hatching, a significant decrease of the size of the hatched nauplii and even a decrease of the hatchability.

.../...



We are convinced that by harvesting the cysts as soon as possible after their washing ashore and of course applying appropriate techniques for processing (drying) and packing (either vacuum sealed or under nitrogen atmosphere) the quality of the cysts, i.e. in the first place the hatching rate and efficiency, can be optimized.

BIBLIOGRAPHY.

- BENIJTS, F., G. VAN DE PUTTE and P. SORGELOOS, 1977. Energetic aspects of the metabolism of hydrated *Artemia* cysts. In Fundamental and applied research on the brine shrimp *Artemia salina* (L.) in Belgium. Special Publication n° 2, European Mariculture Society, Ed. Jaspers, E., Institute for Marine Scientific Research, Bredene (Belgium), 79-87.
- CLAUS, C., F. BENIJTS and P. SORGELOOS, 1977. Comparative study of different geographical strains of the brine shrimp, *Artemia salina*. In Fundamental and applied research on the brine shrimp *Artemia salina* (L.) in Belgium. Special Publication n° 2, European Mariculture Society, Ed. Jaspers, E., Institute for Marine Scientific Research, Bredene (Belgium), 91-105.
- MOCK, C.R., L.R. ROSS and B.R. SALSER, 1975. Design and evaluation of waste removal systems for shrimp culture in closed raceways. 6th Annual Meeting of the World Mariculture Society, Seattle (Washington, U.S.A.), January 27-31, 1975. Prepublication draft. 41 pp.
- SORGELOOS, P., M. BAEZA-MESA, F. BENIJTS and G. PERSOONE, 1976. Current research on the culturing of the brine shrimp *Artemia salina* L. at the State University of Ghent, Belgium. In Proc. 10th European Symposium on Marine Biology, Ostend (Belgium), September 17-23. Ed. PERSOONE, G., JASPERS, E., Vol. 1 : Research in Mariculture at Laboratory and Pilot Scale. Universa Press, Wetteren, Belgium, 473-495.
- SORGELOOS, P., M. BAEZA-MESA, E. BOSSUYT, E. BRUGGEMAN, G. PERSOONE, G. UYTTERSROT and D. VERSICHELE, 1977 a. Automatized high density culturing of the brine shrimp, *Artemia salina* L. 8th Annual Meeting of the World Mariculture Society, January 9-13, 1977, San Jose, Costa Rica.
- SORGELOOS, P., M. BAEZA-MESA, C. CLAUS, G. VAN DE PUTTE, F. BENIJTS, E. BOSSUYT, E. BRUGGEMAN, G. PERSOONE and D. VERSICHELE, 1977 b. *Artemia salina* as life food in aquaculture. In Fundamental and applied research on the brine shrimp, *Artemia salina* (L.) in Belgium. Special Publication n° 2. European Mariculture Society, Ed. Jaspers, E., Institute for Marine Scientific Research, Bredene (Belgium), 37-46.



**POISSONS MARINS PLATS**

*MARINE FLATFISH*



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4 : 27-34.

LARGE SCALE HANDLING OF THE LARVAE OF THE MARINE FLATFISH  
TURBOT, *SCOPHTHALMUS MAXIMUS* L., AND DOVER SOLE, *SOLEA SOLEA* L.,  
WITH A VIEW TO THEIR SUBSEQUENT FATTENING UNDER FARMING CONDITIONS.

by

S.J. KINGWELL<sup>+</sup>, M.C. DUGGAN<sup>++</sup> and J.E. DYE<sup>+</sup>

+ White Fish Authority, Marine Farming Unit, Ardtoe, Acharacle, Argyll PH36 4LD, Scotland.

++ White Fish Authority, Marine Farming Unit, Hunterston, West Kilbride, Ayrshire KA23 9QH, Scotland.

ABSTRACT.

*Hatchery procedures for the rearing of relatively large numbers of juvenile Dover sole and turbot used by the British White Fish Authority in 1976 are reported.*

*Production survivals for both species are given and suggest that commercially viable levels can now be obtained with Dover sole for the initial feeding stage on live diets. The techniques for producing turbot larvae in quantity have not shown repeatable results but individual batches would tend to indicate that economic levels of production may be achieved.*

RESUME.

*Les techniques d'élevage larvaire employées en Grande-Bretagne par la White Fish Authority au cours de l'année 1976 pour l'obtention de nombres relativement importants de juvéniles de turbots et de soles, sont décrites.*

*Les taux de survie enregistrés pour les deux espèces sont indiqués. Chez la sole, la conduite des stades initiaux de développement sur nourriture vivante semble permettre de produire les quantités nécessaires à une exploitation commerciale. Chez le turbot, par contre, les techniques utilisées n'ont pas, jusqu'à présent, fourni de résultats reproductibles. Pourtant, les conclusions que l'on peut tirer de certains cas particuliers pourraient indiquer que l'obtention de niveaux de production rentables est possible.*

.../...



## INTRODUCTION.

As part of its work to develop continuing supplies of marine fish to the British consumer, the White Fish Authority has conducted extensive trials to develop commercially orientated techniques for the intensive farming of several species of indigenous flat fish (HOWARD, 1974 ; KINGWELL, 1974 ; KERR and HOWARD, 1975 ; KERR, 1976 a).

Results are presented here of recent experience in mass hatching and rearing the larvae of turbot, *Scophthalmus maximus* L., and Dover sole, *Solea solea* L., fed live diets until a size between 20 and 30 mm in length had been reached, following metamorphosis. The major objective of all the trials reported was to provide the largest number of juveniles possible for weaning to artificial diets and rearing experimentation (KERR, 1976 b) with secondary objectives of providing technical data to allow commercial costs to be examined (WFA, 1976 a) and lastly to improve the rearing systems.

The hatchery systems for both species were first based on the pioneering research conducted by the Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (JONES, 1972, 1973 ; JONES et al., 1973 ; SHELBOURNE, 1975) and relevant French experience (GIRIN, 1973, 1974 a, b), adapted where necessary to conform to mass rearing practice.

Growth beyond the 25 - 30 mm stage and subsequent weaning to prepared diets is not considered here but is discussed by GIRIN (1974 b), KERR (1976 b) and SMITH (1976) and reported in Authority publications (WFA, 1973, 1974 a, b, 1975 a, b, c, d, 1976 b, c).

## METHODS AND RESULTS.

### Dover sole.

Three sizes of glass reinforced plastic (G.R.P.) circular tank (4.5 m<sup>2</sup>, 2.0 m<sup>2</sup> and 1.75 m<sup>2</sup>), with internal black gel coat, were erected in an insulated building at the Authority's Hunterston Unit, Ayrshire. Each tank was supplied with either ambient or warmed coastal seawater. The latter achieved by passing supplies through a titanium plate heat exchanger (ATV model HXD (4)) utilising the heat from the seawater discharged by the South of Scotland Electricity Board's generating station at Hunterston. Temperatures were monitored by a Cambridge Foster thermograph mounted in a 108 m<sup>3</sup> GRP header tank distributing water to the rearing tanks.

Each of the rearing tanks had a central perforated PVC screen (4.0 mm mesh) overlaid by fine nylon mesh (650 μ) for the egg and early larval stages, leading to an external stand-pipe to control water level. Illumination was provided for twelve hours of the day (08.00 - 20.00) by one 65 W warm-white fluorescent batten at a water surface intensity of approximately 400 lux. Aeration by 25 mm cube air stones to each tank was continuous and supplied by a Nash Hytor (model MD673) compressor.

.../...



Fertilised eggs were obtained from adult fish captured two to fourteen months prior to spawning in the English Channel and Blackwater estuary and held in 11.0 m<sup>3</sup> black butyl rubber (0.75 mm skin) lined brick tanks. Water temperature was maintained to the contemporaneous temperature of the southern coast of the U.K. by the addition of untreated power station coolant water to the ambient supply. Natural lighting was provided by louvred skylights which were adjusted to give a maximum light intensity of 200 lux. Spawning was allowed to occur naturally, the fertilised eggs being collected daily from the water surface by a fine soft terylene hand net after concentration in one area by a sliding screen.

Eggs were incubated in 0.34 m<sup>2</sup> black polythene baths held in constant temperature rooms (Fearle Bush UCL 45) at a temperature of 12.0° C ± 1° C. Eggs were stocked at a density of 1 x 10<sup>4</sup> per m<sup>2</sup> for up to five days in filtered seawater treated with a single dose of antibiotics (50 i.u. streptomycin sulphate and 50 i.u. sodium penicillin). Dead eggs were siphoned daily from the bottom of the baths.

Twenty-four hours prior to hatching live eggs were weighed. The number was estimated from a counted 1 g sample. They were then transferred in 1.0 L plastic containers to the rearing tanks. Temperature equilibration between the incubation and rearing temperatures was achieved by floating the containers in the rearing tanks which were held in static water conditions without aeration.

When hatching was completed the tanks were flushed for 24 hours at a rate of 1 change of tank volume per day to remove shell debris and hatching enzymes. Thereafter static water conditions were maintained until newly hatched *Artemia salina* L., nauplii were fed on the fifth or sixth day after hatching when gentle aeration was applied continuously. Irrigation, at a flow rate of 1 volume change per day, to remove uneaten *Artemia* was provided for two hours prior to the introduction of the days feed ration. This treatment was maintained until day 70 when irrigation was made continuous at an exchange rate of 5 changes per day.

Temperatures for the first 25 days in the semi-static tanks were not controlled by irrigation but rose slowly with the hatchery ambient air temperature (9.5° - 17° C). On the commencement of irrigation temperatures were held within the range 17° - 20° C.

Larvae were fed initially on *Artemia* nauplii. The cysts were incubated over a 44 hour period at a temperature of 23° C in an insulated hatchery capable of producing 60 x 10<sup>6</sup> nauplii per day. Metamorphosed fish were weaned on to the enchytraeid oligochaete, *Lumbricillus rivalis*, extracted from partially decomposed seaweed by a washing and grading process.

Production data for 1976 is given in table 1.



Tank No.	Tank size (m <sup>2</sup> )	No. stocked	No. at Day 5 (first feeding)	No. at Day 84 (mean size 20 mm)	% survival at Day 84	
					From egg	From Day 5
1	1.75	14,000	7,600	6,900	49.3	90.8
2	1.75	11,900	6,600	6,600	55.5	100
4	1.75	15,750	7,200	7,200	45.7	100
5	4.5	23,000	9,900	9,900	43.0	100
6	4.5	27,000	10,700	10,700	39.6	100
7	4.5	27,000	12,900	12,900	47.8	100
8	2.0	11,300	5,400	5,400	47.8	100
9	2.0	11,300	5,100	5,100	45.1	100
10	2.0	11,300	5,000	5,000	44.2	100
11	2.0	6,300	3,100	3,100	49.2	100
12	2.0	14,000	4,300	4,300	30.7	100
13	2.0	14,000	3,500	3,500	25.0	100
14	2.0	14,000	3,600	3,600	25.7	100
15	2.0	14,000	3,500	3,500	25.0	100
16	2.0	13,000	3,300	3,100	25.4	93.9
17	2.0	14,000	4,000	4,000	28.6	100
18	2.0	16,800	4,500	4,400	26.8	97.8
19	2.0	17,500	2,100	2,100	12.0	100
21	2.0	14,000	3,700	3,400	26.4	91.9
23	2.0	21,000	4,500	4,300	21.4	95.6
24	2.0	14,000	5,200	5,200	37.1	100
26	2.0	14,000	4,000	3,300	28.6	82.5
27	2.0	14,000	6,200	5,400	44.3	87.1
28	2.0	14,000	3,500	3,300	25.0	94.3
		367,150	129,400	126,200	35.24	97.5

TABLE 1 : Survival of the 1976 production of Dover sole larvae at WFA Hunterston to the end of the live diet feeding period\*.

\* Taken from WFA (1976 b)

Turbot.

Several sizes of tankage were used during the course of the 1976 production, the most commonly used were circular tanks of 2.7 m<sup>3</sup>, 0.93 m<sup>3</sup>, 0.50 m<sup>3</sup>, 0.20 m<sup>3</sup> and 0.08 m<sup>3</sup> volume. All were made of GRP with an internal black gel coat and had flat bases. The tanks were housed in an insulated, heated, sectional building at the Authority's Ardtoe Unit, Argyll and supplied with ambient seawater abstracted via a sand filtration system.

Tank temperatures were controlled by thermostatically operated silicon glass sheathed heaters (Thermal Syndicate Ltd.), the water remaining static for up to the first 25 days from hatching. Vigorous aeration via airstones was supplied from a Blackman (model SIZEB) compressor.

.../...



Continuous illumination at high intensity (up to 3,000 lux) was used, supplied either by several 1.5 m warm-white fluorescent battens (Thorn Lighting, A4Z/65) or from 150 watt tungsten filament spot lights (Osram PAR38) suspended 50 cm above the water surface.

Eggs and milt were obtained by manual stripping from 4 to 10 group fish held since juvenile capture (30 mm length) at the Authority's station at Hunterston. Discoloured and non-buoyant eggs were discarded and the remainder fertilised with motile sperm from at least two males. After 30 minutes the water was changed and the eggs incubated at  $12.2 \pm 0.7^\circ \text{C}$  at a stocking density of  $3 \times 10^4$  per  $\text{m}^2$  in filtered seawater treated with antibiotics (50 i.u. of both streptomycin sulphate and sodium penicillin).

Fertilised eggs were also obtained from the Ministry of Agriculture, Fisheries and Food Laboratory at Lowestoft and from C.N.E.X.O., Brest, France. All eggs were despatched to Ardtoe in insulated containers 24 hours prior to hatching.

The eggs were weighed, the numbers estimated from a counted 1 g sample and transferred to 70 l plastic bags suspended in previously prepared hatchery tanks.

Rotifer and algal cultures were added to the tank prior to release of the hatched larvae in order to culture a rotifer density in excess of 10 per ml at day 4 from hatching. Each tank received a 3.5 % inoculum of algae (by volume) containing 20 ml of a proprietary plant food ("Bio") and 2 ml of a vitamin solution (Crookes, Multi-vitamin), illumination, vigorous aeration and temperature control at  $12^\circ \text{C}$  were applied. Two days prior to receiving the fish eggs, rotifers, *Brachionus plicatilis*, were added at a level of 2 per ml and the tank temperature raised to  $16^\circ - 18^\circ \text{C}$ . The day after hatching (day 1) the plastic bag was split to approximately 35 cm below the water level and the larvae encouraged to escape by gentle aeration. After 24 hours hatching rates were estimated by siphoning unhatched eggs. Daily counts of rotifer and algal concentration within the tanks and main cultures were made to estimate the required addition of new cultures. When the larval length reached 6 mm (5 - 8 days), newly-hatched *Artemia* nauplii were fed and rotifer feeding was reduced, usually terminating by day 11. Naupliar feeding continued until the metamorphosed juveniles were weaned on to prepared diets at a size of 25 - 30 mm.

Several species of algae were cultured following established procedures (WFA, 1976 e), the most widely used being *Phaeodactylum tricornerutum*, *Monochrysis lutheri*, *Chaetoceros calcitrans*, *Isochrysis galbana*, *Pseudisochrysis paradoxa* and *Chroomonas crotum*. Normally, *Phaeodactylum* was used only in rotifer cultures or metanaupliar cultures of *Artemia*. The other species were added daily to larval rearing tanks, quantities being dictated by availability. Production performance was monitored by taking daily counts of cell density.

Up to 300 l of rotifer culture were maintained at approximately 200 per ml in 30 l aerated flasks at  $26 - 30^\circ \text{C}$  under conditions of low intensity background lighting. Cultures were cropped daily, replacing the withdrawn culture with the equivalent volume of algal culture to maintain a feeding density. Daily counts were taken.

.../...



*Artemia* nauplii were hatched using a 24 hour incubation period at temperatures of 28 - 30° C in an insulated hatchery capable of producing  $6 \times 10^6$  nauplii per day. A 24 hour incubation period was favoured in preference to a 48 hour cycle as it was believed that the majority of the nauplii hatched in this manner contained greater food reserves (WFA, 1975 e).

Production data for 1976 is given in table 2.

Tank No.	Tank size l	Eggs received $\times 10^3$	Eggs stocked $\times 10^3$	First feeding larvae (Day 2) $\times 10^3$	No. at Day 20	No. transferred for weaning* (20 mm <sup>+</sup> )	% Survival prior to weaning	
							From eggs stocked	From Day 2
1	80	11.0	5.0	5.0	30	0	0	0
3	80	11.0	5.6	5.6	0	0	0	0
4	932	56.1	31.3	7.5	3,680	3,550	11.3	47.3
5	80	5.5	1.0	1.0	19	19	1.9	1.9
6	500	63.8	23.2	17.9	4,803	4,803	20.7	26.9
7	500	55.0	7.0	7.0	210	210	3.0	3.0
8	3 x 200	44.0	7.9	7.5	656	465	5.9	6.2
9	2 x 80	26.4	1.5	1.5	228	59	0.25	0.25
10	80	13.2	4.0	0.4	151	151	3.8	37.8
11	500	30.8	25.0	25.0	41	41	0.16	0.16
12	2,700	64.9	30.0	8.5	6,000	5,000	16.7	58.8
13	2,700	92.4	55.0	3.0	1,820	1,043	1.9	34.8
14	3 x 200	66.0	30.0	25.0	1,413	1,362	4.5	5.4
15	2,700	44.0	37.0	22.0	8,000	4,491	12.1	20.4
16	500	55.0	40.0	7.0	2,500	520	1.3	7.4
		639.1	303.5	143.9	29,551	21,714	7.2	15.1

TABLE 2 : Survival of the 1976 production of turbot larvae at WFA Ardtoe to the end of the live diet feeding period\*.

\* Taken from WFA, 1976 d.

+ Nos. of fish above 20 mm length removed from hatchery tanks preparatory to transfer to weaning procedure as discussed by SMITH (1976).

#### DISCUSSION.

The results obtained during the 1976 production have confirmed SHELBOURNE's (1975) findings that large numbers of metamorphosed sole can readily be produced at a size of over 20 mm. Concurrent economic studies (WFA, 1976 a) have indicated that at a production survival of 33.3 % of larvae at 28 mm from the initial egg stocking, hatchery production would be economic in annual production units of 650,000 and over. The achievement of a gross survival in 1976, at this stage, of 35.2 % (table 1) is encouraging.

.../...



The turbot technology is not so far advanced as indicated by the great fluctuations in larval survival between batches of eggs and repetitive larval rearings. The gross survival of 7.2 % in 1976 is below the level of 10 % necessary for commercial viability (WFA, 1976 a) at present, but the ability to obtain individual survivals in excess of 20 % would indicate that with further work commercially economic survivals could be reached.

BIBLIOGRAPHY.

- GIRIN, M., 1973. Nutrition de la larve de turbot (*Scophthalmus maximus* L.) avant la métamorphose. Symposium on the Early Life History of Fish, Oban. FAO Fish. Rep., (141) : 34.
- GIRIN, M., 1974 a. Régime alimentaire et pourcentage de survie chez la larve de sole (*Solea solea* L.). Colloque sur l'Aquaculture. Actes de colloques, 1, CNEXO Ed. : 175-185.
- GIRIN, M., 1974 b. Régime alimentaire et pourcentage de survie chez la larve de turbot (*Scophthalmus maximus* L.). Colloque sur l'Aquaculture. Actes de colloques, 1, CNEXO Ed. : 187-203.
- HOWARD, K.T., 1974. U.K. trials on rearing systems for marine flatfish cultivation. Fish Farming International, n° 3, 22-36.
- JONES, A., 1972. Studies on egg development and larval rearing of turbot, *Scophthalmus maximus* L., and brill, *Scophthalmus rhombus* L., in the laboratory. J. Mar. Biol. Ass. U.K., 52 (4) : 965-986.
- JONES, A., 1973. Observations on the growth of turbot larvae, *Scophthalmus maximus* L., reared in the laboratory. Aquaculture, 2 : 149-155.
- JONES, A., R. ALDERSON and B.R. HOWELL, 1973. Progress towards the development of a successful rearing technique of larvae of turbot, *Scophthalmus maximus* L. Symposium on the Early Life History of Fish, Oban. FAO Fish. Rep. (141) : 38.
- KERR, N.M., 1976 a. Recent technical advances in marine flatfish farming. Proc. Roy. Soc. Edin., 75 (19) : 263-270.
- KERR, N.M., 1976 b. Marine fish farming : the interface between development and application. 2nd European Congress on Fish Farming, London.
- KERR, N.M. and K.T. HOWARD, 1975. The potential for marine cultivation in the U.K. Royal Society of Arts Conference (London).
- KINGWELL, S.J., 1974. The use of artificially warmed water for marine fish cultivation. Pro Aqua - Pro Vita 6A, 298-310.
- SHELBOURNE, J.E., 1975. Marine fish cultivation : pioneering studies on the culture of the larvae of the plaice (*Pleuronectes platessa* L.) and the sole (*Solea solea* L.). MAFF Fish. Invest., II (27) : 9.

.../...



- SMITH, P.L., 1976. The development of a nursery technique for rearing turbot, *Scophthalmus maximus* L., from metamorphosis to on-growing size - progress since 1970 by the British White Fish Authority. FAO FIR:AQ/Conf/76/E.30.
- W.F.A., 1973. The work of the White Fish Authority on the cultivation of the turbot, *Scophthalmus maximus* L., in ambient sea water, on the Scottish West Coast. Field Report 115.
- W.F.A., 1974 a. The development of a hatchery mass-rearing technique for Dover sole during the 1974 hatching season. Field Report, 101 (2).
- W.F.A., 1974 b. The temperature dependence of 'O' gp. turbot of wild origin, during their first winter in captivity. Field Report 120.
- W.F.A., 1975 a. Hatchery production and weaning trials with Dover sole. Field Report 405.
- W.F.A., 1975 b. The temperature dependence of 'O' gp. turbot of wild origin during their first winter in captivity (1974 hatch). Field Report 174.
- W.F.A., 1975 c. Growth and survival of 'O' gp. turbot of hatchery origin, during the first winter period from hatching (1974 hatch). Field Report 123.
- W.F.A., 1975 d. Growth and survival of 'O' gp. turbot of wild origin and excess to the requirements of Project T104, during the first winter in captivity. Field Report 179.
- W.F.A., 1975 e. The continued development of a larval rearing technique for turbot, *Scophthalmus maximus* L. Field Report 407.
- W.F.A., 1976 a. A study to forecast the commercial costs of farming Dover sole and turbot (1975 prices). Technical Report 130.
- W.F.A., 1976 b. Rearing juvenile Dover sole from Day 84-104 ; the problems encountered with survival and an examination of the possible causes of mortality. Field Report 480.
- W.F.A., 1976 c. Dover sole weaning at Hunterston during the 1976 hatching season. Field Report 448.
- W.F.A., 1976 d. To repeat the 1974 hatching and larval rearing system for the production of a large number of juvenile turbot for post hatchery rearing. Field Report 445.
- W.F.A., 1976 e. Seed mollusc hatchery procedure and equipment specification. W.F.A. Special Report.



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4 : 35-50.

ACCOUTUMANCE DE JEUNES SOLES (*SOLEA SOLEA*)  
A DIFFERENTS ALIMENTS INERTES APRES ACHEVEMENT DE LA METAMORPHOSE

par

Michel GIRIN, Robert METAILLER et Jacqueline NEDELEC

Centre Océanologique de Bretagne, B.P. 337, 29273 Brest Cédex, France

ABSTRACT.

A comparative test of various inert diets was performed on 9 batches of 150 one month old soles, weighing an average 43 mg, and feeding on live brine shrimps. It lasted for 2 months, in 60 l square tanks, with sand bottoms.

A succession of frozen natural feed, ending with the Bivalve *Laevicardium crassum*, was compared to 2 different artificial diets, offered as dry pellets. The inurement to the pellets was facilitated by an incorporation of various meals, used as flavourings, during a 6 weeks transitory period.

At the end of the experiment, the best result, 98 % survival, average weight 1.10 g, was obtained with the natural feed. The best flavourings for dry pellets were *Laevicardium crassum* and the Polychaete *Nephtys hombergii*, with 70 % survival and 0.99 g for the first one, 53 % survival and 1.10 g for the second one.

The possible reproduction of these results on a large scale is not yet demonstrated.

RESUME.

Une expérience d'accoutumance à divers aliments inertes est effectuée sur une série de 9 lots de 150 soles âgées de 1 mois, pesant en moyenne 43 mg, habituées à se nourrir d'*Artemia salina* vivantes. Réalisée dans des bacs carrés de 60 l, à fond de sable percolé, elle dure 2 mois.

Une succession d'aliments naturels congelés, qui s'achève par de la chair du mollusque bivalve *Laevicardium crassum*, est comparée à deux formules d'aliments composés, présentés sous forme de granulés secs. L'accoutumance à ces granulés est facilitée par l'incorporation de diverses farines naturelles faisant fonction d'attractant, pendant une période transitoire de 6 semaines.

Au terme de l'expérience, le meilleur résultat, 98 % de survie et 1,10 g de poids moyen, est fourni par les aliments naturels. Les farines de *Laevicardium crassum* et de l'Annélide Polychète *Nephtys hombergii* se montrent les meilleurs attractants, avec 70 % de survie et 0,99 g en moyenne pour la première, 53 % de survie et 1,10 g en moyenne pour la seconde.

La possibilité d'une application de ces résultats à grande échelle n'est pas démontrée.

.../...



## INTRODUCTION.

Un travail antérieur (METAILLER et GIRIN, 1976), a montré qu'il est possible d'habituer de jeunes soles de 50 mg (36 jours depuis l'éclosion, à 18° C), nées en laboratoire, et nourries jusque là de proies vivantes (*Brachionus plicatilis* et *Artemia salina*), à consommer des aliments composés présentés sous forme de granulés secs. Ce résultat n'a cependant été obtenu qu'au prix d'un arrêt à peu près total de la croissance des poissons pendant une vingtaine de jours, et, au mieux, de la mort des trois quarts d'entre eux.

La méthode employée reposait principalement sur l'emploi d'aliments relais, *Artemia* congelées, et granulés comportant diverses proportions de farine d'*Artemia*. L'observation montrait que, si les *Artemia* congelées étaient bien appréciées par les poissons, les divers granulés n'étaient que très difficilement acceptés. L'analyse de l'expérience faisait apparaître, entre autres, la nécessité d'une recherche plus approfondie sur la nature des appétants susceptibles d'être incorporés à l'aliment.

C'est l'objet du travail décrit ici. La farine d'*Artemia* s'y trouve comparée à des farines réalisées à partir d'un autre crustacé, l'Euphausiacée *Meganyotiphanes norvegica* (krill), de l'annélide polychète *Nephtys hombergii* (gravette blanche), et de la chair du mollusque bivalve *Laevicardium orassum* (bucarde de Norvège). Toutes ces farines sont réalisées au laboratoire, à partir de produits lyophilisés. La comparaison est étendue à deux sous-produits du décorticage des crevettes pénéides, aimablement offerts par le Dr. S.P. MEYERS : une farine, et un concentré protéique en poudre. Les granulés secs complétés avec ces divers produits sont confrontés à une alimentation humide, basée sur la succession d'*Artemia*, de gravette, et de chair de bucarde, présentés sous forme congelée.

## MATERIEL ET METHODES.

Les animaux proviennent de deux pontes naturelles de reproducteurs captifs, écloses les 21 et 23 avril 1976. 20 000 larves de la première ponte, et 10 000 de la seconde sont mises en élevage le jour de l'éclosion, dans un même bac cylindro-conique de 450 l, suivant une méthode décrite antérieurement (GIRIN, 1974). Les poissons sont transférés dans un bac de pisciculture classique de 2 m<sup>3</sup>, à fond de sable percolé, au moment de la métamorphose, à la fin de leur 2<sup>ème</sup> semaine. Le 22 mai, à l'âge moyen de 30 jours, leur taux de survie, calculé par décompte de la mortalité quotidienne, est de 56 % (entre 20 et 30 jours, la mortalité reste inférieure à 5 %). Un échantillon de 10 individus, fixés au formol neutre à 5 %, accuse un poids moyen individuel de 43,5 ± 8,5 mg (seuil des 95 %).

9 lots de 150 poissons sont alors constitués, et transférés dans des bacs de 60 l, à fond de sable percolé, avec exhausteur ("air-lift") central, identiques à ceux qui ont été employés pour des travaux du même genre chez le bar, *Dicentrarchus labrax* (BARAHONA-FERNANDES et coll., 1976). Ils sont soumis à l'éclairage normal du hall d'élevage, et à la photopériode naturelle de la saison (entre 14 et 15 h de jour). La température de l'eau du circuit semi-fermé qui les alimente est fixée entre 19 et 20° C.

.../...



Tous les lots reçoivent, pendant les 10 premiers jours de l'expérience, des doses quotidiennement décroissantes d'*Artemia* congelées et lyophilisées (fig. 1). L'utilisation d'*Artemia* lyophilisées, offertes en continu grâce à des distributeurs automatiques à bande, permet de limiter les distribution d'*Artemia* congelées à 2 repas, le matin et le soir.

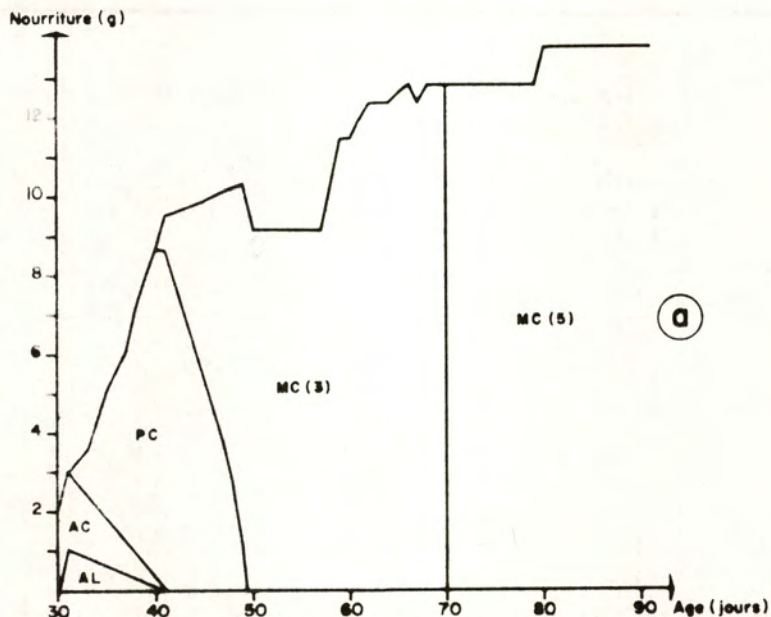
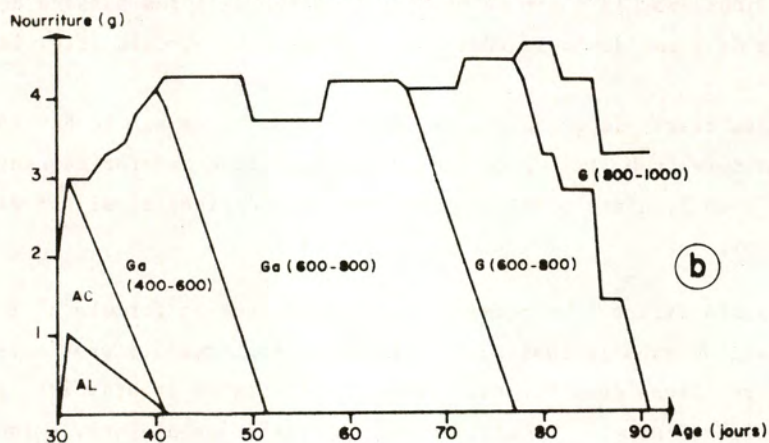


FIGURE 1 : Qualités et quantités de nourriture offertes quotidiennement dans les différents lots.

Pour faciliter les comparaisons, toutes les quantités sont exprimées sur les graphiques en poids sec. Les taux d'humidité des produits frais sont indiqués entre parenthèses après les légendes des sigles.

a) Lot PMC (nourriture naturelle congelée)

b) Tous autres lots (granulés secs)

AL : *Artemia* lyophilisées. Nauplii et metanauplii de 1 mm.

AC : *Artemia* congelées (90 %). Nauplii et metanauplii de 1 et 2 mm.

PC : Polychètes hachées congelées (80 %).

MC : Mollusques hachés congelés (77 %). Les chiffres entre parenthèses indiquent les dimensions de la filière, en mm.

Ga : Granulé avec 10 % d'appétant (7 %). Les chiffres entre parenthèses indiquent les dimensions de tamisage, en microns.

G : Granulé sans appétant spécial (7 %).

.../...



Le lot nourri avec les aliments naturels congelés reçoit 4 repas quotidiens, vers 9 h, 14 h, 17 h et 22 h. Aux *Artemia*, sont d'abord ajoutées les polychètes, congelées après avoir été finement hachées au mixer. Elles sont ensuite progressivement remplacées, entre le 40ème et le 50ème jour, par la chair de mollusque, congelée après passage dans un hachoir muni d'une filière de 3 mm, jusqu'au 70ème jour, et de 5 mm au-delà (fig. 1a).

Dans les essais de granulés, des résultats obtenus sur le bar (BARAHONA-FERNANDES et coll., 1977) conduisent à limiter le taux d'incorporation des farines animales choisies comme attractants à 10 %. L'emploi des aliments-relais réalisés ainsi est restreint à 6 semaines (fig. 1b).

Le granulé offert à un premier lot est basé sur la formule n° 1 (METAILLER et GIRIN, 1976), détaillée dans le tableau 1, qui ne contient que des protéines animales, et sert d'aliment de référence dans les expériences réalisées au laboratoire. En période transitoire, 10 % de farine d'*Artemia*, le seul attractant testé jusqu'alors, y sont incorporés.

CODE DU LOT	1 A		57 A	57 K	57 P		57 M	57 CPC	57 FC
FORMULE DE BASE (Composition en % sec) :	<i>P</i>	<i>L</i>			<i>P</i>	<i>L</i>			
Farine de hareng de Norvège Norseamink	15	18,9	1,8		10,5	13,3	1,3		
Farine de morue	15	24,0	1,9		3	4,8	0,4		
Farine de poisson (Pérou)					8	11,5	1,3		
C.P.S.P. 80	15	16,8	1,6						
C.P.S.P. Spécial G					5	7,0	1,4		
Autolysat de poisson	5	10,0	0,6		4	8,0	0,5		
Levure cultivée sur alcanes : Toprina L					10,5	14,6	0,2		
Levure de boulangerie					4	9,9	0,4		
Zéine					4,5	4,5			
Méthionine					0,5	0,5			
Huile de foie de morue	4,0					2,5			
Huile de poisson						1,8			
Huile de colza	2,1					2,1			
Huile de soja						2,1			
Amidon de maïs pré-gélatinisé	8,2					6,0			
Malto dextrine	12,0					6,0			
Cellulose						1,4			
Prémélange vitaminique et minéral (dont 2 % de dextrose)	4,0					4,0			
ATTRACTANT : incorporé à raison de 10 % de la formule de base	<i>Artemia salina</i>	<i>Artemia salina</i>		Krill	Polychète	Mollusque		Concentré protéique de crevette	Farine de crevette
ANALYSE CHIMIQUE :									
Humidité	7,7	7,4	7,0	7,0	6,2	6,5	6,3	6,3	6,4
Matières protéiques (N x 6,25) (% matière sèche)	52,1	51,0	52,6	52,6	52,5	52,2	52,6	52,6	50,1
Matières grasses (% matière sèche)	12,0	14,4	13,7	13,7	13,9	13,6	14,0	14,0	13,9
Matières minérales (% matière sèche)	10,3	8,5	8,4	8,4	8,7	8,1	8,5	8,5	9,8

**TABEAU 1 :** Composition et analyse chimique des différents aliments composés employés.

Les chiffres en italique indiquent l'apport en protéines (P) et en lipides (L) de chaque constituant (en % théorique de l'aliment sec).

.../...



La nourriture des 7 autres lots est basée sur une nouvelle formule, référencée sous le n° 57 (tableau 1). Il s'agit d'une évolution de la formule n° 19, dont les sources protéiques sont partiellement végétales, et qui a déjà donné de bons résultats sur la sole (METAILLER et GIRIN, 1976). Elle en diffère par l'emploi d'un nouveau liant, la zéine, protéine végétale insoluble dans l'eau, dont les qualités ont été montrées par GATESOUBE et LUQUET (sous-presse). La technique de fabrication de l'aliment s'en trouve légèrement modifiée. La zéine est ajoutée à la fin du malaxage des différents constituants, en solution dans de l'éthanol à 70 %. Ce produit s'évapore au cours du séchage. Pendant la période transitoire, il est incorporé aux différents constituants 10 % de farine d'*Artemia*, de krill, de polychète, de mollusque, de crevette, ou de concentré protéique de cette dernière, en guise d'appétant. Le test avec de la farine d'*Artemia* est doublé.

Dans l'unité d'élevage, les 9 bacs expérimentaux sont installés en une seule rangée, dont les deux régimes identiques occupent les extrémités. Ils sont caractérisés par l'aliment de base employé, et l'attractant choisi :

- Formule 57, 10 % d'*Artemia* (57 A)
- Formule 57, 10 % de krill, *Meganyctiphanes norvegica* (57 K)
- Formule 57, 10 % de polychète, *Nephtys hombergii* (57 P)
- Formule 57, 10 % de mollusque, *Laevicardium crassum* (57 M)
- Formule 57, 10 % de concentré protéique de crevette (57 CPC)
- Formule 57, 10 % de farine de crevette (57 FC)
- Formule 1, 10 % d'*Artemia* (1 A)
- Polychète et mollusque congelés (PMC)
- Formule 57, 10 % d'*Artemia* (57 A')

Les poissons morts sont dénombrés quotidiennement, et enlevés, en même temps que d'éventuels excès de nourriture. 10 individus sont prélevés au hasard, et fixés au formol neutre à 5 %, aux âges de 35, 40, 45, 50, 55, 60, 70, 80 et 90 jours, pour mesure ultérieure de leur taille et de leur poids. Les poissons sont égouttés individuellement sur du papier-filtre avant la pesée. Cette pratique, et la fixation, fournissent des valeurs de l'ordre des 3/4 de ce qui peut être obtenu sur l'animal vivant (LOCKWOOD et DALY, 1975).

#### RESULTATS.

Les animaux acceptent très bien les *Artemia* congelées : elles sont presque toujours entièrement consommées dans les 3 h qui suivent leur distribution. Les *Artemia* lyophilisées sont nettement moins appréciées, et sont rarement toutes consommées, ce qui s'accorde avec les observations de BROMLEY (1974). Les polychètes congelées sont presque aussi bien acceptées que les *Artemia* congelées. Le mollusque congelé est totalement refusé pendant 3 à 4 jours, puis accepté petit à petit. Haché sur une filière de 3 mm, il semble un peu trop gros pour les animaux de moins de 60 jours, mais convient bien après. L'emploi d'une filière de 5 mm, à partir de 70 jours, est manifestement prématuré. Le granulé est à peu près totalement refusé pendant au moins une semaine, puis devient peu à peu consommé, plus ou moins rapidement suivant sa qualité. Il semble que le granulé n° 1 soit accepté un peu plus facilement que le granulé n° 57.

.../...



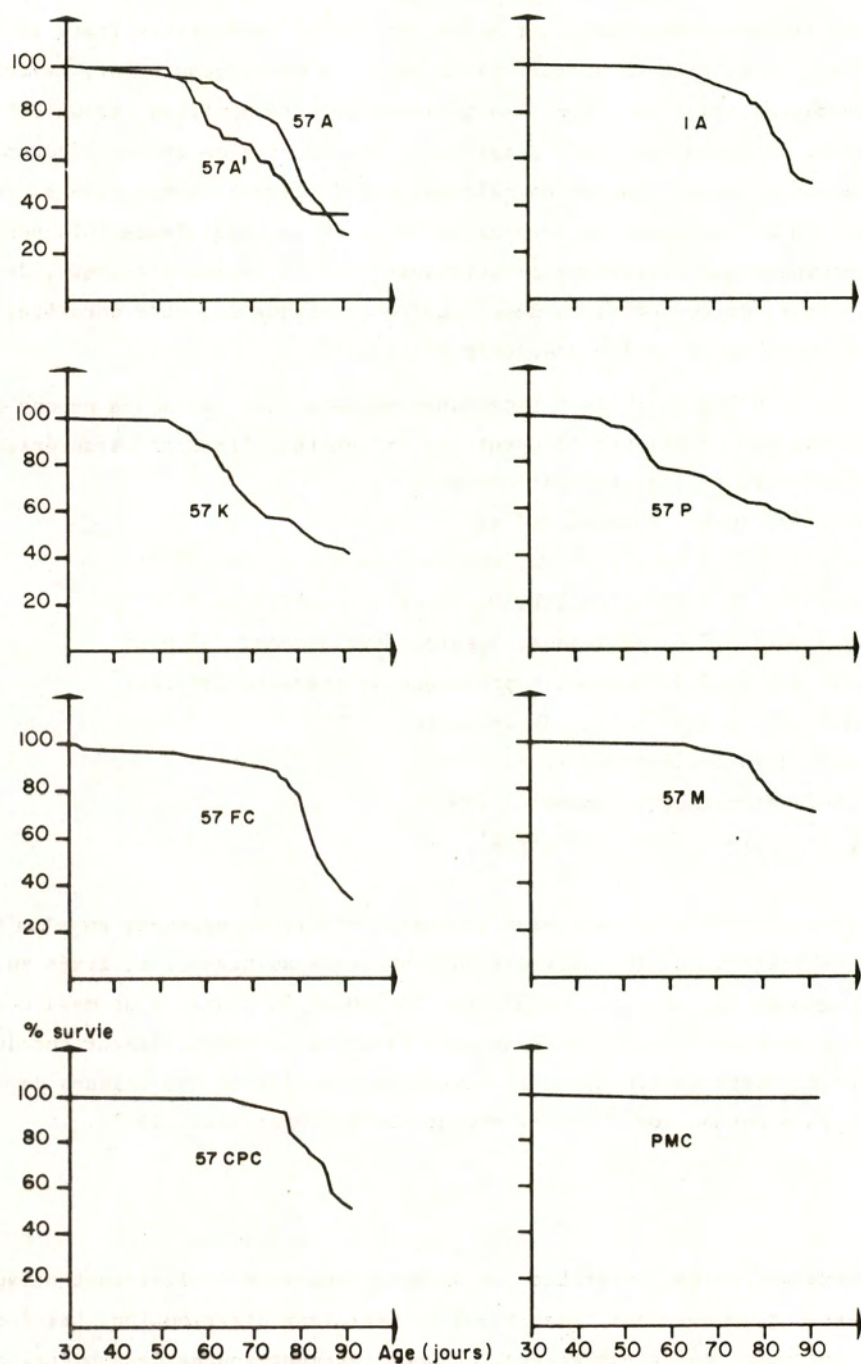


FIGURE 2 : Courbes de survie, pendant l'expérience, échantillons déduits.

57 A, 57 A' : formule 57,  
attractant Artemia  
57 K : formule 57,  
attractant krill  
57 FC : formule 57,  
attractant farine de crevette  
57 CPC : formule 57,  
attractant concentré protéique  
de crevette

1 A : formule 1,  
attractant Artemia  
57 P : formule 57,  
attractant Polychète  
57 M : formule 57,  
attractant Mollusque  
PMC : Polychète et Mollusques congelés

.../...



Les courbes de survie des différents lots sont présentées dans la figure 2. Elles sont corrigées, pour tenir compte des échantillonnages, suivant la méthode décrite par GIRIN et coll. (1975). Dans tous les cas, la mortalité reste négligeable pendant au moins une vingtaine de jours après l'abandon des proies vivantes. Elle ne s'aggrave pas ultérieurement dans le lot sur nourriture congelée. Par contre, une mortalité importante, avec une rupture de pente nette, apparaît après l'âge de 70 jours dans les lots 57 M, 57 FC, 1 A et 57 CPC. Le même phénomène se manifeste plus tôt, et plus progressivement, dans les lots 57 P, 57 K, 57 A et 57 A'. Dans tous les cas, les animaux qui meurent sont petits, et très maigres. A la fin de l'expérience, les lots ne contiennent plus que des poissons qui s'alimentent bien, et sont manifestement en bonne santé, à quelques exceptions près. Ceux qui restent alors, après fixation des échantillons, sont ajoutés à des lots de mêmes caractéristiques, dans lesquels la mortalité, pendant les 2 semaines qui suivent, reste inférieure à 5 %.

A l'âge de 90 jours, un classement en fonction du taux de survie depuis le début de l'expérience (fig. 6) permet de constater que les aliments naturels (98 % de survie) dominent nettement les granulés (28 % à 53 % de survie), dont se détache cependant celui qui a contenu du mollusque en période de transition (70 % de survie).

Des courbes de croissance en poids (fig. 3) et en taille (fig. 4) sont tracées, à partir des moyennes des échantillons, et de leur intervalles de confiance au seuil des 95 %. L'effet des changements de régime est particulièrement net sur les courbes de croissance pondérale, qui accusent des blocages pouvant durer jusqu'à près de 50 jours.

L'âge d'arrivée au quart de gramme est un élément de référence intéressant pour juger de l'efficacité relative des différentes nourritures de transition testées. L'aliment naturel l'emporte nettement : le lot PMC arrive à ce stade vers l'âge de 50 jours, au moment de l'arrêt des distributions de polychète. Viennent ensuite les appétants non crustacés, avec les lots 57 M et 57 P, qui y parviennent quelques 2 semaines plus tard, vers l'âge de 65 jours, alors qu'ils reçoivent encore uniquement des granulés de transition. Les lots avec un appétant crustacé n'y parviennent qu'entre 70 et 85 jours, soit, pour les derniers, nettement après l'abandon des granulés de transition.

A l'âge de 90 jours, lorsque l'expérience est interrompue, ces positions se trouvent légèrement modifiées (fig. 6). Le lot sur nourriture naturelle (PMC) avec une croissance ralentie pendant les 3 dernières semaines, est rattrapé par celui dont l'aliment relais contenait de la poudre de polychètes. Ils dominent une série qui va de la poudre de mollusques aux extraits de crevettes en passant par les poudres de crevettes entières, parmi lesquelles les 2 lots identiques occupent les 2 positions extrêmes. La variation individuelle, à l'intérieur de chaque lot, est importante. Une analyse de variance globale des poids à 3 mois fournit cependant un test F hautement significatif ( $F = 3,86$  pour  $F_{0,01} = 2,82$ ). Cette analyse est précisée dans une décomposition orthogonale qui oppose successivement la nourriture naturelle aux granulés, les attractants non crustacés aux

.../...



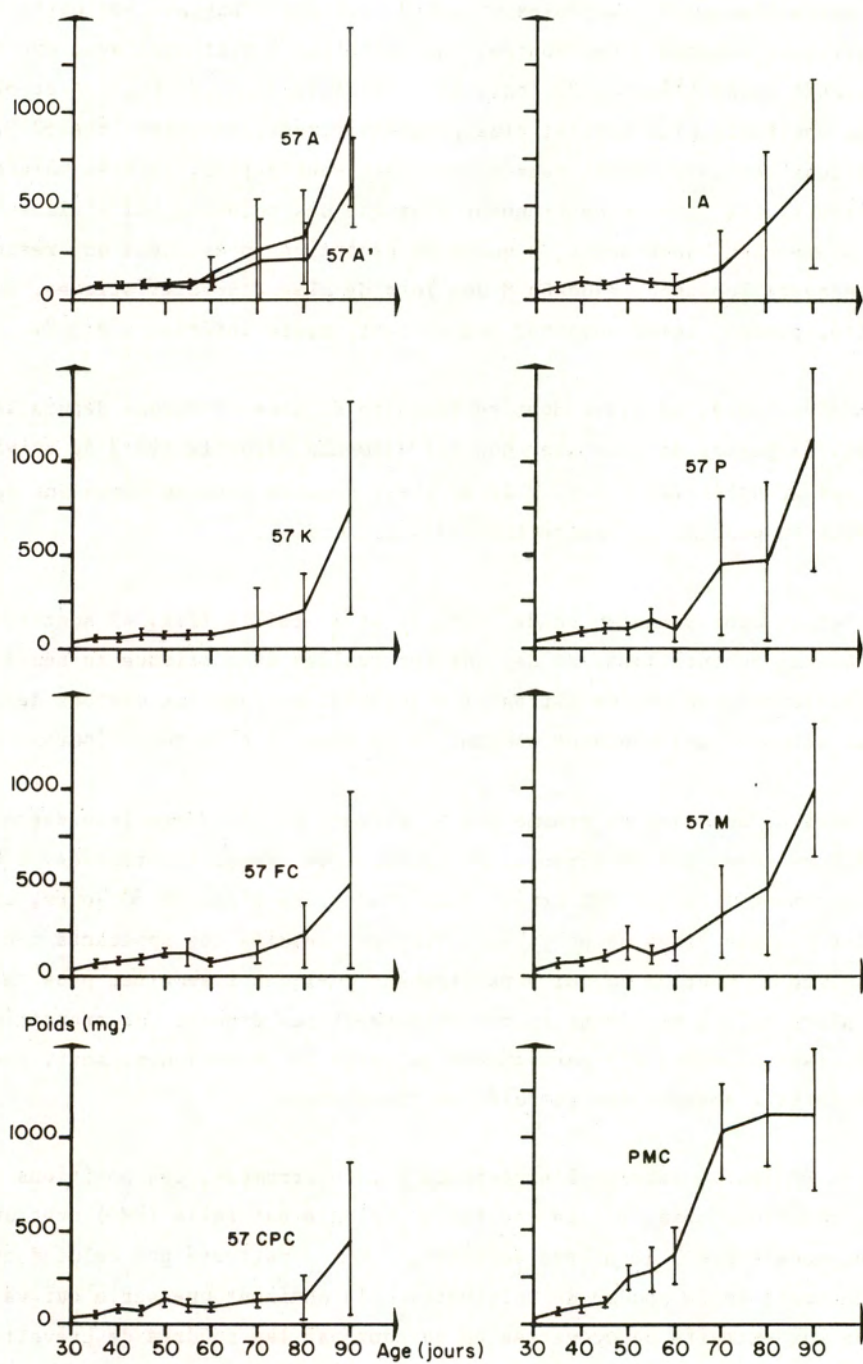


FIGURE 3 : Courbes de croissance pondérale : moyennes et intervalles de confiance au seuil des 95 %, pour des échantillons de 10 individus, pesés après fixation au formol neutre à 5 %, et égouttage sur papier filtre. Cf. figure 2.



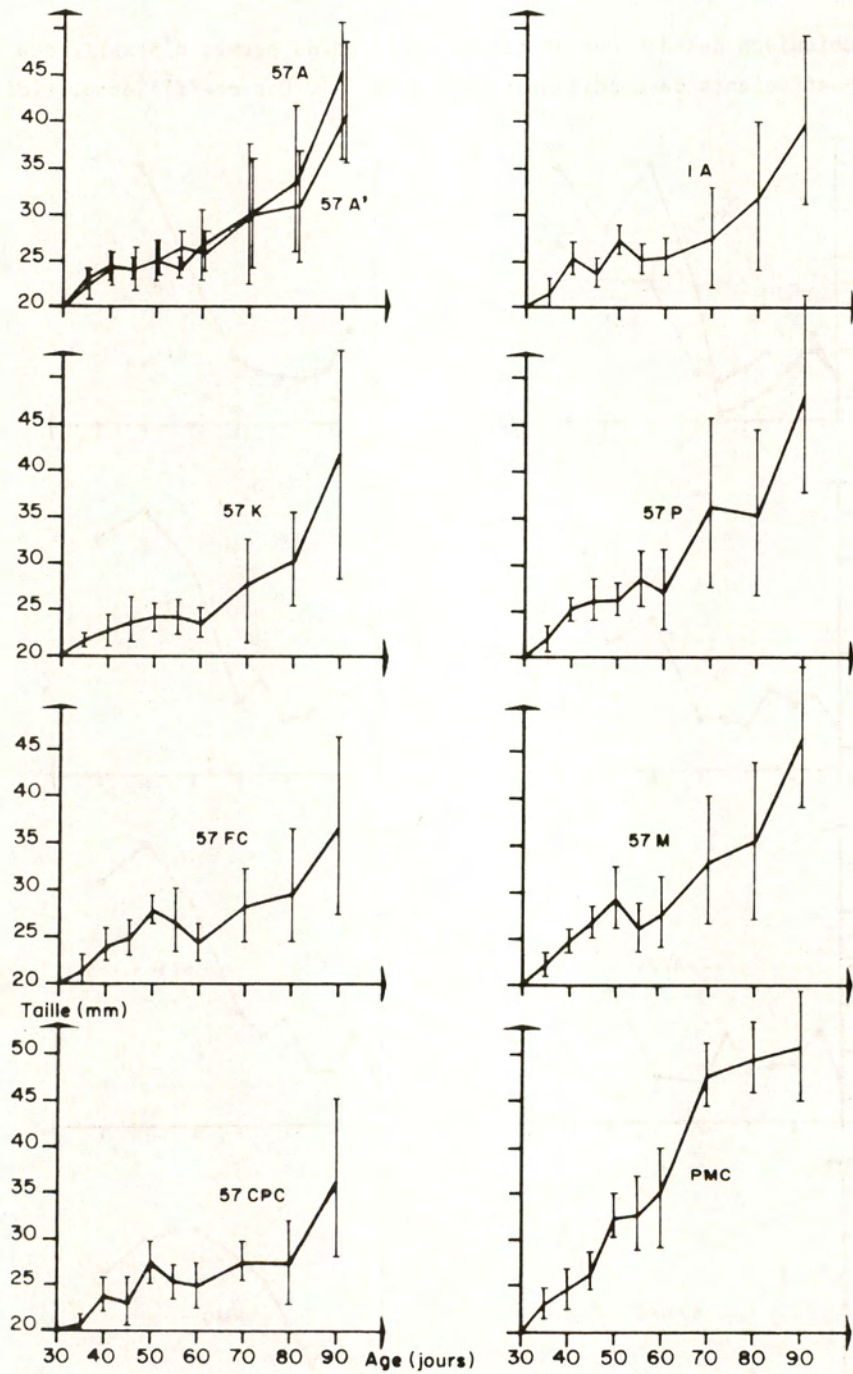


FIGURE 4 : Courbes de croissance (longueur totale) : moyennes et intervalles de confiance au seuil des 95 %, pour des échantillons de 10 individus, mesurés après fixation au formol neutre à 5 %. Cf. figure 2.



attractants crustacés, les farines de crustacés entiers aux extraits, et les 2 formules différentes avec le même attractant (*Artemia*). Seule l'opposition des attractants non crustacés aux attractants crustacés fournit un résultat significatif ( $F = 6,89$  pour  $F_{0,05} = 4,00$ ).

La combinaison des données de taille et de poids permet d'établir des courbes d'évolution des coefficients de condition moyens (fig. 5). Ces coefficients, (ici, rapports

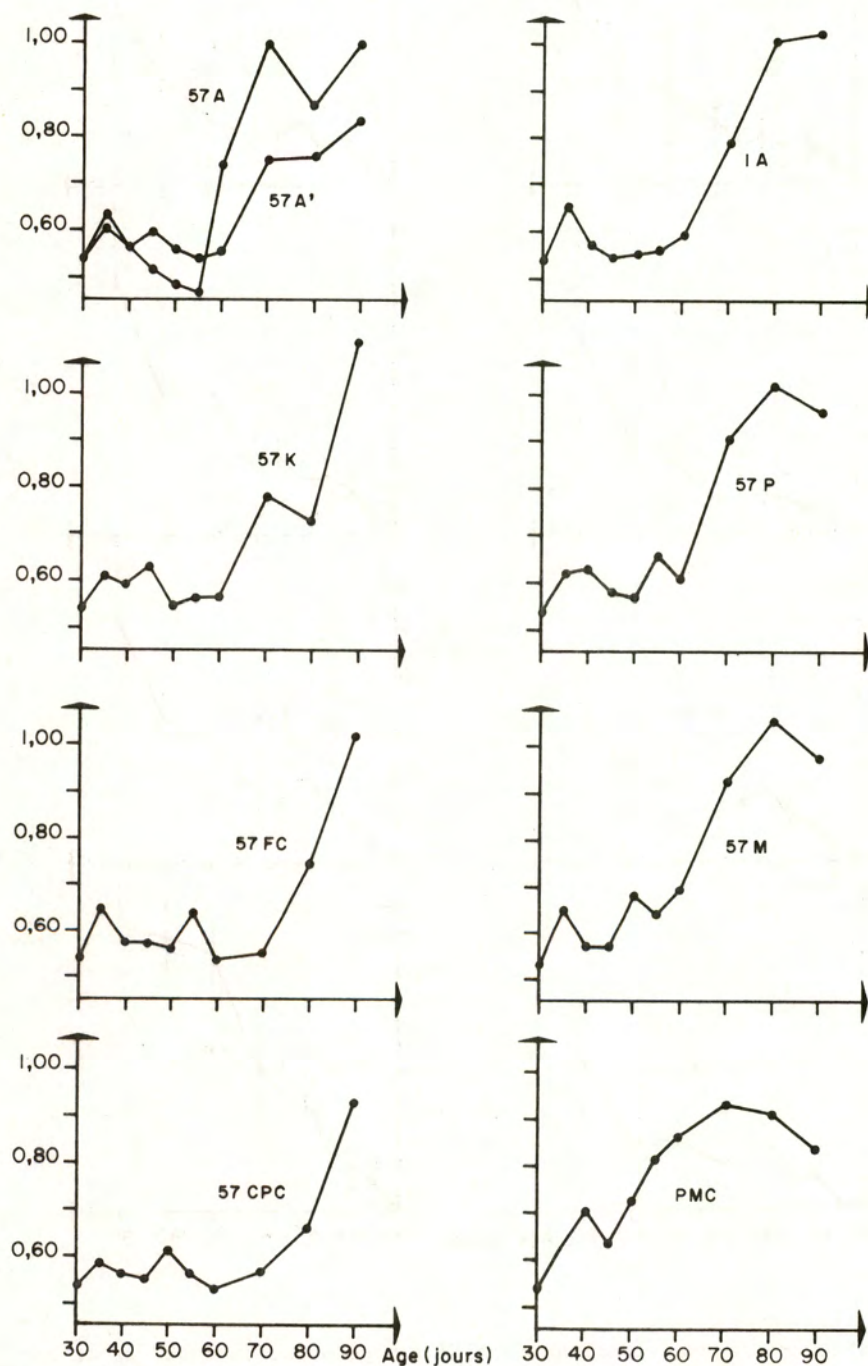


FIGURE 5 : Evolution des coefficients de condition moyens. Rapports des poids de la figure 3 au cube des longueurs de la figure 4. Cf. figure 2.

.../...



du poids de l'animal fixé au cube de sa longueur totale) sont de bons indices d'un éventuel état de maigreur plus ou moins accentué des poissons. Dans l'ensemble, leur évolution suit très étroitement celle des courbes de croissance pondérale.

Connaissant le poids total d'un groupe d'animaux mis en expérience, et le poids des survivants lorsqu'elle s'achève, il est possible de calculer, en faisant le rapport de la seconde valeur à la première, le taux d'accroissement pondéral brut de la population. Le prélèvement périodique des échantillons interdit ici un calcul direct. Mais un calcul théorique peut être effectué, en utilisant le poids moyen, et le pourcentage de survie, échantillons exclus, à 3 mois. La formule s'écrit alors :

$$\text{Taux d'accroissement pondéral brut} = \frac{\text{Poids moyen final}}{\text{Poids moyen initial}} \times \text{Pourcentage de survie}$$

Ce taux permet de classer les aliments en fonction de leur effet global sur la croissance et la survie des animaux (fig. 6). Les attractants crustacés fournissent des taux faibles (4,0 à 7,8), nettement inférieurs à ceux qui sont obtenus avec les attractants non crustacés (14,9 et 16,0) eux-mêmes largement dominés par les aliments naturels congelés (24,9).

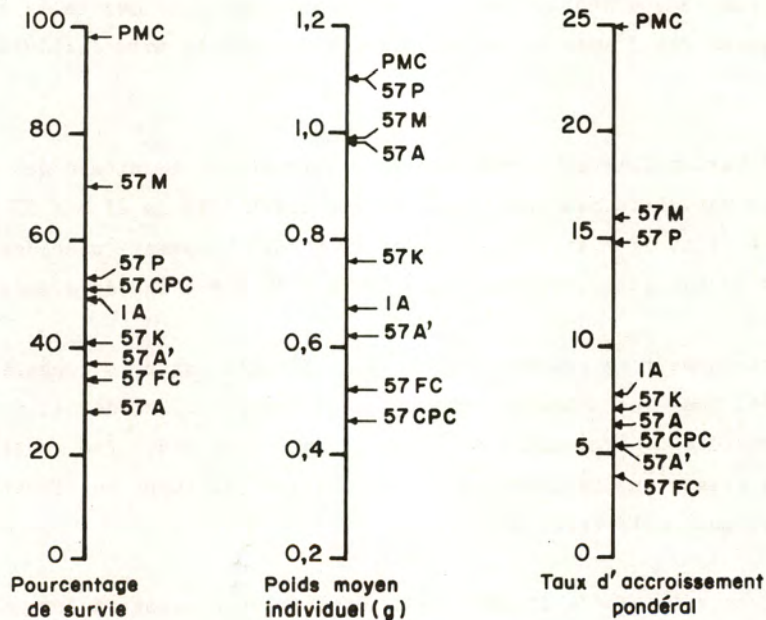


FIGURE 6 : Bilan des résultats obtenus à l'âge de 3 mois :

- Pourcentage de survie entre 1 et 3 mois.
- Poids moyen individuel à 3 mois.
- Taux d'accroissement pondéral brut de la population entre 1 et 3 mois (produit du gain de poids individuel moyen par le taux de survie).

Cf. figure 2.

.../...



## DISCUSSION.

L'ensemble des résultats obtenus montre que la sole peut être nourrie d'aliments inertes humides ou secs dès l'âge de 1 mois, avec des taux de survie tout-à-fait similaires à ce qu'il est courant d'obtenir chez d'autres espèces (BARAHONA-FERNANDES et GIRIN, 1976). Les mouvements d'une proie vivante, s'ils paraissent indispensables pendant la vie larvaire, (HOUDE, 1973), ne le sont plus à ce stade. Cela confirme, en les précisant, les observations de BROMLEY (1974). Dans une expérience de 4 semaines, portant sur des poissons de l'ordre de 18 mm, cet auteur a obtenu une croissance assez bonne avec des *Artemia* congelées, mais presque nulle avec divers aliments naturels séchés. Il explique cela par une différence d'acceptation des nourritures testées, tout en envisageant aussi les possibilités d'une inaptitude de l'espèce à digérer des aliments secs, d'un déséquilibre hydrique, ou d'une dissolution d'éléments nutritifs avant consommation. L'expérience décrite ici, deux fois plus longue, permet de retenir seulement la première hypothèse.

A plus long terme, lorsque les caractéristiques optimales de texture et de goût des nourritures à offrir auront été déterminées, il est vraisemblable que des améliorations complémentaires pourront être apportées par des changements de formulation des aliments composés, comme cela a été réalisé chez le bar, *Dicentrarchus labrax* (BARAHONA-FERNANDES et coll., 1976). Mais les résultats enregistrés dans les lots 57 A, 57 A' et 1 A laissent à penser que de nombreuses répétitions seront nécessaires pour mettre la supériorité d'une formule en évidence, vue l'importante variabilité rencontrée entre des lots soumis au même traitement.

Cette variabilité au niveau des lots se retrouve au niveau des individus. Le coefficient de variation des poids moyens, qui était déjà de 27 % à 30 jours, s'étend, à 3 mois, de 49 % (lots 57 M et PMC), à 127 % (lot FC). L'exemple précédent du bar fournit des coefficients de variation rarement supérieurs à 50 % à l'âge de 3 mois.

Indépendamment de ces variations, les aliments naturels congelés dominent, en matière de survie, tous les aliments composés secs testés. Il en aurait vraisemblablement été de même en matière de croissance si toute l'expérience avait été menée avec un produit haché à la bonne dimension. La consistance est vraisemblablement un élément essentiel de cette différence, mais cela reste à vérifier.

Dans une optique d'alimentation naturelle, la succession *Artemia* - polychète - mollusque congelés n'est peut-être pas le meilleur choix possible, que ce soit d'un point de vue économique ou biologique.

Les metanauplius d'*Artemia* calibrés ne sont pas disponibles dans le commerce, et doivent être grossis sur place (PERSON-LE RUYET, 1977). Sans même tenir compte de la main d'oeuvre, le coût des oeufs d'*Artemia* qui servent à les produire, et des spirulines qui leur sont offertes comme nourriture, fixent à ce produit un prix de revient minimum de 100 F/kg de poids frais. La gravette est commercialisée sur toutes les côtes françaises, ce qui

.../...



représente déjà un avantage par rapport aux *Lumbricillus* et *Enchytraeus* employés vivants par SHELBORNE (1968) qui devaient être collectés à proximité du laboratoire, ou élevés (KIRK, 1971). Mais son prix est élevé : environ 70 F/kg de poids frais. Les bucardes sont d'un coût nettement plus abordable : quelques 3,5 F/kg de chair, en poids frais (compte non tenu des frais de décorticage). Dans ce contexte, il est exclu d'envisager l'emploi des polychètes, et, à plus forte raison, des *Artemia*, autrement que pendant une période de transition aussi réduite que possible.

D'un point de vue biologique, la succession choisie mériterait d'être comparée à ses différents éléments employés seuls. D'autres mollusques de faible valeur commerciale dont les soles plus âgées sont friandes en captivité, pourraient en outre être envisagés. Le muscle de coquille Saint-Jacques (*Pecten maximus*), employé par BOWERS et LANDLESS (1969), paraît a priori trop onéreux, mais la crépidule (*Crepidula fornicata*), testée par KIRK (comm. pers.), et la moule (*Mytilus edulis*), employée par FLÜCHTER et TROMMSDORFF (1974), FONDS (1976), et nous-mêmes, sont peut-être des aliments intéressants.

Dans l'optique d'une utilisation d'aliment composé, des essais comparatifs de granulés humides, susceptibles d'être mieux consommés, et de granulés secs, de manipulation plus commode, s'imposent naturellement. En outre, d'un point de vue économique, comme dans le cas de l'alimentation naturelle, l'emploi des *Artemia* congelées en phase de transition mérite d'être réduit au minimum.

Le fait que toutes les farines à base de crustacé, à commencer par la farine d'*Artemia*, fournissent des résultats moins bons que les farines de polychète et de mollusque est particulièrement intéressant. S'il y a, chez le poisson, une mémoire de la nourriture qu'il a reçue pendant la première partie de sa vie (*Artemia salina*), cette mémoire ne l'empêche pas de bien accepter un changement radical.

D'un point de vue économique, les remarques faites plus haut sur les coûts des produits frais conduisent naturellement à abandonner l'emploi de la farine d'*Artemia*, au profit de farines de mollusques bivalves de faible valeur commerciale (encore que, pour ce type d'usage, il soit possible de partir d'*Artemia* adultes congelées, commercialisées aux environs de 30 F/kg). Cette possibilité, et le fait que les poissons acceptent bien la limitation du taux d'appétant à 10 %, ainsi que sa suppression dès l'âge de 2 mois 1/2, assurent une réduction notable du poste nourriture dans le coût de production d'alevins de soles destinés à l'élevage intensif sur granulés, par rapport à l'expérience décrite antérieurement (METAILLER et GIRIN, 1976).

Il serait cependant dangereux de se livrer à une extrapolation directe de ces données pour une application de la méthode à des productions de masse. Les lots PMC et 1 A ont été doublés de tests à plus grande échelle, dont les caractéristiques de base, et les résultats, sont présentés dans le tableau 2. Les rapports des taux de survie fournis par

.../...



Séquence alimentaire	Volume du bac (1)	Charge à 1 mois (poissons/m <sup>2</sup> )	Charge à 3 mois (poissons/m <sup>2</sup> )	Pourcentage de survie de 1 à 3 mois	Poids moyen à 3 mois (g)
<i>Artemia</i> congelées et lyophilisées, polychètes broyées, chair de mollusque hachée.	60	600	248	98	1,10 ± 0,39
	500	750	86	12	1,02 ± 0,46
<i>Artemia</i> congelées et lyophilisées, granulé n° 1 contenant au début 10 % de farine d' <i>Artemia</i> .	60	600	44	49	0,67 ± 0,50
	2 000	700	40	5,7	0,52 ± 0,37

TABLEAU 2 : Comparaison des résultats obtenus sur des lots de dimensions différentes, avec des aliments identiques, dans des essais de conditionnement de jeunes soles à des nourritures inertes, entre les âges de 1 et 3 mois.

les deux schémas alimentaires se retrouvent assez exactement d'une échelle à l'autre, mais à un niveau quelques 8 fois plus bas dans les grands bacs. Cette différence est principalement due à une crise de mortalité qui se manifeste dans ces bacs entre les âges de 40 et 50 jours, et touche, comme en 1975, des animaux de toutes les tailles (METAILLER et GIRIN, 1976). Les symptômes (taches sanglantes, et nécroses des extrémités) ressemblent à ceux que BARAHONA-FERNANDES (sous-presse) a observés chez le bar, dans les mêmes installations, pour une maladie bactérienne. S'il s'agit de la même maladie, elle pourrait être guérie par une antibiothérapie simple, ou peut-être évitée par une meilleure hygiène d'élevage.

#### CONCLUSION.

Les lots de soles employés dans cette expérience, constitués au hasard, peuvent être considérés comme des échantillons représentatifs de la population dont ils ont été tirés. Dans ces conditions, le taux de survie, entre la larve qui vient d'éclore, et l'animal de 3 mois consommant un aliment inerte, s'établit à 55 % avec la nourriture naturelle congelée (lot PMC), et 39 % avec le meilleur schéma de conditionnement au granulé, basé sur l'emploi de poudre de mollusque comme appétant en phase transitoire (lot 57 M).

L'application de ce résultat de laboratoire à des productions importantes reste cependant à faire. Les difficultés rencontrées à une échelle supérieure, qui se retrouvent dans les travaux de la White Fish Authority (KERR, 1976) en Grande-Bretagne montrent que cette adaptation demandera certainement plusieurs saisons de travail.

.../...



BIBLIOGRAPHIE.

- BARAHONA-FERNANDES, M.H., 1977. Bacterial disease of Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* (L.)) reared in the laboratory : an approach to treatment. Aquaculture, 10, 7 pp.
- BARAHONA-FERNANDES, M.H. and M. GIRIN, 1976. Preliminary tests on the optimal pellet-adaptation age for Sea Bass larvae (Pisces, *Dicentrarchus labrax* L. 1758). Aquaculture, 8 : 283-290.
- BARAHONA-FERNANDES, M.H., M. GIRIN et R. METAILLER, 1977. Expériences de conditionnement d'alevins de bar (Pisces, *Dicentrarchus labrax*) à divers aliments composés. Aquaculture, 10 (1) : 53-63.
- BOWERS, A.B. and P.J. LANDLESS, 1969. Feeding experiments on sole and turbot. Rep. mar. biol. Stn. Port Erin, 81 : 37-45.
- BROMLEY, P.J., 1974. The effects of dietary water content on the growth of hatchery-reared turbot (*Scophthalmus maximus* L.) and sole (*Solea solea* (L.)). ICES doc. C.M.1974/E:18, 4 pp.
- FLÜCHTER, J., and H. TROMMSDORFF, 1974. Nutritive stimulation of spawning in common sole (*Solea solea* L.). Ber. Dtsch. Wiss. Komm. Meeresforsch., 23 (4) : 352-359.
- FONDS, M., 1976. The influence of temperature and salinity on growth of young sole, *Solea solea* L. 10th European Symposium on Marine Biology, Ostend, Belgium, Sept. 1975, vol. 1 : 109-125.
- GATESOUBE, F.J. et P. LUQUET, sous-presse. Recherche d'une alimentation artificielle adaptée à l'élevage des stades larvaires des poissons. I. Etude de quelques techniques destinées à améliorer la stabilité à l'eau des aliments. Présenté à la 3ème Réunion du Groupe de Travail de Mariculture du CIEM, Brest, France, 10-13 mai 1977.
- GIRIN, M., 1974. Régime alimentaire et pourcentage de survie chez la larve de sole (*Solea solea* L.). Colloque sur l'Aquaculture. Actes de colloques, 1, CNEXO Ed. : 175-185.
- GIRIN, M., M.H. BARAHONA-FERNANDES and A. LE ROUX, 1975. Larval rearing of Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* (L.)) with a high survival. ICES, doc. C.M.1975/G:14, 8 pp.
- KERR, N.M., 1976. Marine fish farming : the interface between development and application. 2nd European Congress on Fish Farming, London, 30th November 1976, 26 pp.
- KIRK, R.G., 1971. Reproduction of *Lumbricillus rivalis* (Levinsen) in laboratory cultures and in decaying seaweed. Ann. apl. Biol., 67 : 255-264.

.../...



- LOCKWOOD, S.J. and C. de B. DALY, 1975. Further observations on the effects of preservation in 4 % neutral formalin on the length and weight of 0-group flatfish. J. Cons. int. Explor. Mer, 36 (2) : 170-175.
- METAILLER, R. et M. GIRIN, 1976. Croissance de jeunes soles (*solea solea*) nées en laboratoire et conditionnées à l'aliment composé. 2ème Réunion du Groupe de Travail de Mariculture du CIEM, Hambourg, RFA, 4-6 mai 1976. Ronéo : 20 pp.
- PERSON-LE RUYET, J., 1976. Elevage larvaire d'*Artemia salina* (Branchiopode) sur nourriture inerte : *Spirulina maxima* (Cyanophycée). Aquaculture, 8 : 157-167.
- SHELBOURNE, J.E., 1968. The culture of marine fish larvae, with special reference to the plaice (*Pleuronectes platessa* L.), and the sole (*Solea solea* L.). Ph.D. Thesis, University of London, 143 pp.



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4 : 51-58.

THE DAILY FOOD INTAKE OF YOUNG SOLES (*SOLEA SOLEA* L.)  
IN RELATION TO THEIR SIZE AND THE WATER TEMPERATURE.

by

M. FONDS<sup>+</sup> and V.P. SAKSENA<sup>++</sup>

<sup>+</sup> Nederlands Instituut voor Onderzoek der Zee, Postbox 59, Den Burg, Texel, The Netherlands.

<sup>++</sup> Muskingum College, Ohio, U.S.A.

ABSTRACT.

Daily food intake of young soles, from 6 to 30 cm length, was measured in the laboratory at five constant temperatures from 10 to 26°C. The daily consumption (C) was correlated with length (L, cm) and weight (W, g) of the fish, which resulted in the following exponential relationships with temperature (T, °C) :

$$C = 0.000011 e^{0.35 T} \cdot L^{(3.20 - 0.0096T - 0.0026T^2)}$$
$$C = 0.006 e^{0.18T} \cdot W^{(1.12 - 0.013T - 0.00055T^2)}$$

It appears that the daily food consumption of small soles is maximal at high temperatures (26°C for 10 cm fish). With increasing size of the fish the temperature for maximum feeding shifts to lower values (16°C for a 50 cm fish). The daily food consumption expressed as percentage of the metabolic weight of the fish ( $C = \% W^{0.8}$ ) appears to be independent of fish size at about 16°C. Higher temperatures are more favourable for the smaller fish, lower temperatures for the larger fish. This may explain why young soles need coastal nurseries with a high summer temperature and a rich food supply, while the adult fish find optimum conditions at lower temperatures offshore.

RESUME.

La consommation quotidienne en nourriture de jeunes soles, de 6 à 30 cm de long, a été mesurée au laboratoire, à 5 températures constantes, de 10 à 26°C. Cette consommation quotidienne (C) a été reliée à la longueur (L, cm) et au poids (W, g) des poissons, fournissant avec la température (T, °C) les relations exponentielles suivantes :

$$C = 0.000011 e^{0.35 T} \cdot L^{(3.20 - 0.0096T - 0.0026T^2)}$$
$$C = 0.006 e^{0.18T} \cdot W^{(1.12 - 0.013T - 0.00055T^2)}$$

Il apparaît que la consommation quotidienne de petites soles est maximale à de hautes températures (26°C pour un poisson de 10 cm). Lorsque la taille du poisson augmente, la température de consommation maximale glisse vers des valeurs plus basses (16°C pour un poisson de 50 cm). La consommation de nourriture quotidienne, exprimée en pourcentage du poids métabolique du poisson ( $C = \% W^{0.8}$ ) se montre indépendante de sa taille aux environs de 16°C. Des températures plus élevées sont plus favorables à des poissons plus petits, des températures plus basses à des poissons plus grands. Cela peut expliquer pourquoi les jeunes soles ont besoin de nurseries côtières, avec une température estivale élevée, et une nourriture abondante, tandis que l'adulte trouve des conditions optimales à des températures plus basses, au large.

.../...



## INTRODUCTION.

The soles in the North Sea spawn in spring (April, May, June) in coastal waters at temperatures of 8-16° C. The pelagic eggs and larvae are carried with the residual tidal currents along the coast and the young soles settle after metamorphosis in coastal waters and estuaries (FLÜCHTER, 1970 ; ROSENTHAL, 1966 ; RILEY, 1974). The "demersal young fish surveys" of the Netherlands Institute for Fisheries Research (R.I.V.O., IJmuiden) have shown that the Wadden Sea, the Rhine estuary and the adjacent shallow North Sea coastal area are an important nursery for several North Sea fish species, particularly for plaice and sole (ZIJLSTRA, 1972 ; BECKER and POSTMA, 1974). Estimates of the annual abundance, over many years, of young soles and plaice in the German coastal North Sea and Wadden Sea (TIEWS, 1971) indicated that considerable yearly fluctuations in abundance occur. These fluctuations are generally indicative of subsequent recruitment of yearclasses to the North Sea stock (RAUCK and ZIJLSTRA, 1976). It is therefore of great interest to know which factors and processes determine growth and survival of young flatfish in the coastal nurseries.

From monthly trawling surveys in 1962 and 1964 appeared that young soles spend only the summers of their first two years in the coastal nurseries (CREUTZBERG and FONDS, 1971 ; FONDS, 1975). They do not grow in winter (October to April) and leave the shallow coastal areas in autumn (November, December) when the water temperature decreases below 10° C, to return again in spring (March, April) when the temperature rises again (the cold adapted fish return already at water temperatures of 3-4° C).

During 1973-1974 the maximum growth rate of young soles was estimated at different constant temperatures and salinities (FONDS, 1975). During 1975-1976 the combined effect of temperature and food supply on growth, condition and survival of young (0-group) soles was studied by FONDS and SAKSENA (in prep.). During these investigations the maximum daily food intake of soles of different size was estimated at various temperatures. It appeared that for soles an interesting correlation exists between the daily food consumption, size of the fish and water temperature. This particular part of the work on soles is presented here because it may be of interest for mariculture projects. Moreover, the results may give an explanation for the distribution of soles in their natural environment : the juveniles inhabiting coastal areas whereas the mature fish are found in the open sea.

## METHODS.

Young soles were kept in perforated plastic crates (55 x 40 x 30 cm deep) suspended in eight large constant temperature sea water tanks (250 x 65 x 55 cm deep), with running sea water and air supply. Each crate was usually stocked with 1 to 4 fish of equal size, each tank contained 4 crates with soles of different sizes from 6 to 25 cm, while the largest fish (approx. 30 cm) were kept free in the large tanks, in the space underneath the crates. The different tanks were maintained at constant temperatures of 10, 14, 18, 22, 26° C, and the soles were acclimated several weeks before the start of the feeding experiments. Chopped fresh

.../...



musselmeat was given daily as the only food (we owe many thanks to Dr. DRINKWAARD (1972) and Mr. VLEUGEL from the Experimental Mussel Station on Texel for the regular supply of fresh mussels).

Measurements of daily food intake of the soles were carried out from 28.10 to 3.12.75 at 14, 18, 22° C, and again from 20.01 to 6.02.1976 at 10, 14, 18, 22, 26° C. The fish were given every morning a weighed excess amount of musselmeat, and the remaining musselmeat was collected and weighed back the next morning before offering the next meal. The mussel was chopped and washed with seawater, and left to drip dry for at least 15 minutes before the rations were weighed off. The daily food intake of the soles was corrected for the decrease in the amount of musselmeat during 24 hours (about 15 %), as measured in separate controls.

The measurements were usually carried out during 1 or 2 weeks, and the soles were carefully measured and weighed at the start and the end of each period to estimate growth and food conversion. A few fish which refused to eat properly, probably due to disease, and some fish which jumped out of the crates were omitted from the calculations.

#### RESULTS.

The mean daily food intake of the soles in the different crates was calculated as grams musselmeat per fish per day and plotted against the size of the fish for each temperature (figure 1). The data suggest an exponential relation between daily food consumption and mean size or weight of the fish at each temperature, which appears from the linear regression

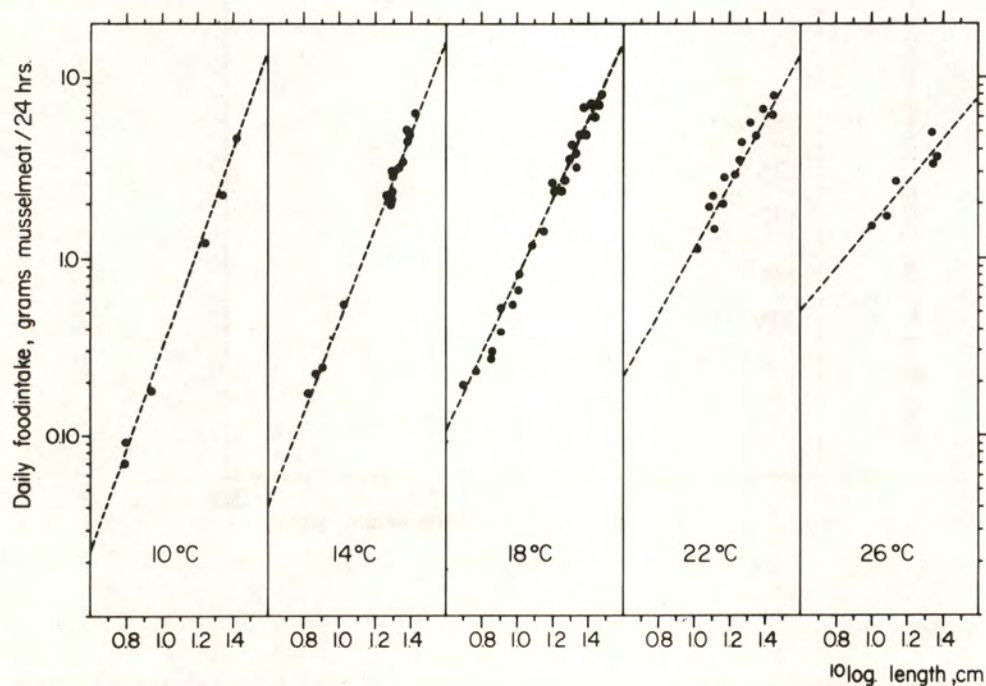


FIGURE 1 : The linear correlation of log daily food consumption with log length of the soles, at 5 constant temperatures.

.../...



of log food consumption ( $C$ , gram/fish/day) against log length ( $L$ , cm, figure 1) or log weight ( $W$ , grams, figure 2). This relation can be described by the general equations  $C = a L^b$  or  $C = a W^b$  where  $a$  and  $b$  are constants (table 1). However, it appears that both  $a$  and  $b$  change with temperature. The best fit of  $a$  with temperature was obtained by the linear regression of temperature against  $\ln a$ , hence a semi log correlation with the following equation :

$$\ln a = \ln k_1 + k_2 T \quad a = k_1 e^{k_2 T}$$

where  $k_1$  and  $k_2$  are constants and  $T$  is the temperature in °C. The relation of the exponent  $b$  with temperature can be described satisfactorily with a simple linear correlation, especially in the range from 10° to 22° C ( $b = k_1 - k_2 T$ ). A still better fit over the whole temperature range (10 → 26° C) was obtained with a second degree trend  $b = k_1 - k_2 T - k_3 T^2$  ( $k_{1,2,3}$  are constants,  $T$  is the temperature in °C).

For each temperature the daily food consumption ( $C$ ) was calculated for soles with a size of 10, 20, 30, 40, 50 cm total length (figure 3 a) and for soles with a weight of 10 g. (~ 10 cm), 100 g. (~ 22 cm) and 1000 g. (~ 47 cm). (The length ( $L$ ) weight ( $W$ ) relationship of the fish used for the experiments was approximately  $W = 0.0075 L^{3.066}$ ).

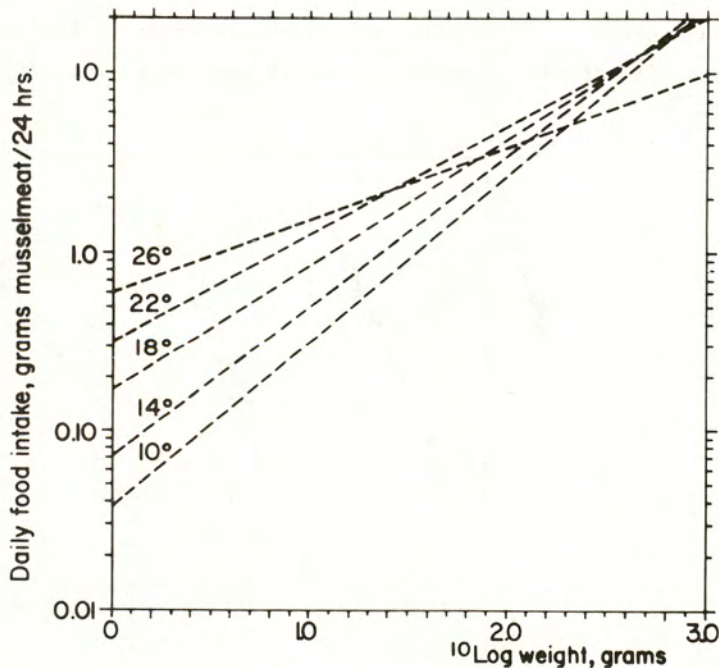


FIGURE 2 : Linear correlation of log daily food consumption with log fish weight. Same data as in figure 1.



Temperature °C	Relation of C with L	Correlation coefficient r	Number of measurements (n)
10°	$C = 0.000377 L^{2.853}$	0.9994	5
14°	$C = 0.00132 L^{2.543}$	0.996	16
18°	$C = 0.00565 L^{2.143}$	0.993	21
22°	$C = 0.0187 L^{1.797}$	0.94	15
26°	$C = 0.1035 L^{1.170}$	0.93	6
10 - 22° (n = 4)	$C = 0.000014e^{0.33T} L^{3.76 - 0.089T}$ (r = 0.999)	(r = 0.999)	
10 - 26° (n = 5)	$C = 0.000011e^{0.35T} L^{(3.20 - 0.0096T - 0.0026 T^2)}$ (r = 0.998)	(r = 0.998)	
Temperature °C	Relation of C with W	Correlation coefficient r	Number of measurements (n)
10°	$C = 0.0349 W^{0.938}$	0.9998	5
14°	$C = 0.0732 W^{0.840}$	0.997	16
18°	$C = 0.1784 W^{0.687}$	0.992	21
22°	$C = 0.3264 W^{0.589}$	0.96	15
26°	$C = 0.6179 W^{0.402}$	0.91	6
10 - 22° (n = 4)	$C = 0.0053e^{0.19T} W^{1.24 - 0.030T}$ (r = 0.997)	(r = 0.996)	
10 - 26° (n = 5)	$C = 0.0060e^{0.18T} W^{(1.12 - 0.013T - 0.00055T^2)}$ (r = 0.997)	(r = 0.997)	

TABLE 1 : The relation of daily food consumption (C, gram wet weight musselmeat per 24 hrs) with length (L, cm) and wet weight (W, gram) of soles at different temperatures (T, °C).

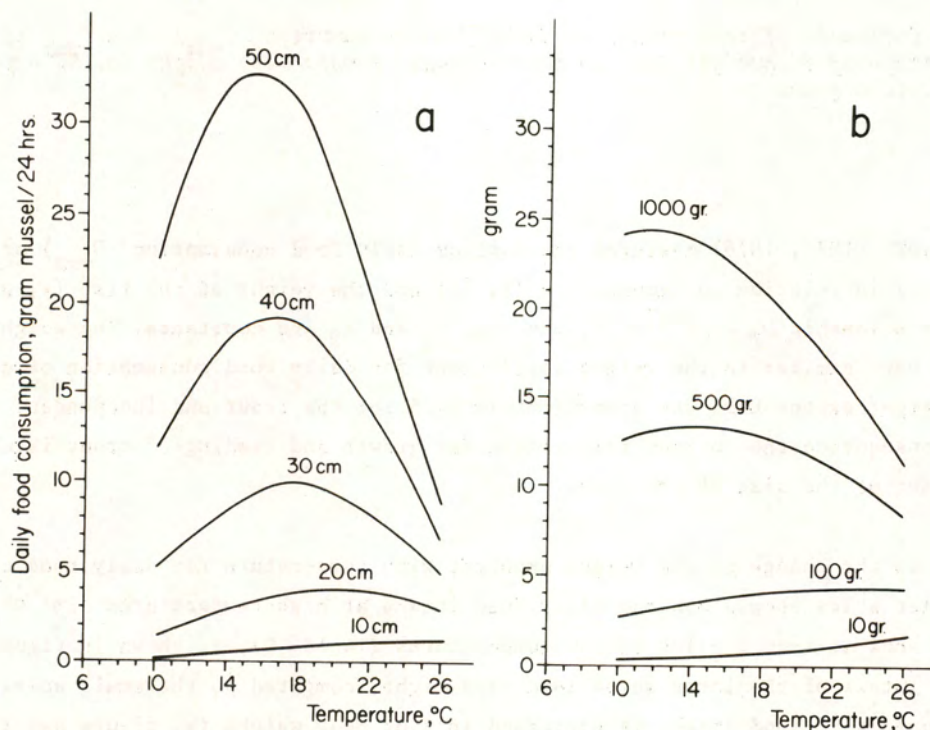


FIGURE 3 : The calculated daily food consumption ( $C_{max}$ ) for soles from 10 to 50 cm length (a), or from 10 to 1000 gram weight (b), in relation to temperature.

.../...



Finally, the calculated daily food consumptions were expressed in percentages of the weight of the fish ( $C$  as %  $W$ , figure 4a) and as percentages of the metabolic weight of the fish ( $C$  as %  $W^{0.8}$ , figure 4b), where the metabolic weight refers to respiratory metabolism related to  $W^{0.8}$  ( $R = aW^{0.8}$ , WINBERG, 1960). Measurements of respiration of young soles indicated that oxygen uptake  $R$  in  $\mu\text{grat}/\text{fish}/\text{hr}$  follows approximately the equation  $R = 2 \cdot e^{0.1T(^{\circ}\text{C})} \cdot W^{0.8}$ .

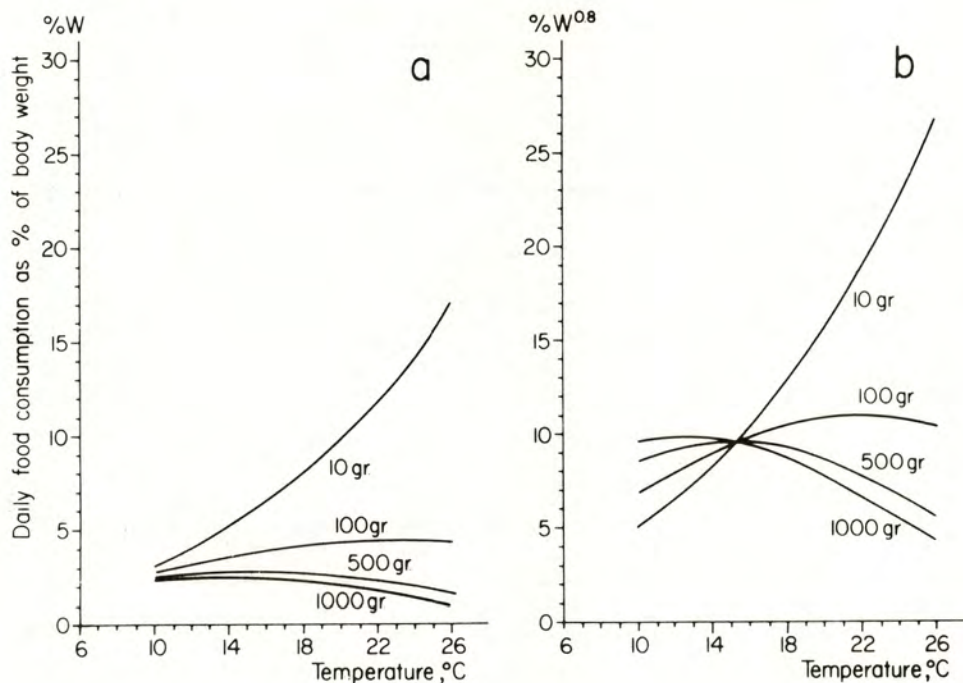


FIGURE 4 : The influence of temperature on daily food consumption ( $C_{max}$ ) when  $C_{max}$  is expressed as a percentage of fishweight (a), or a percentage of metabolic weight (b, % $W^{0.8}$  expon. 0.8) of fish from 10-1000 gram.

DISCUSSION.

ELLIOTT (1975, 1976) measured the maximum daily food consumption ( $D_{max}$ ) of trout (*Salmo trutta* L.) in relation to temperature ( $T$ , °C) and the weight of the fish ( $W$ , gram). He found the relationship  $D_T = Ae^{b_2 T} \cdot W^{b_1}$ , where  $A$ ,  $b_1$  and  $b_2$  are constants. The weight coefficient  $A \cdot e^{b_2 T}$  is very similar to the weight coefficient for daily food consumption of soles. However, the weight exponent  $b_1$  was approximately 0.76 for the trout and independent of temperature. As a consequence the optimum temperature for growth and feeding of trout is about 13°C, independent of the size of the fish.

Due to the change of the weight exponent with temperature for daily food consumption of soles, smaller soles show a maximum daily food intake at high temperatures (26° C) whereas the large fish show maximum feeding at low temperatures (14-16° C), as shown in figure 3. The daily food intake of the large soles is always higher compared to the small soles, but the opposite appears if food intake is expressed in % of body weight ( $W$ , figure 4a) : the small soles eat relatively more ( $\geq 15$  %  $W/\text{day}$ ) as compared to the large soles, 2-4 %  $W/\text{day}$

.../...



(PANDIAN, 1975, gives an amount of 5 to 2 % W/day as daily food consumption of dabs (*Limanda limanda*) from 1 to 150 gram weight respectively).

When daily food consumption ( $C$ ) is expressed as a percentage of the metabolic weight of the fish ( $C = \% W^{0.8}$ ), a remarkable relationship appears with temperature (figure 4b). At 16° C the food intake is the same proportion of the metabolic weight (about 10 %  $W^{0.8}$ ) independent of the size of the fish. At lower temperature consumption is higher for the larger fish, at higher temperatures consumption is higher for the smaller fish. When food consumption is related to metabolism, the soles appear to be in a kind of equilibrium at 16° C. Higher temperatures are more favourable for the smaller fish which eat relatively more, whereas lower temperatures are more favourable for the larger soles. This may explain why the young soles need warm shallow coastal waters and a rich food supply, while the adult soles find optimum conditions for growth at greater depth in the North Sea offshore.

A similar temperature effect may be found for the plaice, which shows a similar change in habitat from shallow coastal waters to cooler deeper waters during growth. It will be very interesting to compare the energy balance (ELLIOTT, 1976) of sole, plaice, turbot, etc... with more stationary fish species like flounder, dab, dwarfsole, etc...

#### BIBLIOGRAPHY.

- BECKER, H.B. and K.H. POSTUMA, 1974. Enige voorlopige resultaten van vijf jaar "Waddenzee-projekt". Visserij., 27 (2) : 69-79.
- CREUTZBERG, F. and M. FONDS, 1971. The seasonal variation in the distribution of some demersal fish species in the Dutch Wadden Sea. Thalassia Jugoslav., 7 (1) : 13-23.
- DRINKWAARD, A.C., 1972. Het mosselproefstation op Texel operationeel. Visserij., 25 (3) : 216-238.
- ELLIOTT, J.M., 1975. The growth rate of brown trout (*Salmo trutta* L.) fed on maximum rations. J. Anim. Ecol., 44 (3) : 805-821.
- ELLIOTT, J.M., 1976. The energetics of feeding, metabolisms and growth of brown trout (*Salmo trutta* L.) in relation to body weight, water temperature and ration size. J. Anim. Ecol., 45 (3) : 923-948.
- FLÜCHTER, J., 1969. Zur Embryonal-und Larval entwicklung der Seezunge *Solea solea* (L.). Ber. dt. wiss. Komm. Meeresforsch., 23 : 252-259.
- FONDS, M., 1975. The influence of temperature and salinity on growth of young sole (*Solea solea*). 10th European Symposium on Marine Biology, Ostend, Belgium. Vol. 9 : 109-125.
- RAUCK, G. and J.J. ZIJLSTRA, 1976. On the nursery-aspects of the Wadden Sea for some commercial fish species and possible long-term changes. ICES Symposium on Changes in the North Sea Fish Stocks and their causes (1975), n° 36, 26 pp (mimeo).



- ROSENTHAL, H., 1966. Beobachtungen über das Verhalten der Seezungenbrut. Helgoländer wiss. Meeresunt., 13 : 213-228.
- TIEWS, K., 1971. Weitere Ergebnisse von Langzeitbeobachtungen über das Auftreten von Beifangfischen und -krebse in den Fängen der deutschen Garnelenfischerei (1961-1967). Arch. Fischerei wiss., 22 : 214-255.
- WINBERG, C.G., 1960. Rate of metabolism and food requirements of fishes. Fish. Res. Bd. Can. (transl. ser.), 194.
- ZIJLSTRA, J.J., 1972. On the importance of the Wadden Sea as a nursery area in relation to the conservation of the Southern North Sea fisheries resources. Symp. zool. Soc. London, 29 : 233-258.
- PANDIAN, T.J., 1970. Intake and conversion of food in the fish *Limanda limanda* exposed to different temperatures. Marine Biology, 5 : 1-17.



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4 : 59-66.

RECHERCHE D'UNE ALIMENTATION ARTIFICIELLE ADAPTEE  
A L'ELEVAGE DES STADES LARVAIRES DES POISSONS.  
II - APPLICATION A L'ELEVAGE LARVAIRE DU BAR ET DE LA SOLE.

par

François-Joël GATESOUBE<sup>†</sup>, Michel GIRIN<sup>++</sup> et Pierre LUQUET<sup>†</sup>

<sup>†</sup> Laboratoire de Nutrition des Poissons, I.N.R.A., C.N.R.Z., 78350 Jouy-en-Josas, France.

<sup>++</sup> Centre Océanologique de Bretagne, B.P. 337, 29273 Brest, France.

RESUME.

*Divers types d'aliments composés enrobés à la zéine sont distribués, soit seuls, soit en association avec des rotifères, à des larves de bar et de sole.*

*Si l'utilisation d'aliments composés seuls a conduit à des résultats décevants, la distribution simultanée de proies vivantes, en quantité limitée, s'est avérée positive : lorsque de faibles charges de poissons (3 à 5 larves/litre) sont retenues, il apparaît possible de dépasser 10 p. 100 de survie à un mois pour le bar et 71 p. 100 de métamorphose chez la sole.*

*L'analyse des résultats fournis par les différents aliments composés semble indiquer que la supériorité des proies vivantes n'est pas tant leur composition que leur mouvement.*

ABSTRACT.

*Various zein-coated artificial diets were distributed either alone or in association with rotifers to larvae of sea-bass and sole.*

*Utilization of artificial diets alone gave rather unsatisfactory results, whereas the simultaneous use of these with limited quantity of live-preys proved successful : when a low density of fish was retained (3 to 5 larvae/litre), it was found that the survival rate after one month for the sea-bass was above 10 p. 100 and for the sole, there was metamorphosis up to 71 p. 100.*

*The analysis of results obtained for the different artificial diets seems to indicate that the superiority of live rotifers is more due to their movement than to their composition.*

.../...



## INTRODUCTION.

Nous avons précédemment exposé les problèmes posés par l'alimentation artificielle des larves de poissons de mer et mis en oeuvre, afin d'en tester comparativement la valeur, différents procédés technologiques destinés à améliorer la stabilité à l'eau des aliments. Les résultats obtenus quant aux tests de résistance au délitement, ainsi qu'une réflexion sur les risques de toxicité entraînés intrinsèquement par chacun des procédés, nous ont amené à retenir une méthode d'enrobage à la zéine (GATESOUBE et LUQUET, 1977).

Les schémas alimentaires couramment employés au Centre Océanologique de Bretagne pour l'élevage du bar (*Dicentrarchus labrax*) et de la sole (*Solea solea*) impliquent l'utilisation de proies vivantes pendant 5 à 7 semaines. Il s'agit du rotifère *Brachionus plicatilis*, accompagné du copépode *Tisbe furcata*, puis de nauplius, et enfin de metanauplius d'*Artemia salina* (GIRIN, 1974 ; GIRIN *et al.*, 1975). La production des *Artemia* en quantités suffisantes pose des problèmes sérieux. D'une part, elle est tributaire d'un approvisionnement en oeufs aux U.S.A., qui est coûteux, et souvent difficile ; d'autre part, les quantités requises sont considérables, du fait d'une croissance très rapide des poissons pendant les premiers mois. Par contre, la production du rotifère et du copépode, utilisés seulement pour les très jeunes larves, ne représente qu'une charge relativement modeste, les masses nécessaires étant assez faibles. En outre, il n'y a pas de risque de rupture d'approvisionnement : l'ensemble du cycle vital est réalisé sur place.

Il n'est donc peut-être pas indispensable, au moins à court terme, d'éliminer toutes les proies vivantes employées dans les méthodes d'élevage traditionnelles. Pour cette raison, nous avons choisi d'utiliser les aliments composés comme source unique de nourriture dans certaines expériences, et en supplément des rotifères ou des copépodes dans d'autres.

## MATERIEL ET METHODES.

### Conditions d'élevage.

Les larves sont élevées en eau filtrée et partiellement recyclée, dans des bacs de polyester de 60 litres, sous illumination continue, conditions déjà décrites (GIRIN, 1975).

Le recyclage partiel n'est pas un choix expérimental : il est imposé par un souci de sécurité lié aux conditions d'approvisionnement en eau du laboratoire. La filtration, effectuée sur filtre à sable rapide sous pression, a pour but d'éviter l'introduction accidentelle de proies vivantes dans les bacs (ADRON *et al.*, 1974). Comme dans les expériences de BARNABE (1975, 1976), les bacs sont utilisés nus. Le modèle retenu, de forme cylindro-conique, avec une hauteur supérieure au plus grand diamètre et une aération par la pointe, tient compte des observations de cet auteur sur l'importance d'un bon mouvement de convection de l'eau.

La température de l'eau est maintenue à 19° C, au °C près. Son renouvellement débute avec le premier apport de nourriture. Il est réglé à 200 ml/mn durant la journée, et 100 ml/mn durant la nuit.

.../...



Alimentation.

Un demi-milliard d'algues unicellulaires *Tetraselmis suecica*, qui servent normalement de nourriture aux rotifères et aux copépodes, est ajouté les 2ème, 5ème, 9ème et 14ème jours après l'éclosion.

Lors des distributions d'algues, de rotifères ou de copépodes vivants, la dose du jour est simplement déversée dans le bac en milieu de journée. L'aliment composé est distribué en continu, au moyen de distributeurs automatiques.

La composition centésimale des régimes utilisés est rapportée dans le tableau 1.

	PG	AA1	AA3	A2	AZ	BZ
Norseamink.....	-	10	-	-	-	-
CPSP 80.....	78	-	-	-	-	-
CPSP 80G.....	-	-	20	30	-	-
Peptonal.....	-	10	8	-	-	-
Autolysat.....	-	10	-	-	-	-
Nuoc Mam.....	-	-	(20ml)	-	-	-
"Arome Maggi"..... (extraits aminés végétaux + glutamate)	-	-	(10ml)	-	-	-
Farine de sang.....	-	3	-	-	-	-
Levure diététique.....	-	10	-	-	-	-
Lait en poudre.....	-	10	10	-	-	-
Spirulines atomisées.....	-	10	10	19	-	-
Poudre d' <i>Artemia</i> lyophilisés	-	-	20	20	90	-
Poudre de <i>Brachionus</i> lyophilisés	-	-	-	-	-	90
Amigel.....	4	3	-	-	-	-
Premix.....	-	4	4	4	-	-
Huile de foie de morue.....	2,5	10	8	7	-	-
Huile de soja.....	2,5	-	-	-	-	-
Gélatine.....	10	-	-	-	-	-
Enrobant :						
Zéine.....	-	10	10	10	10	10
Poudre d' <i>Artemia</i> .....	-	10	10	-	-	-

TABLEAU 1 : Composition des différents aliments utilisés.

Outre les formules du type semi-synthétique PG, PGE et PZH, déjà décrites (GATESOUBE et LUQUET, 1977), nous avons élaboré trois régimes complexes dénommés AA1, AA3 et A2 renfermant environ 50 p. 100 de protéines et respectivement 12 p. 100, 13 p. 100 et 14 p. 100 de lipides.

Ces aliments sont présentés sous forme de particules de taille comprise entre 100 et 315 microns, enrobées de zéine suivant la méthode décrite antérieurement. Les fractions comprises entre 100 µ et 200 µ sont distribuées jusqu'au 15ème jour pour le bar. Au-delà, c'est la fraction 200-315 microns qui est utilisée. Ces formules sont comparées à deux régimes dénommés BZ et AZ constitués respectivement de poudre de *Brachionus* lyophilisés et de poudre d'*Artemia* lyophilisés, enrobées à la zéine. Les tailles des particules sont de 100-200 µ pour BZ et de 200-315 µ pour AZ.



Les aliments non consommés sont retirés par siphonage du fond du bac tous les deux jours pour le bar et seulement une fois vers le 10ème jour pour la sole, c'est-à-dire juste avant son stade benthique.

ESSAIS REALISES ET RESULTATS.

Compte tenu de la multiplicité des essais réalisés et afin d'alléger le texte, nous énoncerons, simultanément, pour chacun d'eux, le protocole en particulier suivi et les résultats obtenus. Ceux-ci sont résumés dans le tableau 2 pour le bar et dans le tableau 3 pour la sole.

N°	Nombre initial de larves		Aliment composé	Durée de l'apport en <i>Braconius</i> (en jours)	Nombre total de <i>Braconius</i> /bac x 10 <sup>6</sup>	Date d'arrêt de l'expérience (en jours après l'éclosion)	Survivants		Coût en nombre de proies vivantes par larve produite x 10 <sup>3</sup>
	Absolu	Par litre					Nombre	Pourcentage	
1	500	8	PG	0	0	18	19	4	0
			PGE	0	0	18	2	0,4	0
2	2500	42	PZH	0	0	26	3	0,1	0
3	1800	30	AZ, BZ	21	1,85	30	18	1	103
			AA1	21	1,85	30	100	6	19
			AA3	21	1,85	30	79	4	23
4	1800	30	AA1	17	1,60	30	190	11	8
			A2	17	1,60	30	43	2	37

TABEAU 2 : *Survie des larves de bar soumises à différents régimes alimentaires.*

Exp. n°	Nombre initial de larves		Aliment composé	Durée de l'apport en <i>Braconius</i> en jours	Nombre total de <i>Braconius</i> par bac x 10 <sup>4</sup>	Nombre total de <i>Tisbe</i> ajoutés par bac x 10 <sup>3</sup>	Date d'arrêt de l'expérience (métamorphose complète)	Nombre de survivants		Coût en nombre de proies vivantes par larve produite	
	Absolu	Par litre						Nombre	Pourcentage	<i>Braconius</i>	<i>Tisbe</i>
1	768	13	PG	0	0	0	22	6	0,8	0	0
2	300	5	PZH	0	0	0	25	21	7	0	0
3	300	5	AA3	0	0	12,4	19	109	36	0	114
			AA3	1	20	12,4	19	136	45	1471	91
			AA3	10	55	4,8	19	214	71	2570	22
4	350	6	AA1	1	2,5	12,4	18	102	29	245	122
			AA3	1	2,5	12,4	18	66	19	379	188
5	1700	28	AA3	11	127,5	10,5	16	275	16	4636	38
			A2	11	127,5	3	16	210	12	6071	14
			AA1	11	127,5	3	16	198	12	6439	15

TABEAU 3 : *Survie des larves de sole soumises à différents régimes alimentaires.*

Expériences réalisées sur le bar.

Essai 1 : Deux lots de 500 larves sont constitués le premier jour après l'éclosion. Les aliments utilisés sont, d'une part l'aliment PG et, d'autre part l'aliment PGE (granulés P .../...



encapsulés par la gélatine), à l'exclusion de tout apport de nourriture vivante. Dix huit jours après l'éclosion, il ne reste que 19 survivants dans le premier lot et 2 dans le second.

Essai 2 : Un lot de 2 500 larves reçoit l'aliment PZH (granulés PG encapsulés par la zéine), à l'exclusion de toute nourriture vivante. Au bout de 26 jours, il ne reste que 3 larves.

Essai 3 : Trois lots de 1 800 larves reçoivent des *Brachionus* vivants du 3ème au 23ème jour (au total  $1,85 \times 10^6$  *Brachionus* par bac) et en plus respectivement les aliments BZ (puis AZ à partir du 15ème jour), AA1 et AA3. La croissance en longueur des larves rapportée dans la figure 1, suivie en prélevant 10 individus par bac tous les cinq jours à partir du 7ème jour.

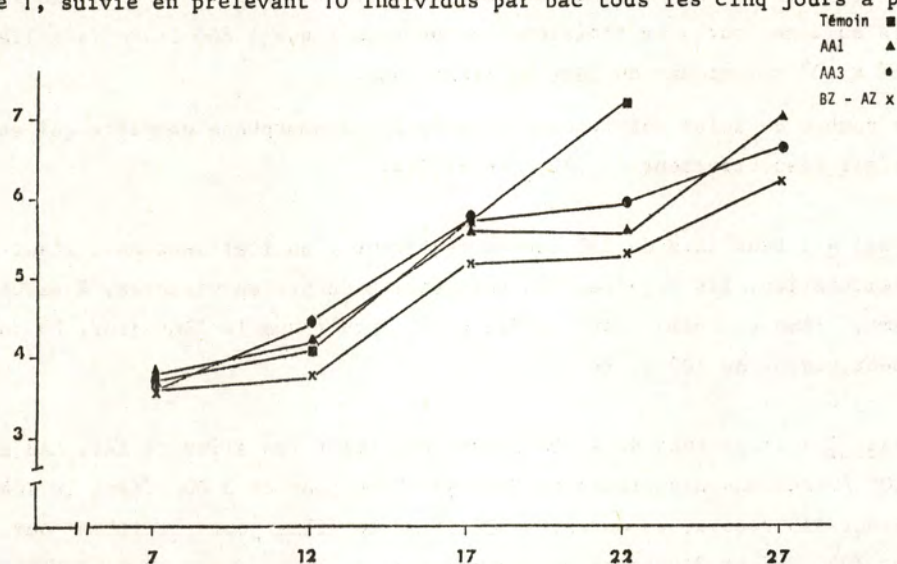


FIGURE 1 : Essai 3 réalisé sur bar - Croissance en longueur en fonction des différents régimes.

Jusqu'au 17ème jour, la croissance des lots AA1 et AA3 est comparable à celle d'un lot témoin recevant des *Brachionus* et des *Artemia* vivants suivant la séquence décrite par GIRIN (1975), alors que la croissance du lot recevant BZ puis AZ est inférieure. Du 17ème au 27ème jour, la croissance des trois lots expérimentaux est pratiquement arrêtée, alors qu'elle se poursuit pour le lot témoin. Au 27ème jour, la longueur est de 7,19 mm pour le lot AA2, de 6,68 mm pour le lot AA3 et de 6,23 pour le lot BZ/AZ ; les poids correspondants sont de 2,3 mg, 2,0 mg et 1,7 mg et le nombre de survivants (non corrigé en fonction des prélèvements effectués) de 100, 79 et 18. Compte tenu de ces survies, le coût apparent en nombre de proies vivantes par larve produite varie de  $103 \times 10^3$  (BZ/AZ) à  $19 \times 10^3$  (AA1).

Essai 4 : Deux lots de 1 800 larves reçoivent des *Brachionus* vivants du 3ème au 19ème jour ( $1,6 \times 10^6$  *Brachionus* par bac au total) et de l'aliment AA1 ou A2. Aucun prélèvement n'est effectué au cours de la période d'observation. Au bout de 30 jours, il reste 190 survivants pour le régime AA1 et 43 pour le régime A2. La croissance correspondante est plus faible que celle notée lors de l'essai précédent puisque les longueur et poids ne sont que de 6,20 mm et 1,8 mg pour le lot AA1 et de 5,6 mm et 1,3 mg pour le lot A2. Le coût apparent en nombres de *Brachionus* par larve produite est respectivement de 8 et  $37 \times 10^3$ .

.../...



Expériences réalisées sur la sole.

Essai 1 : Un lot de 753 larves ne recevant que de l'aliment PG donne 6 soles dont la métamorphose est achevée au 22ème jour.

Essai 2 : Un lot de 300 larves ne recevant que de l'aliment PZH donne 21 soles dont la métamorphose est achevée au 25ème jour.

Essai 3 : Trois lots de 300 larves reçoivent de l'aliment AA3 et différents apports de proies vivantes. Au premier lot, sont distribués 12 400 *Tisbe* en 3 fois : aux 9ème, 12ème et 17ème jour. Le deuxième lot reçoit la même quantité de *Tisbe* et en outre  $20 \times 10^4$  *Brachionus* (en 1 fois au 2ème jour). Le troisième lot ne reçoit que 4 800 *Tisbe* (aux 12ème et 17ème jour), mais  $55 \times 10^4$  *Brachionus* du 2ème au 11ème jour.

Le nombre de soles survivantes lors de la métamorphose complète qui est intervenue au 19ème jour est respectivement de 109, 136 et 214.

Essai 4 : Deux lots de 350 larves reçoivent l'un l'aliment AA1, l'autre l'aliment AA3. En supplémentation, ils reçoivent la même ration de proies vivantes, à savoir 12 400 *Tisbe* (aux 8ème, 11ème et 16ème jour) et  $2,5 \times 10^4$  *Brachionus* le 2ème jour. La survie au 18ème jour est respectivement de 102 et 66 soles.

Essai 5 : Trois lots de 1 700 larves reçoivent les aliments AA1, AA3 et A2 ainsi que  $127,5 \times 10^4$  *Brachionus* distribués du 2ème au 12ème jour et 3 000 *Tisbe* le 10ème jour. Le lot nourri sur AA3 reçoit, en outre, 7 500 *Tisbe* le 12ème jour. Le 16ème jour, il reste respectivement 198, 275 et 210 soles métamorphosées.

DISCUSSION.

L'utilisation d'aliments composés seuls fournit des résultats assez décevants, largement inférieurs à ceux qu'ADRON *et al.* (1974) ont obtenu chez la plie (17,5 p. 100 de survie à 56 jours). Nous n'avons pas mentionné ici d'autres essais réalisés avec des aliments enrobés à la zéine et arrêtés précocement, car les résultats obtenus n'étaient guère meilleurs. Il est exclu d'espérer tirer des conclusions d'ordre nutritionnel en se basant sur des survies aussi faibles, car il est totalement impossible d'affirmer que les quelques proies vivantes inévitablement apportées par une eau recyclée même filtrée n'ont pas une influence déterminante sur cette survie. On notera d'ailleurs un fait qui peut être un argument en faveur de cette hypothèse : le meilleur résultat obtenu chez le bar (4 p. 100 de survie), comparable à celui que signale BARNABE (1976), provient, comme chez cet auteur, d'une expérience réalisée à une charge inférieure à 10 larves/litre en début d'élevage.

L'utilisation simultanée d'aliments composés et de proies vivantes s'est, en revanche, avérée plus positive.



Chez le bar, il apparaît possible de dépasser 10 p. 100 de survie à 1 mois, avec un apport de rotifères limité à 17 jours et quantitativement assez modeste. Cependant, comme dans les expériences de BARNABE (1976) avec des mélanges d'aliments composés, la croissance se montre moins rapide que lorsque les animaux sont nourris uniquement de proies vivantes.

Chez la sole, le taux de survie après la métamorphose peut atteindre un niveau très élevé (71 p. 100) lorsque la charge est limitée à 5 larves/litre en début d'élevage. Il redescend par contre aux valeurs obtenues chez le bar, lorsque la charge au départ est montée à 30 larves/litre. Sur le plan qualitatif la formulation des régimes paraît jouer un rôle négligeable, en regard de la quantité des proies vivantes fournies ; l'effet de ce dernier facteur est très net dans la 3ème expérience.

L'ensemble des expériences réalisées, chez les deux espèces, paraît conduire à une charge limite de l'ordre de 200 poissons par bac (soit 3 par litre) à 1 mois (chez le bar), ou après la métamorphose (chez la sole), quelle que soit la charge employée au départ. C'est un résultat 8 à 10 fois plus faible que ce qu'il est possible d'obtenir actuellement avec un emploi exclusif de proies vivantes. L'écart est considérable, mais il n'est pas nécessairement impossible à combler : obtenir 3 larves/litre à 1 mois était considéré, chez le bar, comme un bon résultat il y a 3 ans seulement (BARNABE, 1976).

Parmi les diverses formules testées, si l'on utilise comme critères à la fois la survie et la croissance des bars, il semble que AAl soit la mieux adaptée, tandis que les poudres de rotifères et d'*Artemia* fournissent des résultats particulièrement mauvais. Un tel fait pourrait confirmer que la supériorité des proies vivantes n'est pas tant leur composition, que leurs mouvements, comme plusieurs auteurs l'ont supposé (HOUDE, 1973).

Dans une telle hypothèse, la solution présente vraisemblablement à la fois une composante technologique, c'est-à-dire une recherche de structures d'élevage favorisant au mieux les mouvements de particules dans la masse de l'eau et une composante alimentaire essentielle liée aux qualités organoleptiques des produits utilisés. Ces éléments sont les conditions nécessaires d'un niveau d'ingestion suffisant, indispensable à une croissance normale des animaux et à la réduction des risques de pollution des élevages par les aliments non consommés.

#### BIBLIOGRAPHIE.

ADRON, J.W., A. BLAIR and C.B. COWEY, 1974. Rearing of plaice (*Pleuronectes platessa*) larvae to metamorphosis using an artificial diet. Fish. Bull., 72 (2) : 353-357.

BARNABE, G., 1975. La genèse des activités locomotrices et trophiques chez la larve du loup *Dicentrarchus labrax* (L.) (Poisson, Serranidae). C.R. Acad. Sc. Paris, 280, D : 755-757.

.../...



- BARNABE, G., 1976. Contribution à la connaissance de la biologie du loup *Dicentrarchus labrax* (L.) (Poisson, Serranidae). Thèse de Doctorat d'Etat, Université des Sciences et Techniques du Languedoc. 426 pp.
- GATESOUBE, F.J. et P. LUQUET, 1977. Recherche d'une alimentation adaptée à l'élevage des stades larvaires des poissons. I - Comparaison de quelques techniques destinées à améliorer la stabilité à l'eau des aliments. Présenté à la 3ème Réunion du Groupe de Travail sur la Mariculture, Brest, France, 10-13 mai 1977.
- GIRIN, M., 1974. Régime alimentaire et pourcentage de survie chez la larve de sole (*Solea solea* L.). Colloque sur l'Aquaculture. Actes de colloques, 1, CNEXO Ed. : 175-185.
- GIRIN, M., M.H. BARAHONA-FERNANDES and A. LE ROUX, 1975. Larval rearing of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) with a high survival. ICES Doc. C.M. 1975/G, 14, 8 pp.
- HOUDE, E.D., 1973. Some recent advances and unsolved problems in the culture of marine fish larvae. Proceedings of the World Mariculture Society, 1972, 3 : 83-112.

REMERCIEMENTS.

*Ce travail a été réalisé grâce à l'aide financière du CNEXO (Contrat 76/5249).*



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4 (abstract only) : p. 67.

## REARING OF PLAICE LARVAE TO METAMORPHOSIS USING AN ARTIFICIAL DIET

by

J.M. ADRON, A. BLAIR and C.B. COWEY

Institute of Marine Biochemistry, St-Fittick's Road, Torry Aberdeen, AB1 3RA, United Kingdom.

### ABSTRACT.

The paper reports a series of rearing experiments performed on batches of 200 plaice larvae, in 12 l tanks. 2 kinds of artificial diets, a dry, sieved, compounded one, and an encapsulated one, were compared to a diet of live brine shrimp (*Artemia salina*). A survival rate of 17.5 % after metamorphosis was obtained in an experimental tank, against 38 % in the control one, demonstrating the feasibility of rearing larvae straight from first-feeding on compounded diets. Improvement of the results would require a careful look at the quality of the diets to be used, and at the behavioural and hygiene aspects of larvae rearing on artificial diets.

### RESUME.

La communication décrit une série d'expériences d'élevage larvaire réalisées sur des lots de 200 larves de plie, dans des aquariums de 12 l. Deux types d'aliments composés, un granulé sec tamisé, et un aliment encapsulé, sont comparés à un régime à base d'*Artemia salina* vivantes. Un taux de survie de 17,5 % après la métamorphose est obtenu dans un aquarium expérimental, contre 38 % dans le témoin, montrant qu'il est possible d'élever les larves en les nourrissant d'un aliment composé dès leur premier repas. Améliorer les résultats impliquerait une étude approfondie de la qualité des aliments à employer, et des problèmes de comportement et d'hygiène liés à l'élevage larvaire avec des aliments composés.



**POISSONS MARINS RONDS**

*MARINE ROUNDFISH*



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4 : 69-84.

EFFECT OF DIFFERENT FOOD LEVELS ON THE GROWTH AND SURVIVAL  
OF LABORATORY-REARED SEA-BASS LARVAE (*DICENTRARCHUS LABRAX* (L.))

by

Maria Helena BARAHONA-FERNANDES<sup>+</sup> and Michel GIRIN<sup>++</sup>

<sup>+</sup> Faculdade de Ciências, Departamento de Zoologia, Lisboa, Portugal  
presently at Centre Océanologique de Bretagne, France.

<sup>++</sup> Centre Océanologique de Bretagne, B.P.337, 29273 BREST Cédex, France.

ABSTRACT.

Four batches of 7 500 larvae were reared during a period of one month in 150 l tanks at 18° C. The first one was fed on the basis of estimates of the required daily amount of organisms that were made by one of the authors ; the second batch was fed on the average of the estimates made by both authors ; the third and the fourth batches were fed, respectively, with, 20 % above and 20 % below this average.

The densities of food in the tanks varied from 0 to 16 organisms/ml before the daily meal and from 1 to 25 organisms/ml after it. There was no significant difference in the final weight or length of the larvae, although the larvae receiving the highest food level showed a significantly better growth at the age of 15 days. Survival seemed to be better at lower feeding levels. The food conversion rates varied from 34.1 to 15.3 (wet weight) and from 18.7 to 8.4 (dry weight). The best rates were obtained at the lowest feeding level.

RESUME.

Quatre lots de 7 500 larves de bar sont élevés pendant un mois dans des bacs de 150 l, à 18° C. Ces larves reçoivent quotidiennement des quantités différentes de proies vivantes. Le premier lot est nourri sur la base d'une estimation de la quantité de nourriture à donner faite par une seule personne, le second sur la base de la moyenne des estimations faites par deux personnes, le troisième et le quatrième respectivement 20 % au-dessus et au-dessous de cette moyenne.

La concentration des proies dans les bacs varie de 0 à 16 proies/ml avant la distribution des repas et de 1 à 25 proies/ml après. Malgré une croissance plus rapide des larves suralimentées, pendant les deux premières semaines, aucune différence significative ne subsiste en fin d'expérience. La survie finale semble meilleure dans les lots recevant moins de nourriture. Les taux de conversion de la nourriture varient de 34,1 à 15,5 en poids humide et de 18,7 à 8,4 en poids sec. Le meilleur résultat est obtenu pour le lot le moins alimenté.

.../...



## INTRODUCTION.

The effect of different feeding levels on the growth and survival of marine fish larvae, reared in the laboratory, has been already investigated for several species. Many authors have tried to maintain a fixed density of prey in the tanks by means of a more or less regular adjustment of the amount provided, without looking closely at the daily food consumption by the larvae (ALDERSON and BROMLEY, 1973 ; HOUDE, 1975, 1976 ; RILEY, 1966 ; SAKSENA and HOUDE, 1972 ; O'CONNELL and RAYMOND, 1970 ; WYATT, 1972). An approach to examining the daily food intake of larvae at different prey concentrations was made by ROSENTHAL and HEMPEL (1970) for *Clupea harengus* and LAURENCE (1976) for *Pseudopleuronectes americanus*.

Results change from species to species. If the prey density is very low, mainly at the early larval stages, the mortality is very high (HOUDE and PALKO, 1970). At higher levels the larvae can tolerate a very wide concentration range (usually from 1 to 6) without catastrophic loss, but the conclusions are contradictory. For some authors there is a positive relation between food density and growth or survival (ALDERSON and BROMLEY, 1973 ; HOUDE, 1975 ; SAKSENA and HOUDE, 1972, *pro parte* ; WYATT, 1972). For others there is no relation at all (HUNTER, 1972 ; HOUDE, 1976 ; O'CONNELL and RAYMOND, 1970 ; RILEY, 1966 ; ROSENTHAL and HEMPEL, 1970). Further, in some cases a higher prey concentration may reduce the survival because of an accumulation of metabolites (SAKSENA and HOUDE, 1972, *pro parte*). However, none of these authors made any calculation of the conversion rate of the food by the larvae. Some information on this point can be obtained from SHELBOURNE (1968) for *Solea solea*.

In a mass production program, the amount of living food to be used is very important because of its high cost and low dependability (GIRIN and PERSON-LE RUYET, 1976 ; HOUDE, 1973). The amount of waste can be reduced, on the one hand by shortening the period before the fish is weaned, and on the other hand by restricting the living food input to the minimal daily requirements of the fish for optimal growth and survival. The first approach was recently investigated in sea-bass by the authors (BARAHONA FERNANDES and GIRIN, 1976). A preliminary investigation of the second approach was made by GIRIN (1976) who compared the effect of different feeding levels, and found that survival was better with the highest feeding scheme, but that the final weight was not significantly different at any food level.

In this paper we report a more detailed investigation of the problem of finding the minimum daily requirements for optimal survival and growth.

## MATERIAL AND METHODS.

The rearing method described by GIRIN and al. (1975) is based on a daily addition (for technical reasons, at noon) of a definite amount of living food to the culture tanks. This amount is estimated from the feeding diagrams of previous experiments, from an estimate of the amount of prey left in the tank from the day before, and from the general appearance and conduct of the population. The estimate of the amount of remaining prey is made by looking through a 250 ml glass beaker containing a sample of the tank-water with some fish in it.

.../...



Successful application of the above method requires much personal experience. The unavoidable difference between subjective estimates made by different people lead to differences in the supply of food, which in turn may well affect the survival or growth of the larvae. We accordingly designed an experiment with five batches, each containing 7 500 larvae from the same spawn and reared in similar physical conditions. One batch was to be fed following the estimates of one of the authors (estimated regime tank 1), the second using the estimates of the other author (estimated regime tank 2), the third the average of both estimates (average regime tank), the fourth 20 % above this average (increased regime tank), and the fifth 20 % below it (lowered regime tank).

An aeration failure in tank 2, two days after the beginning of the experiment, obliged us to change the initial procedure. The solution chosen was to use, for the average calculation, the estimates of both authors for tank 1 which, however, continued to receive only the food level estimated by the author originally assigned to it (fig. 1).

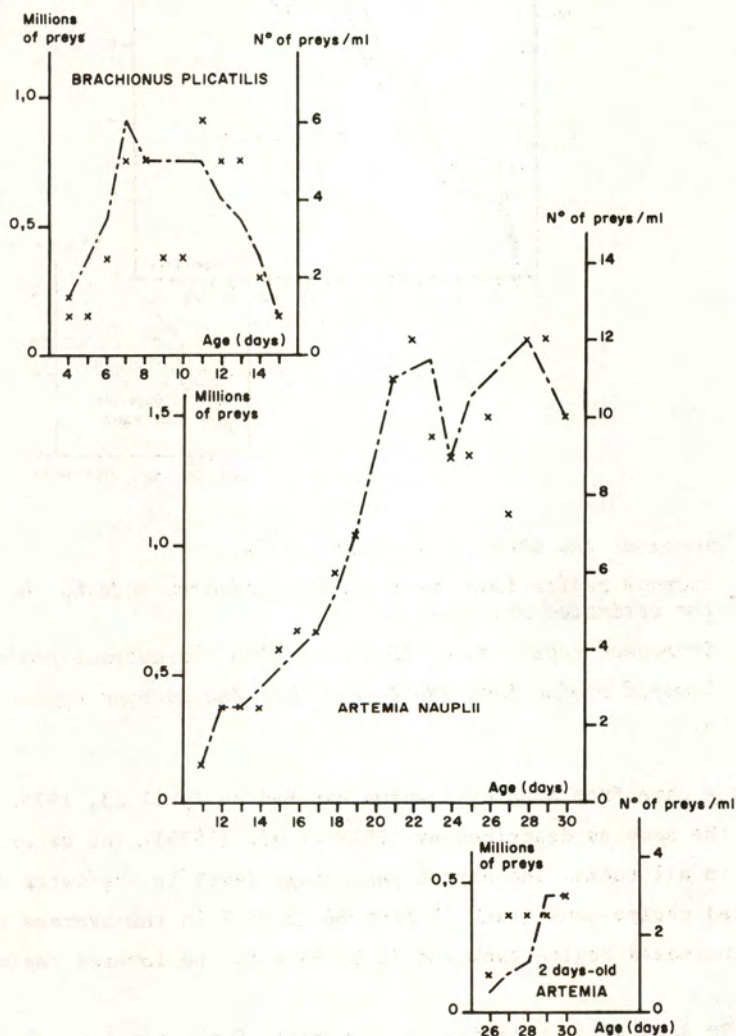


FIGURE 1 : Feeding schema of the estimated regime tank.

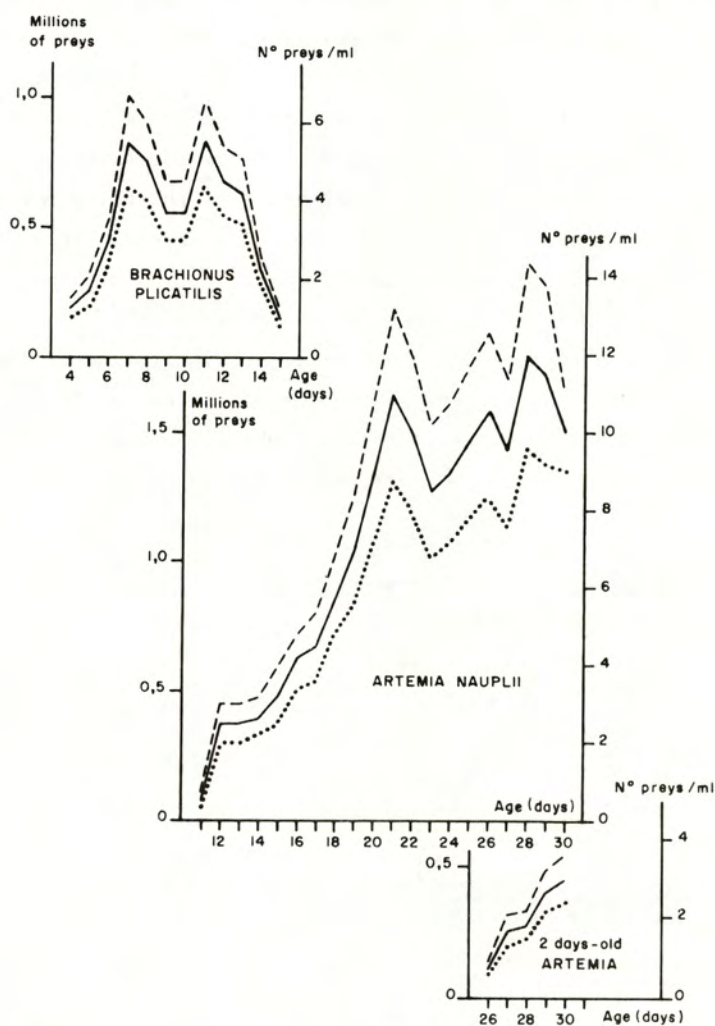
--- Schema used, estimated by one author

+++++ Estimates made in the same tank by the other author

.../...



No change was made in the design of the experiment for the other three tanks (fig. 2).



**FIGURE 2** : Feeding schemas at the three differents levels.

- average regime tank (mean of the estimates made by the two authors in the estimated regime tank)
- increased regime tank (20 % more than the average regime tank)
- ..... lowered regime tank (20 % less than the average regime tank).

All larvae came from a natural spawn hatched on April 23, 1975. The general rearing method was the same as described by GIRIN *et al.* (1975). The water temperature varied from 18.0 to 18.9° C in all tanks. The oxygen percentage level in the water ranged from 70 to 98 % in the estimated regime tank (tank 1) from 66 to 98 % in the average regime tank, from 73 to 96 % in the increased regime tank and 72 to 99 % in the lowered regime tank.

Ten and 20 days after hatching, an estimate of the total population in each tank was made by gently homogenizing the larvae in the tanks, mixing the water with an agitator and sampling one liter of the suspension for counting.

.../...



The different living-food organisms used were carried to the fish culture room in separate and aerated containers. Their density was estimated from three samples of 1 ml. The mean error of the estimates was 15 %. Any specific desired quantity of prey could thus be given to a tank by homogenizing the contents of one of the containers and removing from it the appropriate volume.

The calculation of the number of remaining organisms in the fish culture tanks was made from three samples of 25 ml : one from the surface, another from the middle and one from the bottom of each tank. The difference between the highest and lowest counts at all levels in the three samples was 30 %.

Dead larvae were not reported because their small size results in a very high decomposition rate that invalidates any count, a problem noted also by ALESSIO (1976), ALDERSON and BROMLEY (1973), O'CONNELL and RAYMOND (1970) and WYATT (1972).

Every five days ten fish were sampled in each tank and preserved in 5 % neutralized formalin for later measurements of length and weight.

RESULTS.

The estimates obtained for survival at the ages of 10 and 20 days and at the final age of 30 days after hatching are plotted in table 1.

	Estimated regime tank	Calculated regime tank	Increased regime tank	Lowered regime tank
Estimates at 10 days-old (3 samples)	32.7 % 36.9 % 44.6 % } 39.0 %	50.6 % 76.9 % 83.3 % } 71.8 %	50.6 % 62.5 % 64.6 % } 59.5 %	38.7 % 55.4 % 65.4 % } 54.4 %
Estimates at 20 days-old (2 samples)	21.3 % 37.3 % } 29.5 %	44.2 % 57.3 % } 50.7 %	47.5 % 67.7 % } 57.3 %	60.6 % 62.2 % } 61.4 %
Final survival 30 days-old (counted)	34.9 % (2611 survivors)	22.1 % (1656 survivors)	26.8 % (2011 survivors)	32.8 % (2468 survivors)

TABLE 1 : Survival percentages : estimates obtained at 10 and 20 days-old and final survival.

.../...



This table shows the low validity (wide range) of the estimates made at 10 and 20 days. Improved estimates could be obtained with better homogenization before sampling, but this would harm the larvae. Other methods, such as using percentages of recaptured, previously coloured larvae, as made by TRANCART and DAOUD (*in* : BARNABE, 1976) do not seem more dependable than our technique. In any event, one has to choose between information and survival of fish.

Tests on the survival at the age of 30 days, by means of the normal derivate (SNEDECOR and COCHRAN, 1967), shows no significant difference between the estimated regime tank and the lowered regime tank, but significant differences in all other possible combinations. However, the power of this test is low and the initial 7 500 larvae introduced in each tank are not an exact number but an estimate.

The growth curves in weight and length were plotted in figure 3 from the average values of the samples and their 95 % confidence limits. The analyses of variance in weight

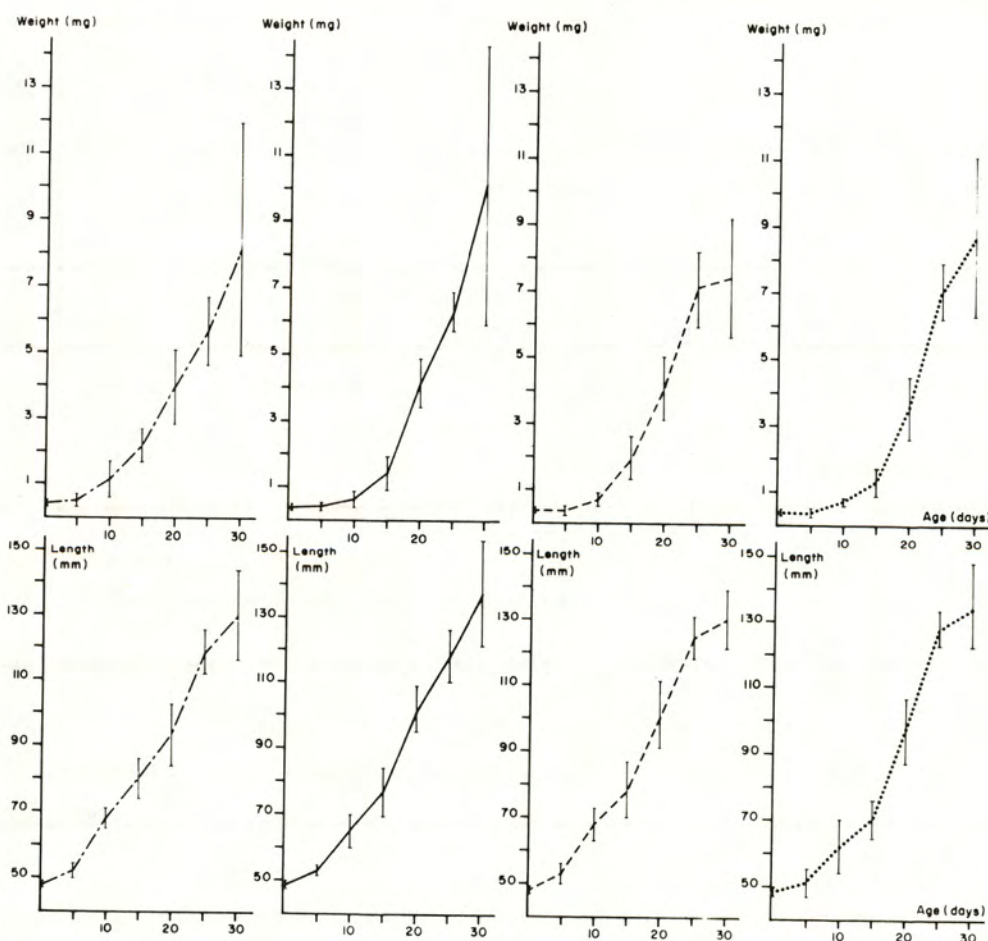


FIGURE 3 : Growth curves, both in weight and in length (average values of the samples and their 95 % confidence limits )

- Estimated regime tank
- Average regime tank
- ..... Increased regime tank
- ..... Lowered regime tank

.../...



at the ages of 5, 10, 15, 20, 25 and 30 days were made with orthogonal *a priori* comparison of the estimated regime tank against all other tanks, of the average regime tank against the increased and lowered regime tanks, and of the increased regime tank against the lowered regime tank. There were no significant differences except between the increased and lowered regime tanks at the age of 15 days.

Figure 4 shows the daily evolution of the number and concentration of the prey in each tank. These curves are approximate because of the mean error introduced by the counting and by some natural mortality of the prey which was not taken into account.

Figure 5 shows the percentage of prey eaten, during a 24 h period, from the daily amount available in the average, increased and lowered regime tanks. The mean percentage of consumption for each type of prey and for all tanks is plotted in table 2.

	Estimated regime tank	Calculated regime tank	Increased regime tank	Lowered regime tank
<i>Brachionus plicatilis</i>	67.8 %	54.6 %	62.1 %	70.4 %
<i>Artemia</i> nauplii	93.7 %	63.2 %	60.7 %	75.5 %
2 days-old <i>Artemia</i>	87.1 %	79.5 %	57.1 %	64.8 %

TABLE 2 : Mean daily food consumption percentage in each tank.

Table 3 gives the data for the total amount of prey given to each tank in order to produce 30 days-old larvae, both in total number and in weight.



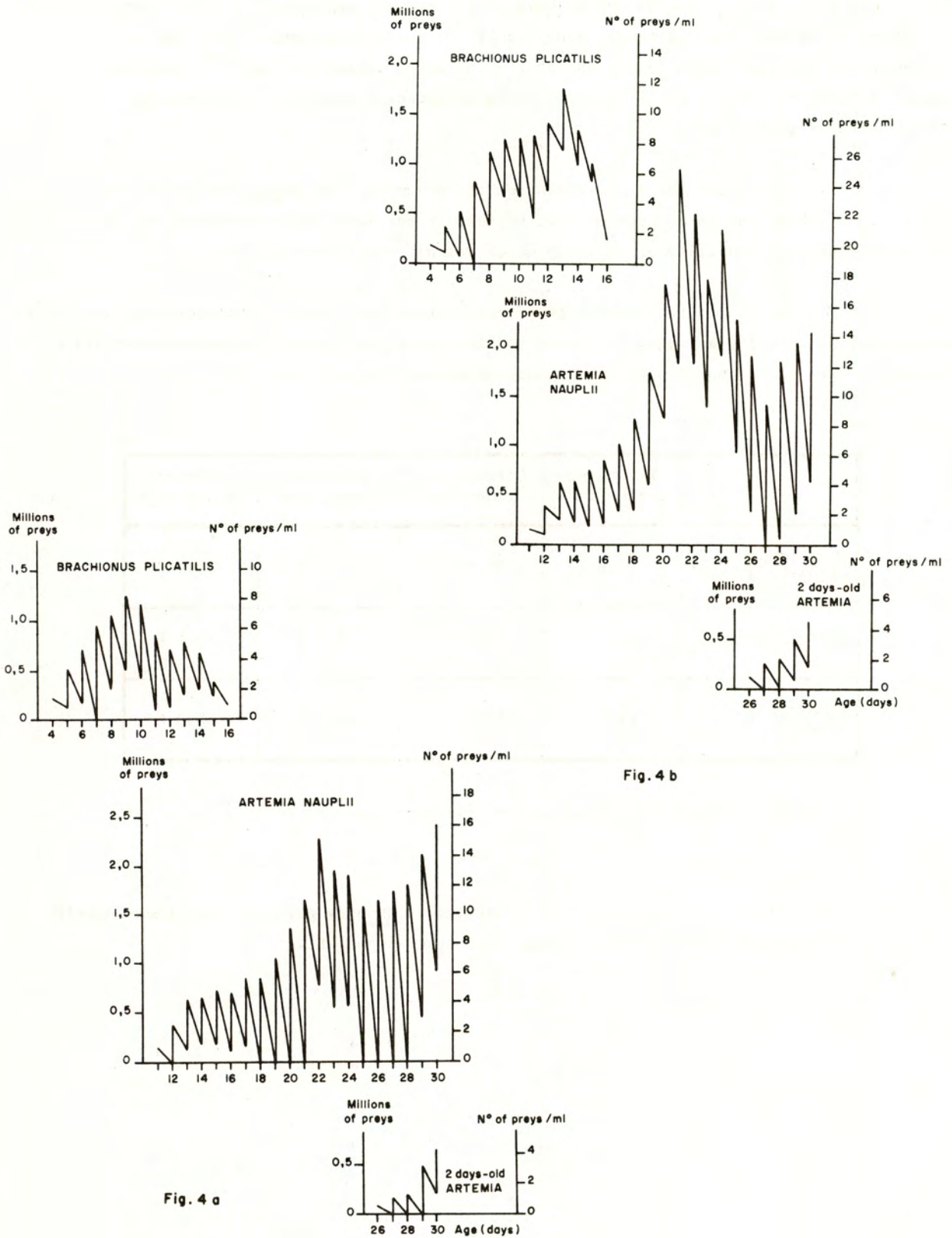


FIGURE 4 : Evolution of the food level in each tank, both in total number of preys and in concentration

- a) Estimated regime tank      b) Average regime tank  
 c) Increased regime tank      d) Lowered regime tank      .../...



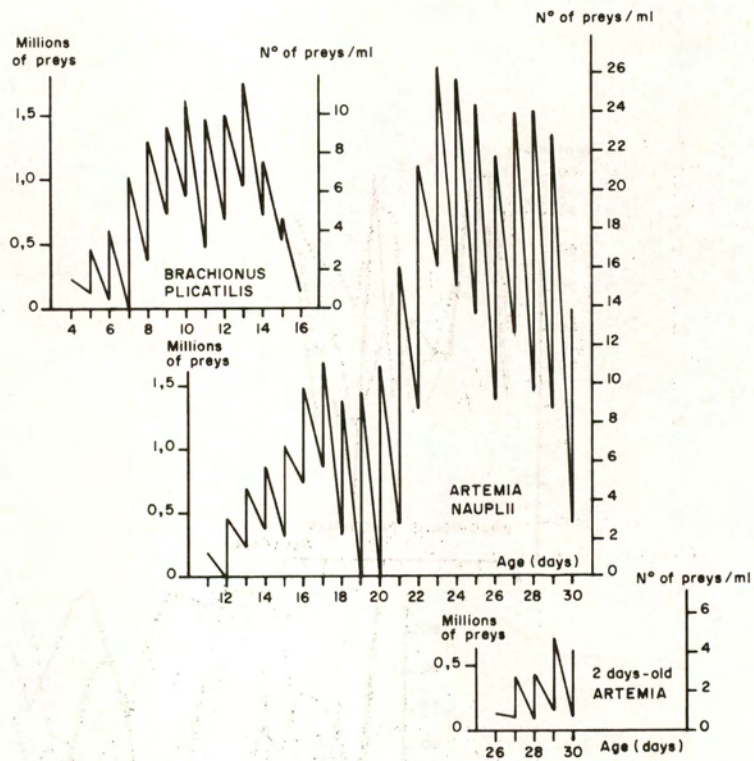


Fig. 4 c

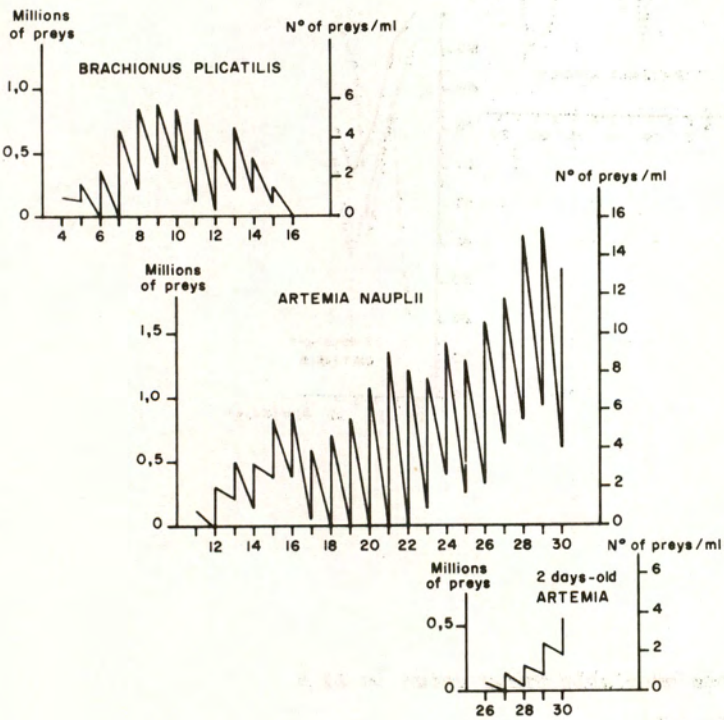
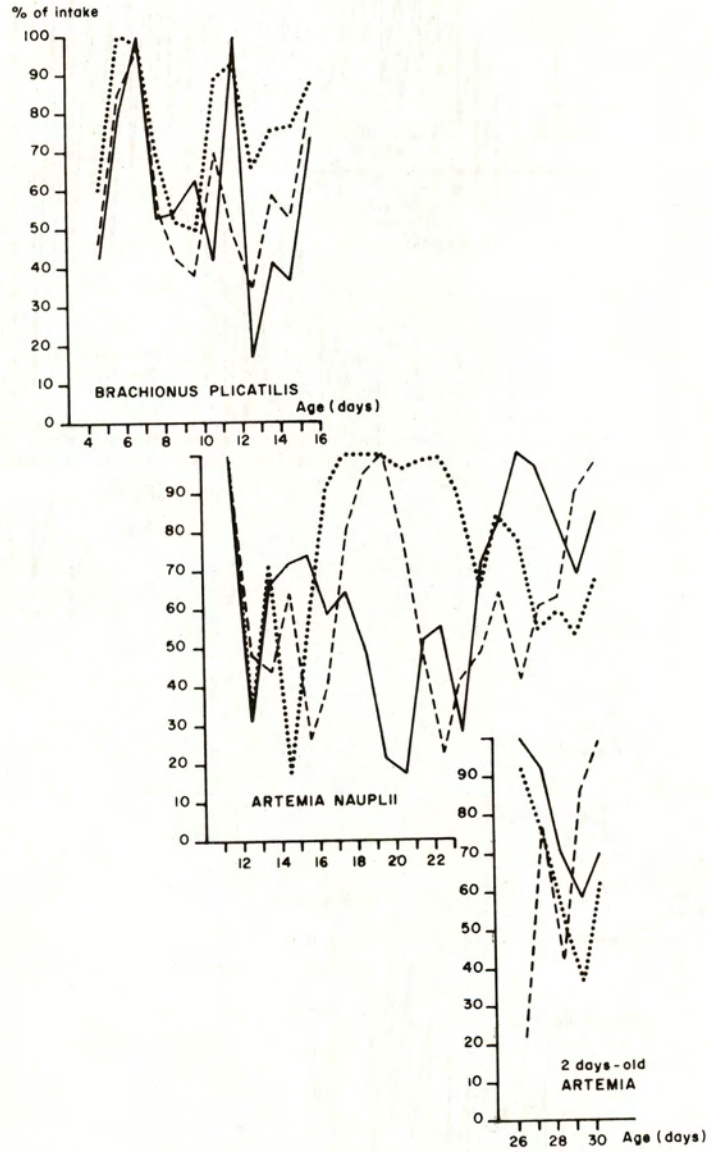


Fig. 4 d





**FIGURE 5** : Daily percentage of the available preys eaten in 24 h.

- Average regime tank
- Increased regime tank
- ..... Lowered regime tank

.../...



		ESTIMATED REGIME TANK	CALCULATED REGIME TANK	INCREASED REGIME TANK	LOWERED REGIME TANK
Total number of given prey (x 10 <sup>3</sup> )	<i>Brachionus plicatilis</i>	6 675	6 225	7 470	4 980
	<i>Artemia nauplii</i>	22 200	21 712	25 860	17 370
	2 days-old <i>Artemia</i>	1 312	1 515	1 737	1 212
Wet weight of given prey (mg)	<i>Brachionus plicatilis</i>	16 020	14 940	17 928	11 952
	<i>Artemia nauplii</i>	295 926	289 428	344 714	231 542
	2 days-old <i>Artemia</i>	59 141	68 266	81 784	54 613
Total wet weight of given prey (mg)		371 087	372 633	444 425	298 107
Dry weight of given prey (mg)	<i>Brachionus plicatilis</i>	1 735	1 618	1 942	1 295
	<i>Artemia nauplii</i>	41 514	40 602	48 358	32 482
	2 days-old <i>Artemia</i>	4 371	5 045	6 044	4 036
Total dry weight of given prey (mg)		47 620	47 266	56 344	37 813

TABLE 3 : Total amount of prey offered to each tank, both in total number and in weight.

Table 4 gives the total number and weight of prey needed for the production of one 30 days-old larva in each tank. It was calculated both from the final survival data (table 1) and from the amount of food provided (table 3).



		ESTIMATED REGIME TANK	CALCULATED REGIME TANK	INCREASED REGIME TANK	LOWERED REGIME TANK
N° of prey needed to produce one 30 day -old larva .	<i>Brachionus plicatilis</i>	2 556	3 759	3 715	2 018
	<i>Artemia nauplii</i>	8 502	13 111	12 859	7 038
	2 days-old <i>Artemia</i>	503	915	902	409
Total wet weight of prey needed to produce one 30 day -old larva (mg)		142	225	221	121
Total dry weight of prey needed to produce one 30 day -old larva (mg)		18	24	28	15

TABLE 4 : N° of prey to make one 30 day-old larva, both in total number and in weight.

The mean increase of the weight for each batch of larvae and the food conversion rate for each tank (including consumption by larvae which died during the experiment) are plotted in table 5. The food conversion is given by the equation :

$$\text{Food conversion rate} = \frac{\text{Weight of the food offered}}{\text{Average weight gain of the individual larvae}} \times \% \text{ survival}$$

		ESTIMATED REGIME TANK	CALCULATED REGIME TANK	INCREASED REGIME TANK	LOWERED REGIME TANK
Mean weight at age 0 (mg)	Wet	0.30			
	Dry	0.09			
Mean weight at age 30 (mg)	Wet	8.13	10.13	7.44	8.66
	Dry	1.92	2.51	1.82	8.37
Mean weight gain (mg)	Wet	7.87	9.87	7.18	8.37
	Dry	1.78	2.36	1.68	1.95
Conversion rate	Wet	19.2	25.1	34.1	15.3
	Dry	11.0	13.5	18.7	8.4

TABLE 5 : Mean increase of wet and dry weights in each tank and the corresponding conversion rate.

.../...



Both the weight of food and the weight of larvae are expressed as dry weight for the calculation of the dry food conversion rate and as wet weight for the calculation of wet rate.

#### DISCUSSION.

The lack of replicates in the experiment, and the low validity of the population estimates in the tanks restrict possible analyses of the survival data. However, it seems that a higher feeding level might enhance survival during the first-feeding period, and have a negative effect later.

The accuracy of the information on growth is much better. A higher feeding level results in a significantly better growth at the age of 15 days, but there is no remaining difference at the end of the first month of life.

Taken together, the results tend to show, within the food-level range used, that the larvae benefit from a high feeding level in the beginning, but that this has not much influence on its later life in the given conditions. There is thus apparently no point in keeping the food level high at this stage. A similar conclusion was reached, for various species of fish larvae, by HOUDE (1975), HUNTER (1972), RILEY (1966), ROSENTHAL and HEMPEL (1970), SAKSENA and HOUDE (1972, *pro parte*), O'CONNEL and RAYMOND (1970), and WYATT (1972).

Our data fit well with the general idea that newly feeding larvae have a low predatory efficiency. The statistical chance of larvae and prey meeting would have a high influence on the amount of food eaten, and thus on growth and survival (ALDERSON and BROMLEY, 1973 ; LASKER, 1976 ; LAURENCE, 1976).

In a more advanced stage of larval development, when the larva has changed into a much more efficient predator, an excess of food may be more dangerous than useful. This danger may come from an accumulation of metabolites in the water (HOUDE, 1975 ; O'CONNEL and RAYMOND, 1970 ; SAKSENA and HOUDE, 1972).

In addition, particularly when the culture is made without algae, which was the case in this experiment, overfed larvae have more chances of eating *Artemia* which remained in the tanks for some time and have a low nutritional value (PAFFENHOFER, 1967).

The experiment reported in the present paper, and the previous experiment reported by GIRIN (1976), in which the feeding levels covered a wider range but involved smaller total quantities, lead to the conclusion that in the particular case of sea-bass the calculated estimates fulfil rather well the essential food requirements of the larvae. The unavoidable subjectivity of the method has only a very small effect on the results of the culture, inasmuch a difference of  $\pm 20\%$  is hardly reflected in the survival data and has no effect on the growth achieved after 1 month.

.../...



It seems that the larvae eat more whenever they have more available food, but do not grow faster. On the other hand, a useless excess of food will result in considerable waste and in lower efficiency : in this experiment, the food conversion rate was roughly twice as good at the lowest feeding level as it was at the highest.

Information on food conversion rates of marine fish larvae is very rare in the literature. Accounting for daily mortality is quantitatively impossible, and, without this information, one can calculate only a gross value for the food conversion rate from one age to another. The only such data available, were obtained by SHELBOURNE (1968) on sole (*Solea solea*) and at a temperature of 10 to 14° C with a survival of 42 and 44 %. SHELBOURNE calculated wet conversion rates of 13.1 and 12.6, from newly hatched to 4 month old fish. In our experiment, the lowered regime tank, with a 33 % survival, gave a wet food conversion rate of 15.3.

In conclusion, our data lead to the recommendation of designing feeding schemes with a high food level (*Brachionus plicatilis*) for the initial feeding period and thereafter with daily amounts of *Artemia salina* strictly restricted to the intake capacity of the larvae.

#### ACKNOWLEDGEMENTS.

The first author acknowledges a scholarship from the Gulbenkian Foundation and a scholarship from the French Government through the French Embassy in Lisbon. We thank L. LAUBIER and D. NEEDHAM for their critical reading of the manuscript, G. CONAN, J. PERSON-LE RUYET and A. SALAUN for the useful information provided, A. LE ROUX and G. NEDELEC for their technical help.

#### REFERENCES.

- ALESSIO, G., 1976. Tecniche e metodiche generali di riproduzione artificiale della spigola, *Dicentrarchus labrax* (L.) (Ostreichthyes, Serranidae). ICS, Rapp. Tech. Int., n° 4, 1-20 p.
- ALDERSON, R. and P.J. BROMLEY, 1973. A method for rearing larvae of the turbot, *Scophthalmus maximus* L., to metamorphosis. ICES, C.M. 1973/E:20, 11 p.
- BARAHONA-FERNANDES, M.H. and M. GIRIN, 1976. Preliminary tests on the optimal pellet-adaptation age for sea-bass larvae (Pisces, *Dicentrarchus labrax* L. 1758). Aquaculture, (8) : 283-290.
- BARNABE, G., 1976. Contribution à la connaissance de la biologie du loup *Dicentrarchus labrax* (Poisson Serranidae). Thèse de l'Université de Montpellier. 228 p.
- GIRIN, M., 1976. La ration alimentaire dans l'élevage larvaire du bar, *Dicentrarchus labrax* (L.). 10th European Symposium on Marine Biology, Ostend, Vol. 1 : 171-188.



- GIRIN, M., M.H. BARAHONA-FERNANDES and A. LE ROUX, 1975. Larval rearing of sea-bass (*Dicentrarchus labrax* (L.)) with a high survival. ICES, doc. C.M.1975/G:14, 8 pp.
- GIRIN, M. et J. PERSON-LE RUYET, 1976. L'élevage larvaire des poissons marins : chaînes alimentaires et aliments composés. 2nd European Congress of Ichthyology, Paris, 8-14 sept. 1975. 20 pp.
- HOUE, E.D. and B.J. PALKO, 1970. Laboratory rearing of a clupeid fish *Harengula pensacolae* from fertilized eggs. Marine Biology International Journal on Life in Oceans and Coastal Waters, vol. 5, n° 4, 354-358.
- HOUE, E.D., 1973. Some recent advances and unsolved problems in the culture of marine fish larvae. Proc. World Mar. Soc., vol. 3 : 83-112.
- HOUE, E.D., 1975. Effects of stocking density and food density on survival, growth and yield of laboratory reared larvae of sea bream *Archosargus rhomboidalis* (L.) (Sparidae). J. Fish. Biol., 7 : 115-127.
- HOUE, E.D., 1976. Critical food levels for growth and survival of laboratory reared larvae of three species of subtropical marine fish. ICES, C.M./E:50, 21 pp.
- HUNTER, J.R., 1972. Swimming and feeding behavior of larval anchovy *Engraulis mordax*. Fish. Bull., 70, n° 3 : 821-838.
- LASKER, R., 1976. The relation between oceanographic conditions and larval anchovy food in the California current : identification of factors contributing to recruitment failure. ICES, C.M./L.35, 28 pp.
- LAURENCE, G.C., 1976. A bioenergetic model for the analysis of feeding and survival potential of winter flounder larvae (*Pseudopleuronectes americanus*) during the period from hatching to metamorphosis. ICES, C.M./L:36, 44 pp.
- O'CONNELL, C.P. and L.P. RAYMOND, 1970. The effect of food density on survival and growth of the northern anchovy (*Engraulis mordax* Girard) in the laboratory. J. exp. Mar. Biol. Ecol., vol. 5 : 187-197.
- PAFFENHOFER, G.A., 1967. Caloric content of larvae of the brine shrimp *Artemia salina*. Helgoländer wiss. Meeresunters, 16 : 130-135.
- RILEY, J.D., 1966. Marine fish culture in Britain. VII. Plaice (*Pleuronectes platessa*) post-larvae feeding on *Artemia salina* L. nauplii and the effects of varying feeding levels. J. Cons. perm. int. Explor. Mer, 30, n° 2 : 204-221.
- ROSENTHAL, H. and G. HEMPEL, 1970. Experimental studies in feeding and food requirements of herring larvae (*Clupea harengus* L.). In : Marine Food Chains, J.H. Steele Ed., University California Press, Berkeley, 334-364.
- SAKSENA, V.P. and E.D. HOUE, 1972. Effect of food level on the growth and survival of laboratory reared larvae of bay anchovy (*Anchoa mitchilli* Valenciennes) and scaled sardine (*Harengula pensacolae* Goode and Baem). J. Exp. Mar. Biol. Ecol., vol. 8 : 249-258.



- SHELBOURNE, J.E., 1968. The culture of marine fish larvae, with special reference to the plaice (*Pleuronectes platessa* L.) and the sole (*Solea solea* L.). Ph.D. Thesis, London University, 108 pp.
- SNEDECOR, G.W. and W.C. COCHRAN, 1967. Statistical methods. The Iowa State Univ. Press, Iowa, 6th Ed., 221 pp.
- WYATT, T., 1972. Some effects of food density on the growth and behavior of plaice larvae. Mar. Biol., 14 (3) : 210-216.



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4 : 85-91.

EVOLUTION DES ACTIVITES ENZYMATIQUES DANS LE TUBE DIGESTIF  
AU COURS DE LA VIE LARVAIRE DU BAR (*DICENTRARCHUS LABRAX*)  
VARIATIONS DES PROTEINOGRAMMES ET DES ZYMOGRAMMES.

par

E. ALLIOT, A. PASTOUREAUD et J. TRELLU

avec la collaboration technique de J. NEDELEC

Station Marine d'Endoume, rue de la Batterie des Lions, 13007 Marseille, France.

ABSTRACT.

*The development of the digestive system of larvae of Dicentrarchus labrax has been studied. The changes in activities of digestive enzymes from hatching to 30 days have been investigated. 8 activities have been recorded : esterases,  $\alpha$ -glucosidase, trypsin, chymotrypsin, leucinaminopeptidase, alkaline and acid phosphatase, using polyacrylamid gel electrophoresis. All the activities are very weak at hatching ; the activities of trypsin,  $\alpha$ -glucosidase, alkaline phosphatase increase between 0 and 5 days, decrease slowly and are quite stable from 15 to 30 days. The other activities increase steadily from 0 to 20 days. Relationships between the developmental process of the digestive system and changes in activities are investigated.*

RESUME.

*Quelques activités enzymatiques digestives de larves de loups ou bars (Dicentrarchus labrax) ont été étudiées, en utilisant les techniques d'électrophorèse. Les larves ont été prélevées de cinq jours en cinq jours à partir de l'éclosion jusqu'à trente jours. Des variations dans le nombre des isozymes actifs vis-à-vis des substrats testés sont enregistrées. Toutes les activités semblent être présentes, mais très faibles, dès l'éclosion ; les principales variations sont décelées dans les quinze premiers jours. Les relations avec le développement fonctionnel du tractus digestif des larves sont discutées.*

.../...



## INTRODUCTION.

Avec le développement des recherches sur la production contrôlée de larves de téléostéens, se pose le problème de leur alimentation dès la résorption de la vésicule vitelline. Le choix des aliments, de leur composition, est lié à la connaissance de la physiologie de la digestion chez les très jeunes poissons. L'évolution de la morphologie du tractus digestif au cours de la croissance et de son équipement enzymatique a été étudiée chez quelques poissons (IWAI, 1967 ; TANAKA *et al.*, 1972 ; KAWAI et IKEDA, 1972, 1973 ; SINHA, 1976). Un certain nombre de données sur le développement du bar et l'équipement enzymatique du tube digestif chez l'adulte existent également (GIRIN *et al.*, 1975 ; BARNABE, 1976 ; ALESSIO *et al.*, 1976 ; ALLIOT *et al.*, 1974), et il nous a paru utile, étant donné les possibilités d'intérêt économique que parait présenter l'élevage du bar, d'étudier, spécifiquement pour ce poisson, l'évolution de l'équipement enzymatique du tractus digestif. Les premiers résultats obtenus pour les 30 premiers jours de vie larvaire après l'éclosion sont rapportés ici.

## MATERIEL ET METHODES.

### Matériel.

Les animaux proviennent, d'une part, de l'élevage du service d'aquaculture du Centre Océanologique de Bretagne (Brest), d'autre part de la Station de Biologie Marine et Lagunaire de Sète. Dès l'éclosion, ils sont alimentés avec des proies vivantes selon les méthodes testées dans ces deux laboratoires (GIRIN *et al.*, 1976 ; BARNABE *et al.*, 1976). Les larves de Brest sont élevées à 19° C, celles de Sète à 14° C. Des prélèvements sont effectués de 5 jours en 5 jours à partir de l'éclosion. Les larves sont isolées et mises au jeûne 6 à 12 heures avant, suivant leur âge. Les larves sont ensuite prélevées, essorées rapidement, comptées et pesées. Elles ont été soit congelées (larves de Sète), soit lyophilisées, et conservées à -30° C jusqu'à l'extraction.

### Méthodes.

Les résultats sont établis à partir d'un extrait obtenu par broyage des larves à 0° C dans un homogénéiseur de type Potter, à raison de 0,1 g de poids frais par ml de milieu d'extraction, selon la technique décrite par TRELLU et CECCALDI (1976). Le broyat est centrifugé à 4° C pendant 30 minutes à 35 000 g. L'électrophorèse des protéines solubles est menée sur gel à gradient de polyacrylamide (Pharmacia PAA 4/30), durant 15 heures à 125 V stabilisés.

Les gels sont ensuite trempés dans différents milieux tamponnés comprenant de façon générale un colorant diazoté (Fast Blue BB), et un substrat spécifique de l'activité enzymatique recherchée (BREWER et SING, 1970 ; SHAW et PRASAD, 1970). Les activités enzymatiques se trouvent révélées directement sur le gel, intégrées au photolorimètre enregistreur type Vernon, et ramenées au mg de protéines solubles. L'activité vis-à-vis du substrat spécifique de la trypsine (Benzoylarginine-p-nitranilide) a été testée directement sur les extraits bruts.

Le poids moléculaire des enzymes est apprécié sur l'électrophoregramme par comparaison avec une électrophorèse de sérum humain. Les protéines solubles sont dosées par la méthode de LOWRY.



## RESULTATS ET DISCUSSION.

Huit activités enzymatiques ont été testées : les activités estérasiques,  $\alpha$ -glucosidase, leucine aminopeptidase, trypsique, chymotrypsique et des phosphatases alcaline et acide. Les résultats montrent qu'il existe dès le cinquième jour 10 isozymes de poids moléculaires compris entre 130 000 et 55 000, actifs vis-à-vis de l' $\alpha$ - et  $\beta$ -naphtyl acétate (pH : 6,5), 8 compris dans le même intervalle, qui dégradent l' $\alpha$ - et  $\beta$ -naphtyl butyrate (pH : 6,5), 2 isozymes ayant une activité analogue à celle de la chymotrypsine (pH : 6,8), un seul pour les phosphatases alcaline (pH : 8,3), et acide (pH : 5,0) et la leucine aminopeptidase (pH : 6,8). L'activité des extraits vis-à-vis du naphtyl myristate n'a pu être mise en évidence. La quantité de protéines solubles du surnageant varie peu : elle augmente de 0 à 5 jours, passe par un minimum à 10 jours, pour se stabiliser ensuite. L'électrophorèse montre qu'à l'éclosion, il existe une protéine de poids moléculaire d'environ 345 000 qui disparaît progressivement et n'existe plus à 10 jours.

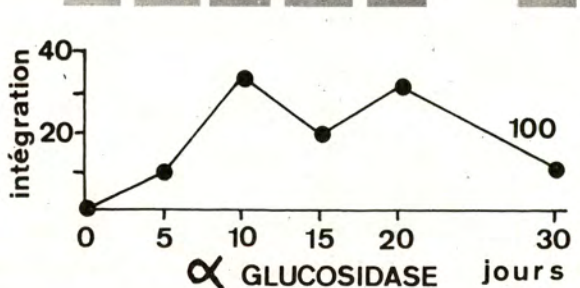
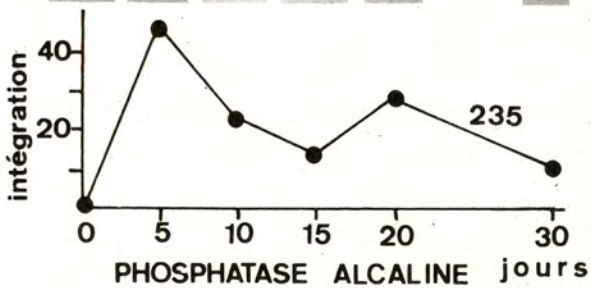
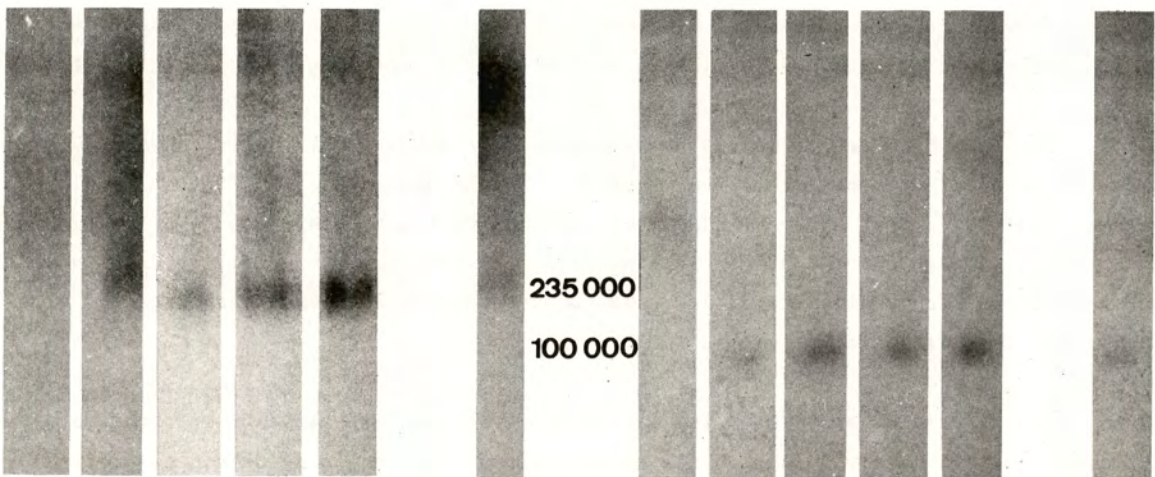
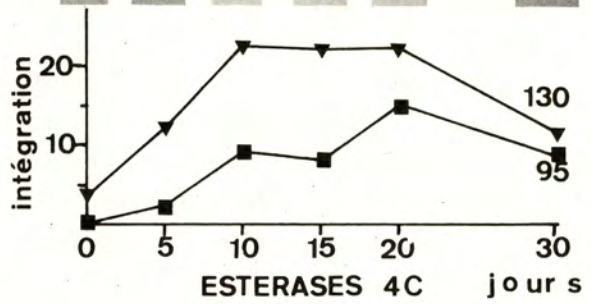
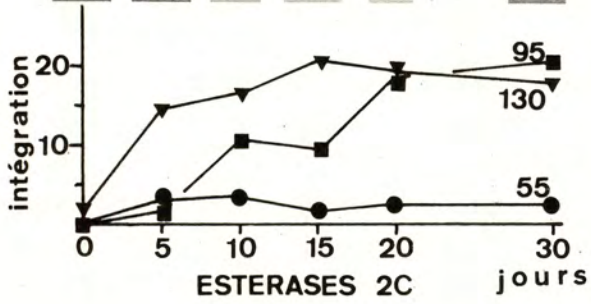
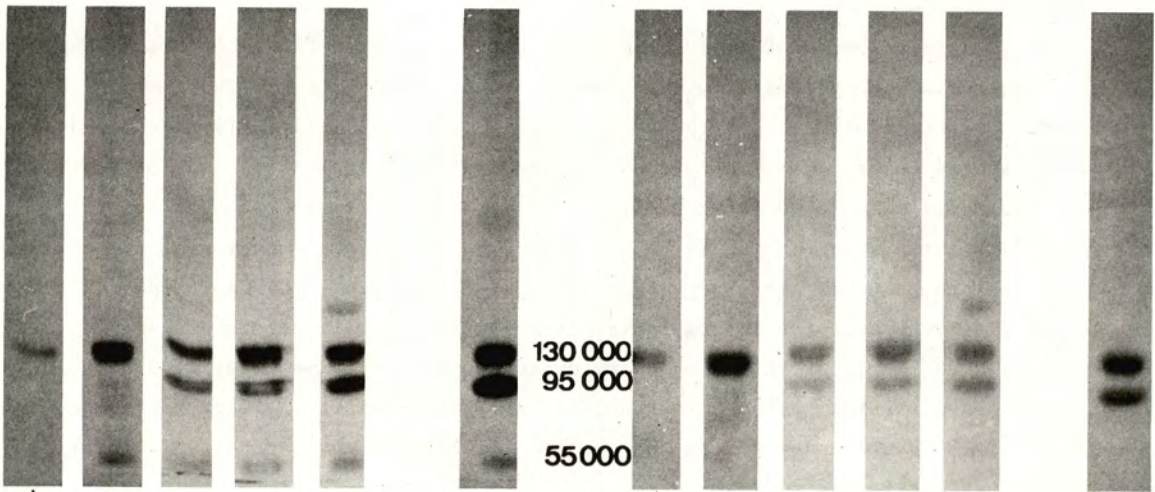
De façon générale, les activités décelées à l'éclosion sont très faibles : certaines isozymes à activité estérasique sont absentes, de même que celles ayant des activités analogues à celles de la chymotrypsine et de l' $\alpha$ -glucosidase (figures 1 et 2). On peut observer une augmentation des activités entre 0 et 5 jours vis-à-vis des substrats de la trypsine, de la phosphatase alcaline et de l' $\alpha$ -glucosidase, activités qui diminuent ensuite jusqu'au quinzième jour, où elles paraissent atteindre un palier. Par contre, les autres activités semblent augmenter régulièrement jusqu'au vingtième jour et se stabiliser ensuite. La phosphatase acide n'a pu être décelée que dans les extraits des larves prélevées à l'éclosion. La faible activité vis-à-vis du substrat de la leucine aminopeptidase n'a pas permis de mettre de variation en évidence. Il est à noter également que l'activité vis-à-vis du substrat spécifique de la chymotrypsine n'a pu être mise en évidence par dosage direct sur les extraits bruts.

Quelques différences sont à noter entre les résultats obtenus et ceux trouvés avec les plaquettes APIZYM, en particulier au niveau de la phosphatase acide, dont on décèle une activité à tous les stades par cette dernière méthode. Ceci est sans doute dû à l'extraction en milieu très alcalin (pH : 8,35) et expliquerait également que l'on n'ait pu doser que l'activité estérasique analogue à celle de la chymotrypsine. Cette étude devrait donc être complétée par des dosages d'activité à d'autres pH.

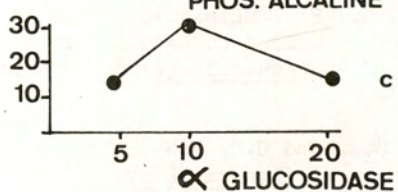
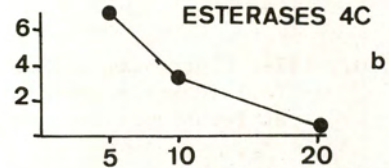
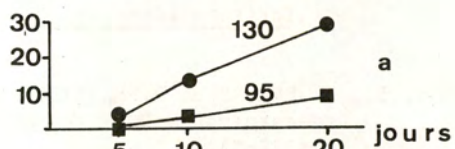
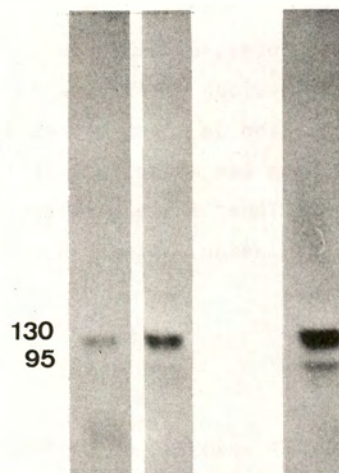
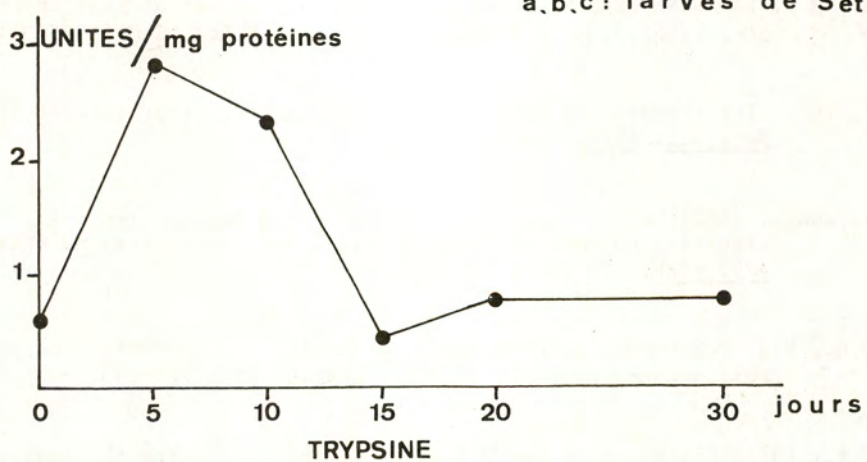
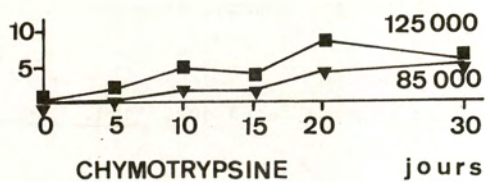
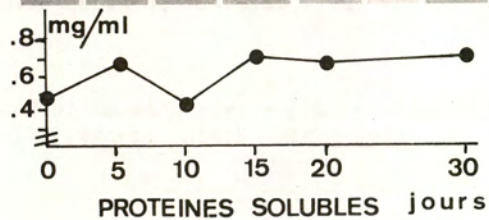
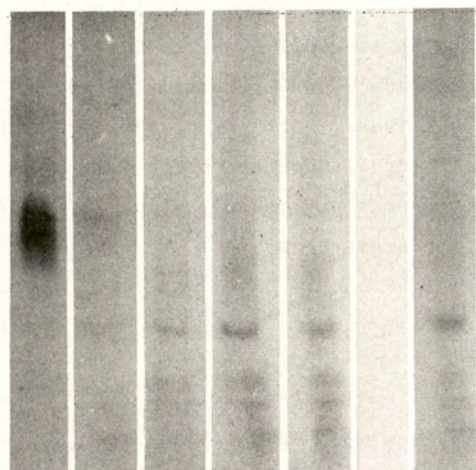
Les figures obtenues pour les larves provenant de Sète et de Brest sont analogues, avec un léger retard dans l'évolution des activités pour les larves de Sète ; ceci est sans doute lié à la température inférieure des élevages de Sète.

Il est à remarquer que les variations enregistrées se produisent principalement entre 0 et 10 jours, puis entre 15 et 30 jours, ce qui correspond aux périodes critiques I et II déterminées par BARNABE sur les élevages de larves. Ceci est sans doute à relier aux principales étapes des changements fonctionnels des organes. Divers auteurs ont tenté de relier les variations des activités enzymatiques aux changements histologiques et morphologiques observés au cours du développement (PRAKASH, 1961 ; TANAKA, 1972 ; KAWAI et IKEDA, 1972). Pour le bar, il y a peu de données sur l'histologie et l'histochimie du tractus digestif chez les larves, .../...









a,b,c: larves de Sète



d'aliments composés, si elles sont localisées dans le tube digestif, ce qui reste à vérifier. Toutefois, la période ultérieure de la vie larvaire (de 30 à 50 jours), qui voit s'effectuer la différenciation de l'estomac et des caecums pyloriques, entraîne probablement de profonds changements dans les mécanismes de la digestion. Les prélèvements séquentiels effectués devraient contribuer à une meilleure connaissance de ces phénomènes, et de là, favoriser une meilleure formulation, selon les stades, pour les aliments composés.

#### BIBLIOGRAPHIE.

- ALESSIO, G.L., P. BRONZI, G. GANDOLFI et B. SCHREIBER, 1973. Primi risultati sulla riproduzione artificiale di branzini *Morone labrax* (L.), allevati in acque salmastre. Istituto Lombardo (Rend. Sc.), B 107 : 93-106.
- ALLIOT, E., A. FEBVRE et R. METAILLER, 1974. Les protéases digestives chez un téléostéen carnivore, *Dicentrarchus labrax*. Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys., 14 (2) : 229-237.
- BARNABE, G., 1976. Contribution à la connaissance de la biologie du loup *Dicentrarchus labrax* (L.) (Poisson, Serranidae). Thèse de Doctorat d'Etat. Université des Sciences et Techniques du Languedoc. 228 pp.
- BARNABE, G., F. BOULINEAU-COATANEA et F. RENE, 1976. Chronologie de la morphogenèse chez le loup ou bar, *Dicentrarchus labrax*, obtenu par reproduction artificielle. Aquaculture, 8 : 351-363.
- BREWER, G.J. and C.F. SING, 1970. An introduction to isozyme technique. Acad. Press. Inc. (London) Ltd., 175 pp.
- GIRIN, M., M.H. BARAHONA-FERNANDES and A. LE ROUX, 1975. Larval rearing of sea bass (*Dicentrarchus labrax*), with a high survival. ICES Doc. C.M. 1975/G:14, 8 pp.
- IWAI, T., 1967. The comparative study of the digestive tract of teleost larvae. Bull. Jap. Soc. sci. Fish., 33 : 480-496.
- KAWAI, S. and S. IKEDA, 1972. Studies on digestive enzymes of fishes IV. Development of the digestive enzymes of carp and black sea bream after hatching. Bull. Jap. Soc. sci. Fish., 39 (8) : 877-881.
- LOWRY, O.H., N.J. ROSEBOUGH, A. FARK and R.J. RANDALL, 1951. Protein measurement with the Folin-phenol reagent. J. Biol. Chem., 193 : 265-275.
- PRAKASH, A., 1961. Distribution and differentiation of alkaline phosphatase in the gastrointestinal tract of steelhead trout. J. Exp. Zool., 146 (3) : 237-252.
- SHAW, C.R. and R. PRASAD, 1970. Starch gel electrophoresis of enzymes, a compilation of recipes. Biochem. Gen., 4 : 297-320.



- SINHA, G.H., 1976. Comparative morphology, anatomy and histology of the alimentary canal of indian freshwater major carp, *Labeo calbasu* (Hamilton), during the different life-history stages in relation to food and feeding habits. Anat. Am. Dtsch., 139 (4) : 348-811.
- TANAKA, M., 1972. Studies on the structure and function of the digestive system in teleost larvae. IV. Changes in the epithelium related to fat absorption in the anteromedian part of the intestine after feeding. Jap. J. Ichtyol., 19 (1) : 15 pp.
- TANAKA, M., S. KAWAI and T. YAMAMOTO, 1972. On the development of digestive system and changes in activities of digestive enzymes during larval and juvenile stages in Ayu. Bull. Jap. Soc. sci. Fish., 38 (10) : 1143-1152.
- TRELLU, J. et H.J. CECCALDI, 1976. Caractérisation de quelques activités enzymatiques digestives de *Palaemon serratus* Pennant (Crustacé Décapode) après électrophorèse sur gel en gradient de polyacrylamide. C.R. Soc. Biol., 170 (3) : 634-638.
- VU, T.T., 1976. Etude du développement du tube digestif des larves de bar, *Dicentrarchus labrax* (L.). Arch. Zool. expl. gén., 117 (4) : 498-509.



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4 : 93-109.

INFLUENCE DE DIVERS ALIMENTS COMPOSES  
SUR LA CROISSANCE ET LA SUPVIE D'ALEVINS DE BARS (*DICENTRARCHUS LABRAX*)

par

Robert METAILLER, Camille MERY, Marie-Noëlle DEPOIS et Jacqueline NEDELEC

Centre Océanologique de Bretagne, B.P. 337, 29273 Brest Cédex, France.

ABSTRACT.

*About twenty different prepared diets are given to young sea-basses weighing from 400 mg to a few grams, in 3 experiments, during which the growth and survival of the fish are regularly checked.*

*The protein requirements of the species range around 47-50 % of the diet, and the energetic requirements seem to be covered by 11 to 12 % fat.*

*The diets are mainly composed of fish meal. However fish autolysates and yeasts seem to give interesting results when incorporated into the diet.*

RESUME.

*Une vingtaine d'aliments composés sont expérimentés sur de jeunes bars de 400 mg à quelques grammes, en trois séries de tests de grossissement où la croissance et la survie sont enregistrées régulièrement.*

*Les besoins en protéines de l'espèce semblent être voisins de 47 à 50 % du régime. La couverture énergétique paraît être assurée par un apport de 11 à 12 % de lipides.*

*Les farines de poisson constituent la majeure partie de la ration. Cependant les autolysats de poisson et les levures apparaissent comme très intéressants à incorporer dans le régime.*

.../...



#### INTRODUCTION.

Les besoins nutritionnels du bar, ou loup, ont été étudiés par ALLIOT et al. (1974) sur des individus d'une dizaine de grammes capturés dans le milieu naturel. La croissance et l'indice de consommation apparaissent les meilleurs pour 50 % de protéines (farine de hareng délipidée) et 12 % de lipides (huile de foie de morue et huile de colza).

Sur ces bases, BARAHONA-FERNANDES et al. (1976) ont réalisé des expériences de conditionnement au granulé de jeunes alevins de bar nés au laboratoire. L'incorporation à l'aliment de 10 % de poudre d'*Artemia* semble améliorer les résultats. Ces auteurs constatent en outre la grande importance de la formulation, des régimes très voisins entraînant des résultats fort dissemblables, sur le taux de survie en particulier.

Le présent travail relate trois séries de tests de grossissement, réalisées au Centre Océanologique de Bretagne, sur des animaux de 400 mg à quelques grammes, habitués à consommer un aliment composé sec présenté sous forme de granulé. Différents régimes expérimentaux, se distinguant les uns des autres par un des facteurs de leur composition, ainsi qu'un aliment industriel pour bar, sont comparés au cours d'expériences de courte durée où la croissance et la survie sont enregistrées régulièrement.

#### MATERIEL ET METHODES.

Les animaux proviennent de pontes naturelles de reproducteurs captifs. Les techniques d'élevage larvaire sont décrites dans GIRIN et al. (1975) et BARAHONA-FERNANDES et GIRIN (1976).

Dans tous les cas, les animaux expérimentaux sont choisis et calibrés sommairement "à l'oeil", de façon à avoir dans chaque lot une population la plus homogène possible.

Les structures d'élevage employées sont de deux sortes.

Les plus petits animaux (expérience 1) sont maintenus dans des barquettes rectangulaires en PVC de 45 cm x 20 cm dont le fond est tout entier constitué par une toile à bluter en nylon aux mailles de 2 mm. Les barquettes sont maintenues suspendues, par 4, dans un bac EWOS de 1 m x 1 m de telle façon que la hauteur d'eau dans la barquette soit d'environ 7 cm. Leur volume utile est donc d'environ 6 litres. L'eau arrive en pluie par dessus et s'évacue par le fond.

Pour les deux autres expériences, les animaux sont élevés dans des bacs EWOS de 1 m de côté avec 18 cm de hauteur d'eau.

L'éclairage de ces structures est assuré par des tubes au néon (photopériode réglée sur celle de l'extérieur) qui complètent la lumière naturelle pénétrant dans la salle d'élevage.

L'eau de mer (salinité : 34‰) est dans tous les cas partiellement recyclée après filtration à travers un lit de gravier. Sa température est maintenue à  $19 \pm 1^\circ \text{C}$  à l'aide de résistances électriques.

.../...



Les pesées des différents lots s'effectuent dans de l'eau de mer. A cette occasion, les poissons sont comptés et les bacs d'élevage nettoyés.

Les aliments composés sont présentés sous forme de granulés à basse teneur en eau.

Les éléments constitutifs sont finement broyés (broyeurs GRAS) de façon à ce que les particules soient inférieures à 315 microns, puis homogénéisés dans un malaxeur (HOBART). Après ajout d'eau, la mise en forme s'effectue à l'aide d'une machine à granuler par voie humide (ALEXANDERWERK) munie d'un cylindre de granulation avec perforation de 1 ou 1,5 mm. Cette opération est suivie par un séchage d'une douzaine d'heures à 35° C dans une étuve ventilée.

Les granulés ainsi formés sont réduits aux dimensions souhaitées à l'aide d'un granulateur fin (ALEXANDERWERK). Un tamisage permet d'obtenir les différentes tailles utilisées au cours de ces expériences : 400-630 microns, 630-1000 microns, 800-1000 microns puis 1 à 1,25 mm.

Le prémélange vitaminique et minéral est décrit par METAILLER et GIRIN (1976). Les vitamines A et D sont apportées par de l'huile de foie de morue. L'emploi de deux qualités d'huiles diversement vitaminées permet d'obtenir les taux de vitamines indiqués quelle que soit la quantité d'huile incorporée.

La faible tenue à l'eau des granulés nous a contraint à des distributions fréquentes de nourriture. La circulation de l'eau dans le bac est arrêtée pendant les repas de façon à éviter un entraînement trop rapide des aliments vers l'évacuation.

## RESULTATS.

### Expérience n° 1 :

Elle se déroule du 5 au 23 juin avec des animaux de 80 jours pesant environ 400 mg, habitués à consommer l'aliment n° 1 - 10 A renfermant 10 % de poudre d'*Artemia* lyophilisée.

10 lots de 100 poissons sont constitués et maintenus dans les barquettes précédemment décrites.

10 aliments différents sont testés. Ils renferment tous de l'*Artemia salina* comme attractant (tableau 1).

Le passage du 1 - 10 A aux divers aliments s'effectue sans période de transition. Du fait des pertes inévitables de nourriture, la ration journalière a été fixée à 20 % du poids du lot. Elle est distribuée, à la main, en une dizaine de repas échelonnés tout au long de la journée.

La granulométrie de l'aliment est comprise entre 400 et 630 microns.

.../...



ALIMENTS N°		1 - 10 A		2 - 10 A		3 - 10 A		4 - 10 A		5 - 10 A		6 - 10 A		9 - 10 A		10 - 10 A		11 - 10 A		12 - 10 A		
		P	L	P	L	P	L	P	L	P	L	P	L	P	L	P	L	P	L	P	L	
Composition en %/sec	Farine de hareng de Norvège Norseamink	18,2	1,5	24,2	2,0	18,2	1,5	18,2	1,5	18,2	1,5	18,2	1,5	18,2	1,5	18,2	1,5	18,2	1,5	6,1	0,5	
	Farine de poisson (Pérou)																			21,3	2,5	
	Farine de poisson (Angola)																			20,2	1,1	
	Farine de morue	22,7	0,4	22,7	0,4	15,2	0,3	22,7	0,4	22,7	0,4	18,2	0,3	22,7	0,4	22,7	0,4	15,2	0,3			
	Concentré de protéines solubles de poisson (CPSP 80)	17,4	1,6	17,4	1,6	11,6	1,0	17,4	1,6	17,4	1,6	15,1	1,4	17,4	1,6	17,4	1,6	11,6	1,0			
	Concentré de protéines solubles de poisson (CPSP Spécial G)																				13,7	2,9
	Autolysat de poisson	9,8	0,4			9,8	0,4	9,8	0,4	9,8	0,4	9,8	0,4	9,8	0,4	9,8	0,4	9,8	0,4			
	Farine de sang																					
	Farine de soja Soyassim					9,3	0,5															
	Farine de maïs					7,2	0,4															
	Levure lactique et levure de bière																				10,2	0,5
	Huiles de foie de morue	4,0		4,0		4,0		4,0		5,0		4,0		4,0		1,0		4,0			2,5	
	Huile de colza	4,1		4,0		3,9		4,1		4,1		4,4				1,5		1,4			0,9	
	Huile de soja									3,0				4,1		1,6		1,4			1,0	
	Cellulose			3,9												4,0		12,0				
	Amidon de maïs pré-gélatinisé	8,0		8,0		6,0		1,8		4,0		8,0		8,0		8,0		8,0		8,0	8,0	
	Malto dextrine	13,8		13,8		12,8		15,0		13,8		14,6		13,8		13,8		13,8		16,4	14,1	
	Dextrose							5,0														
	Prémélange vitaminique et minéral	2,0		2,0		2,0		2,0		2,0		2,0		2,0		2,0		2,0		2,0	2,0	
	Attractant (poudre d' <i>Artemia salina</i> lyophilisée) %		10		10		10		10		10		10		10		10		10		10	
Analyse chimique	% Humidité	6,5		6,6		6,5		7,2		6,4		7,1		6,8		7,3		7,1		6,5		
	% Protéines/sec	51,8		51,3		51,7		53,0		51,9		51,2		51,6		52,0		40,9		53,0		
	% Lipides/sec	13,0		12,9		12,7		13,1		15,9		12,5		12,9		8,8		11,1		12,2		
	% Sels/sec	10,1		9,6		9,2		10,2		10,0		9,5		10,0		10,2		9,2		10,0		

TABLEAU 1 : Composition et analyse chimique des différents aliments employés dans la première expérience.

Les chiffres en italique indiquent l'apport en protéines (P) et en lipides (L) de chaque constituant (en % théorique de l'aliment sec).



Chaque lot est pesé globalement en début d'expérience puis tous les 6 jours. Les mortalités sont enregistrées journalièrement et cumulées pour la même période.

Les résultats sont consignés dans le tableau 2 et les figures 1 et 2.

La croissance et le taux de survie suivent une évolution voisine.

Les lots pour lesquels une mortalité importante est notée ne sont pas repris dans le tableau 2 ni dans la figure 1, les poids moyens observés n'ayant plus aucune signification.

Lots correspondants aux aliments n°	Poids moyen initial (mg)	Poids moyen final (mg)	Mortalité %	% $\Delta P/j$
1 - 10 A	381	896	6	4,87
2 - 10 A	385	858	5	4,55
3 - 10 A	415	878	7	4,25
4 - 10 A	425	893	18	4,21
9 - 10 A	391	846	19	4,38
12 - 10 A	411	985	2	4,98

%  $\Delta P/j$  = Pourcentage d'accroissement par jour

$$= \left[ \left( \frac{\text{Poids moyen final}}{\text{Poids moyen initial}} \right)^{\frac{1}{\text{jour}}} - 1 \right] \times 100$$

TABLEAU 2 : Croissances et mortalités enregistrées dans les différents lots au cours de la première expérience.

.../...



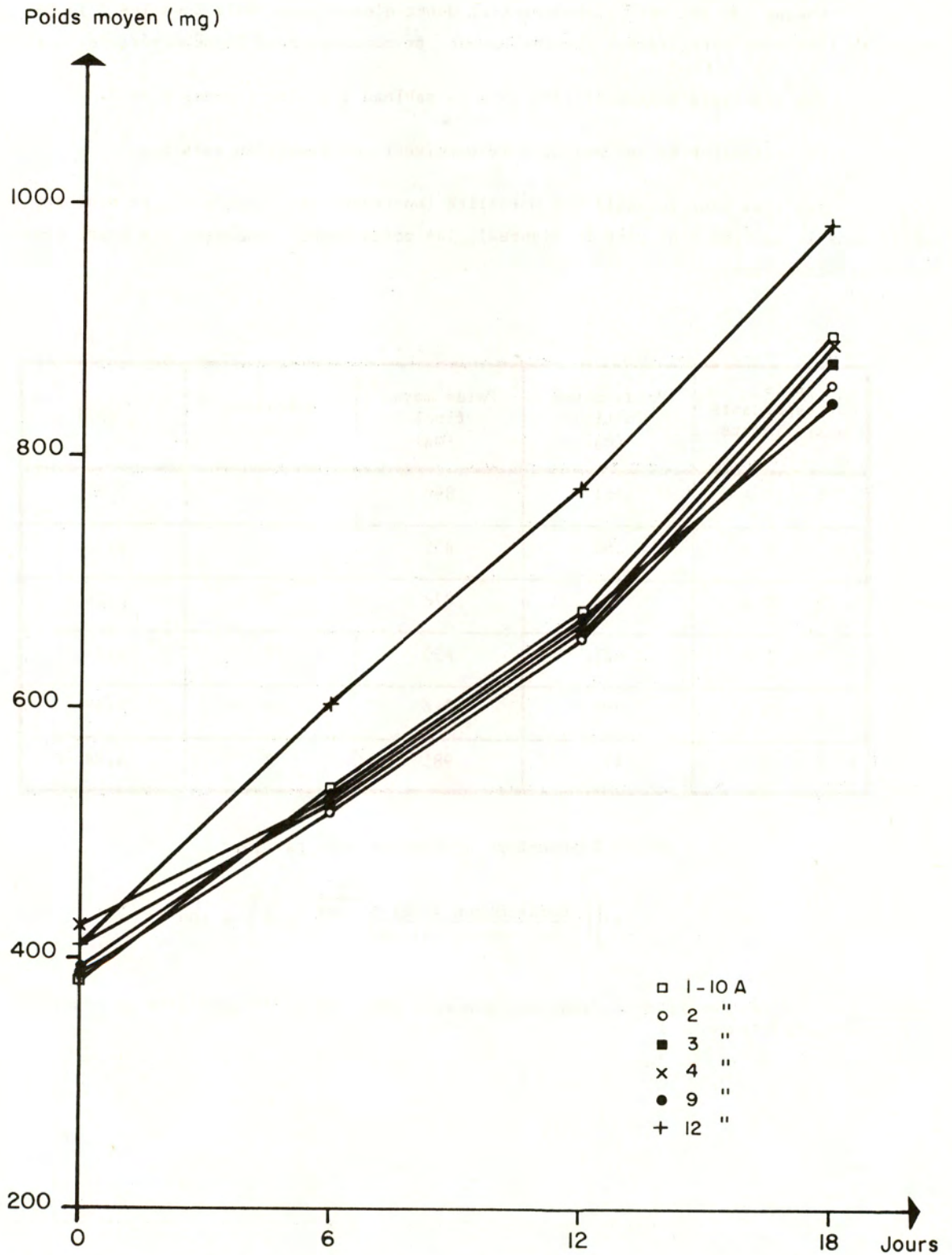


FIGURE 1 : Evolution du poids moyen des différents lots au cours de la première expérience.

.../...



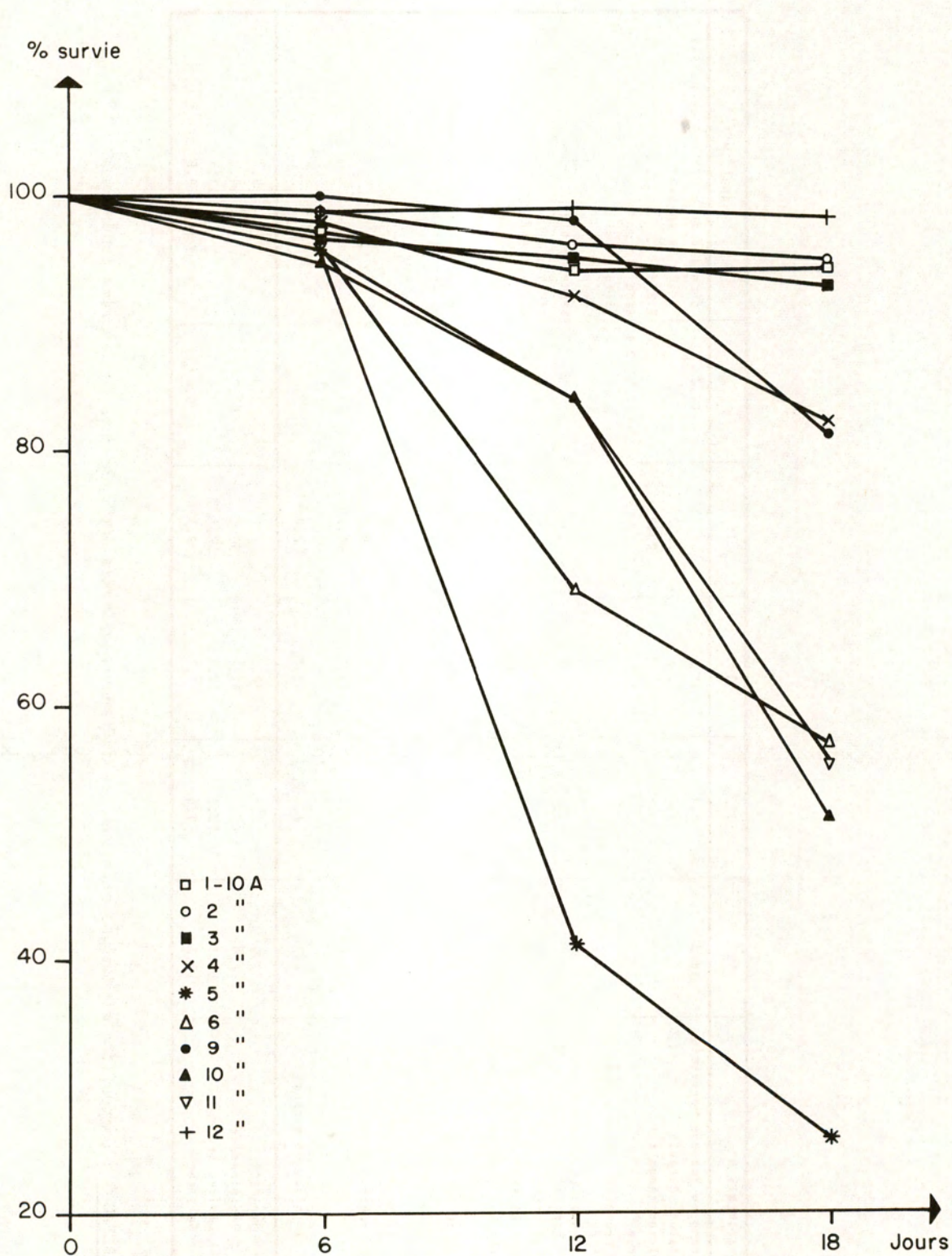


FIGURE 2 : Pourcentages de survie enregistrés dans les différents lots au cours de la première expérience.

.../...



ALIMENTS N°		1			12			14			15			16			"AQUALIM"
		P	L		P	L		P	L		P	L		P	L		
Composition en %/sec	Farine de hareng de Norvège Norseamink	15	18,2	1,5	5	6,1	0,5	12,5	15,2	1,3	5	6,1	0,5	15	18,2	1,5	Concentré de protéines de poisson
	Farine de poisson (Pérou)				15	21,3	2,5				15	21,3	2,5				Farine de poisson
	Farine de poisson (Angola)				15	20,2	1,1				15	20,2	1,1				Viande
	Farine de morue	15	22,7	0,4				7,5	11,3	0,2				15	22,7	0,4	Sang
	Concentré de protéines solubles de poisson (CPSP 80)	15	17,4	1,6				10	11,6	1,0				15	17,4	1,6	Lactosérum
	Concentré de protéines solubles de poisson (CPSP Spécial G)				10	13,7	2,9				10	13,7	2,9				Levure
	Autolysat de poisson	5	9,8	0,4				5	9,8	0,4				5	9,8	0,4	Germe de blé
	Levure lactique et levure de bière				5	10,2	0,8	1,5	3,1	0,2							Grüau
	Levure cultivée sur alcanes Toprina L							12	16,5	0,2	5	6,9	0,1				Huile végétale
	Méthionine							0,5	0,5		0,2	0,2					Composé minéral
	Huiles de foie de morue		4,0			2,5			4,0			2,7			2,4		Composé vitaminique antioxydé
	Huile de colza		4,1			0,9			2,0			1,0			0,7		(d'après les renseignements du fabricant)
	Huile de soja					1,0			2,7			1,2			2,0		
	Cellulose											2,6			1,5		
	Amidon de maïs pré-gélatinisé		8,0			8,0			8,0			8,0			8,0		
	Malto dextrine		13,8			14,1			13,3			14,1			13,8		
	Dextrose														1,5		
Prémélange vitaminique et minéral		2,0			2,0			2,0			2,0			2,0			
Analyse chimique	% Humidité		7,0		6,6			7,7			7,1			7,3			8,7
	% Protéines/sec		52,9		52,1			51,1			50,5			52,2			57,8
	% Lipides/sec		13,3		12,8			12,3			12,7			10,1			13,1
	% Sels/sec		10,3		9,5			7,7			9,3			9,6			9,9

TABLEAU 3 : Composition et analyse chimique des différents aliments employés dans la deuxième expérience.



Expérience n° 2 :

Elle se déroule du 24 juin au 12 août, soit pendant 7 semaines. Les poissons sont au départ âgés de 95 jours. Ils pèsent environ 1 g et sont habitués à consommer l'aliment 1 sans incorporation d'attractant.

6 lots de 430 poissons sont constitués et maintenus dans les bacs de 180 litres. 6 aliments sont proposés dont les n° 1 et 10 rencontrés précédemment (mais sans incorporation d'*Artemia*) et un aliment industriel pour bars "Aqualim" des Grandes Semouleries de l'Ouest (tableau 3), leur granulométrie est comprise entre 630 et 1000 microns. La ration journalière est fixée à 10 % du poids du lot, la distribution se fait à la main en 6 repas. Le passage de l'aliment n° 1 aux différents aliments s'effectue brutalement, sans période de transition.

Chaque lot est pesé globalement en début d'expérience puis tous les 7 jours. Comme précédemment, les mortalités sont enregistrées journalièrement et cumulées par semaine.

Les résultats sont consignés dans le tableau 4 et les figures 3 et 4.

Lots correspondants aux aliments n°	Poids moyen initial (g)	Poids moyen final (g)	Mortalité %	% $\Delta P/j$
1	1,05	3,94	4,9	2,74
12	1,05	4,06	6,1	2,80
14	1,02	3,86	8,0	2,75
15	1,05	3,75	14,1	2,63
16	1,03	3,53	19,2	2,55
"Aqualim"	1,07	3,61	13,2	2,51

TABEAU 4 : Croissances et mortalités enregistrées dans les différents lots au cours de la deuxième expérience.



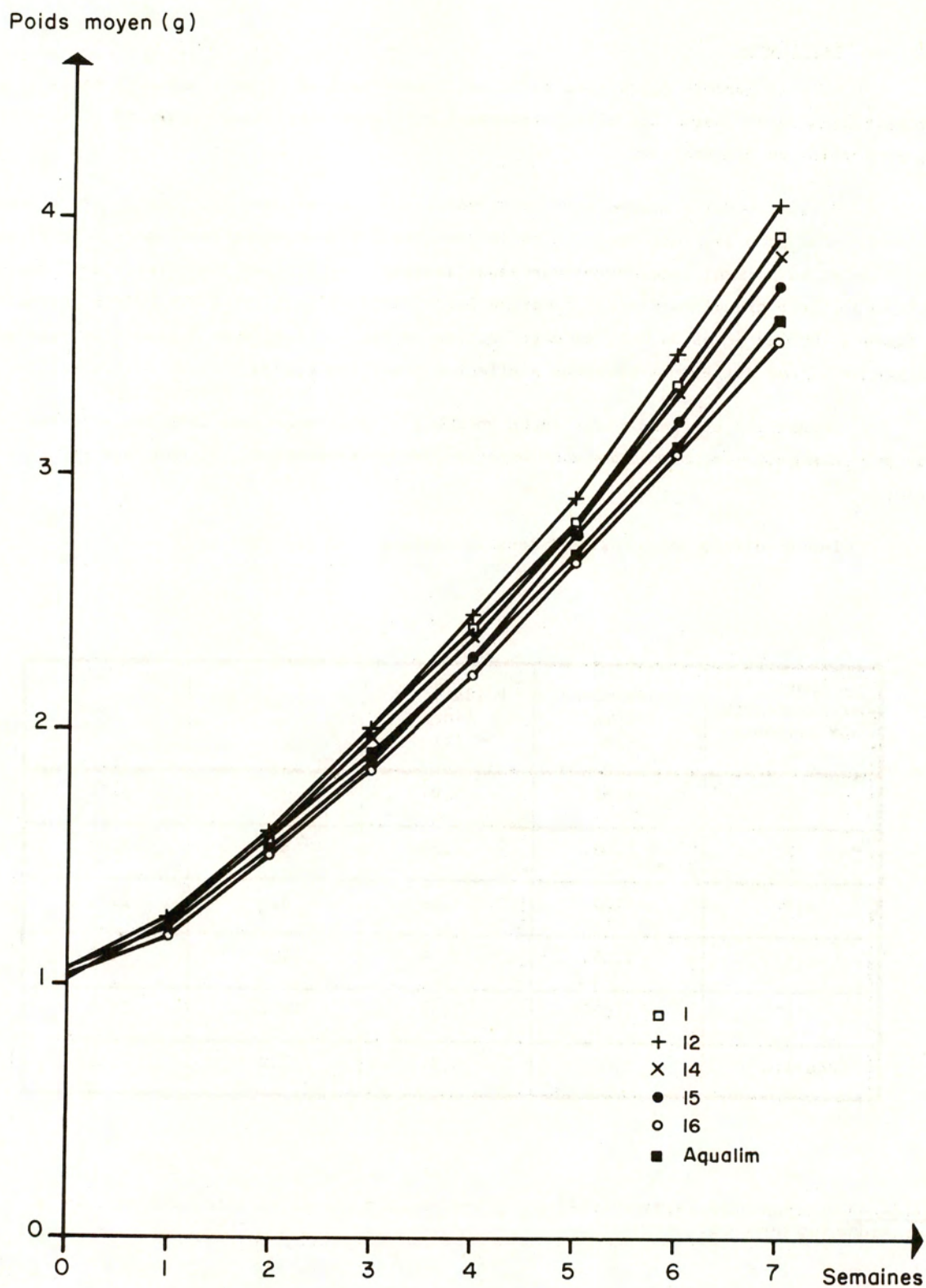


FIGURE 3 : Evolution du poids moyen des différents lots au cours de la deuxième expérience.



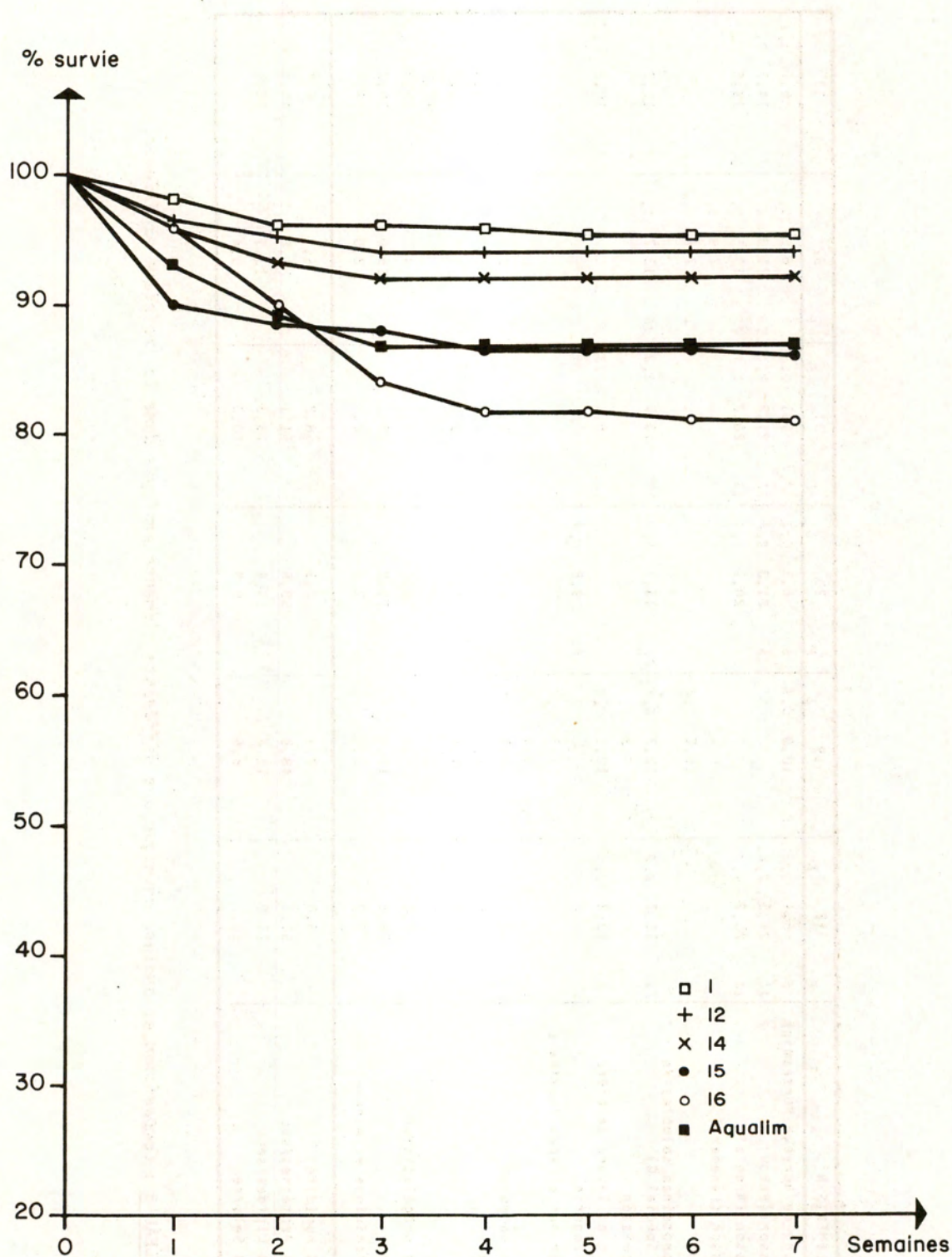


FIGURE 4 : Pourcentages de survie enregistrés dans les différents lots au cours de la deuxième expérience.

.../...



ALIMENTS N°		12			19			20			31			32			33		
		P	L	L	P	L	L	P	L	L	P	L	L	P	L	L	P	L	L
Composition en %/sec	Farine de hareng de Norvège Norseamink	5	6,1	0,5	9	10,9	0,9	5	6,1	0,5	7,5	9,1	0,8	5	6,1	0,5	5	6,1	0,5
	Farine de poisson (Pérou)	15	21,3	2,5				15	21,3	2,5	15	21,3	2,5	15	21,3	2,5	10	14,2	1,7
	Farine de poisson (Angola)	15	20,2	1,1				15	20,2	1,1	15	20,2	1,1	10	13,5	0,7	10	13,5	0,7
	Farine de poisson (Danemark)													5	7,3	0,8			
	Farine de morue				10	15,2	0,3							5	7,6	0,1			
	Concentré de protéines solubles de poisson (CPSP Spécial G)	10	13,7	2,9	9	12,3	2,6	10	13,7	2,9	10	13,7	2,9	10	13,7	2,9	10	13,7	2,9
	Autolysat de poisson				5	9,8	0,4												
	Levure lactique et levure de bière	5	10,2	0,6	5	10,2	0,6				2,5	5,1	0,3				5	10,2	0,6
	Levure de boulangerie							5	9,8	0,4									
	Levure cultivée sur alcanes. Toprina L				8,5	11,7	0,1												
	Méthionine				0,5	0,5													
	Huiles de foie de morue		2,5			2,5			2,5			2,5			2,5				2,3
	Huile de colza		0,9			1,8			1,0			0,9			1,0				0,6
	Huile de soja		1,0			1,8			1,1			1,0			1,0				0,7
	Cellulose																		10,0
	Amidon de maïs prégélatinisé		8,0			7,7			8,1			9,1			9,0				10,0
	Malto dextrine		14,1			13,6			14,2			15,1			15,0				16,7
Prémélange vitaminique et minéral		2,0			2,0			2,0			2,0			2,0				2,0	
Analyse chimique	% Humidité		6,0		7,3			7,1			8,2			6,1				6,7	
	% Protéines/sec		51,7		48,5			50,8			51,1			51,8				40,9	
	% Lipides/sec		13,0		11,8			13,4			13,3			13,1				10,5	
	% Sels/sec		10,1		8,5			9,9			10,0			10,4				7,5	

TABLEAU 5 : Composition et analyse chimique des différents aliments employés dans la troisième expérience.



Expérience n° 3 :

6 lots de 312 poissons pesant environ 5 g sont constitués à partir des animaux issus de la 2ème expérience, réunis à la fin de celle-ci et nourris depuis cette date avec l'aliment n° 12.

6 aliments sont testés pendant 6 semaines du 28 août au 9 octobre (tableau 5).

Des expériences parallèles nous ayant enseigné qu'il était préférable de ne pas changer brusquement de régime alimentaire, nous avons effectué un passage progressif étalé sur une semaine de l'aliment n° 12 aux différents aliments proposés.

En début d'expérience la taille des granulés offerts est comprise entre 0,8 et 1 mm puis entre 1 et 1,25 mm.

La ration journalière est fixée à 6 % du poids du lot. Elle est distribuée manuellement en quatre repas.

Les poissons sont comptés et pesés chaque semaine.

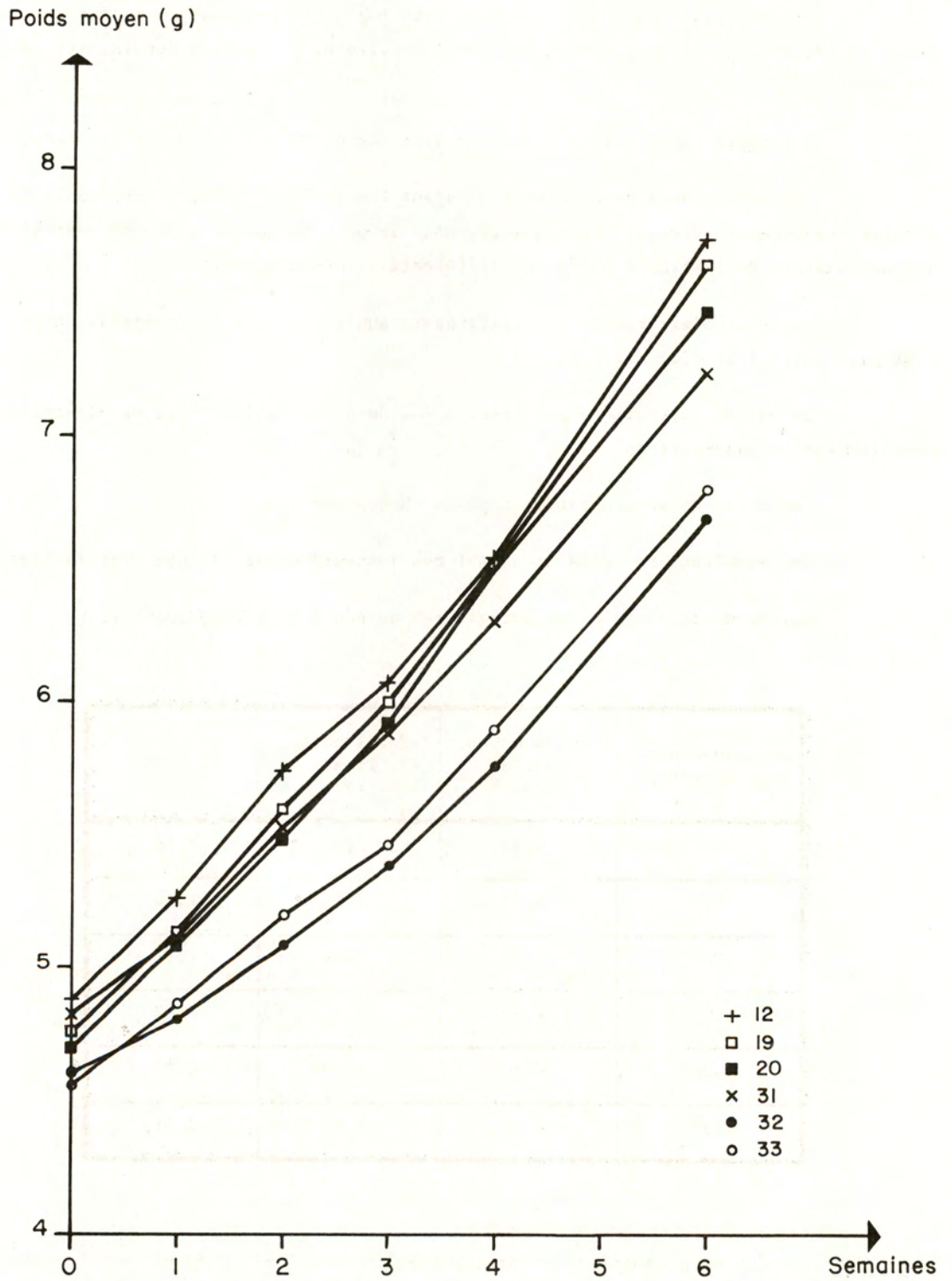
Les résultats de croissance sont mentionnés dans le tableau 6 et la figure 5.

Aucune mortalité n'a été enregistrée au cours de l'expérimentation.

Lots correspondants aux aliments n°	Poids moyen initial (g)	Poids moyen final (g)	% $\Delta P/j$
12	4,88	7,74	1,10
19	4,75	7,64	1,14
20	4,70	7,46	1,11
31	4,83	7,23	0,97
32	4,60	6,69	0,90
33	4,56	6,80	0,96

TABLEAU 6 : Croissances enregistrées dans les différents lots au cours de la troisième expérience.





**FIGURE 5** : Evolution du poids moyen des différents lots au cours de la troisième expérience.

.../...



DISCUSSION.

Il convient tout d'abord de mentionner le parallélisme qui apparaît nettement, tant que les mortalités ne sont pas trop importantes, entre l'accroissement de poids et le pourcentage de survie pour les alevins de poids moyen inférieur à 2 g. Cela peut paraître logique, car ces facteurs sont tous deux le reflet de l'état de santé des animaux, mais mérite d'être souligné.

D'autre part, nous remarquons que les régimes ayant tendance à donner les meilleurs résultats comportent tous de 47 à 50 % de protéines et de 11 à 12 % de lipides. Hors de ces limites, la croissance et la survie présentent des valeurs plus médiocres ; c'est ce que l'on observe pour les régimes 5 - 10 A, 10 - 10 A, 11 - 10 A, 16, Aqualim et même 33 dans une certaine mesure. Des constatations analogues ont été faites, sur ces trois derniers aliments, soit chez le bar (BARAHONA-FERNANDES et al., 1977), soit chez la sole (METAILLER et GIRIN, 1976). Ces observations corroborent donc celles faites sur des bars un peu plus âgés par ALLIOT et al. (1974).

Indépendamment des autres différences de formulation, il convient de noter l'effet bénéfique, quelle qu'en soit la cause, des levures (levure lactique et levure de bière, levure de boulangerie ou levure cultivée sur alcanes) dans les régimes étudiés : cela apparaît nettement pour les aliments 12 - 10 A, 12 et 14 dans les deux premières expériences. Cependant la troisième expérience est à ce point de vue plus significative car sur des régimes très comparables, la croissance est proportionnelle à l'incorporation de levures dans l'aliment. Si nous rangeons les différents régimes par ordre d'efficacité décroissante, nous obtenons le classement suivant :

19 > 12 et 20 > 31 > 32

Or ces régimes contiennent respectivement 29, 10, 5 et 0 % de leur protéine sous forme de levure.

Remarquons que les régimes comportant des levures cultivées sur alcanes, du fait de la déficience de celles-ci en méthionine, ont tous été supplémentés en cet acide aminé.

Les bonnes performances liées à l'aliment 19 ont d'ailleurs déjà été signalées chez la sole par METAILLER et GIRIN (1976). Le but de ce travail n'est pas de chercher à déterminer les facteurs chimiques, présents dans les levures, susceptibles de provoquer une amélioration des qualités nutritives des aliments, mais de constater simplement un certain nombre de faits.

Un autre groupe de substances nutritives semble présenter un effet positif dans l'alimentation du bar : il s'agit des autolysats de poissons. La comparaison des aliments 1 - 10 A et 2 - 10 A permet d'abonder en ce sens. D'autre part, l'aliment 19 qui renferme à la fois des levures et des autolysats entraîne, nous l'avons déjà signalé, une croissance particulièrement intéressante.

.../...



Par contre l'incorporation de farines végétales dans le régime tend à abaisser l'efficacité des aliments. Les 20 % de protéines sous forme de soja et de maïs de l'aliment 3 - 10 A entraînent une diminution sensible de la croissance des animaux expérimentaux.

De même l'utilisation de farine de sang même en petite quantité (10 % des protéines dans l'aliment 6 - 10 A) semble entraîner une mortalité très importante au sein du lot. Il faut noter que dans ce cas, dès les premières distributions d'aliment, les animaux ont présenté des signes d'excitation tout à fait particuliers essentiellement lors des repas. Si la farine de sang possède un effet attractif certain sur les alevins, l'activité fébrile qu'elle provoque chez ceux-ci semble au bout du compte préjudiciable pour leur santé.

Pour la plupart des aliments envisagés ici, l'apport glucidique est composé d'amidon et de dextrine en quantité plus ou moins constante. Nous avons fourni des hydrates de carbone plus assimilables dans le régime 4 - 10 A (peu d'amidon, plus de dextrine et incorporation de dextrose). Les performances de cet aliment n'en sont pas améliorées, bien au contraire. La présence d'une plus grande quantité de sucres assimilables dans ce régime serait-elle la cause de la mortalité et de la faible croissance enregistrée ? Nous ne pouvons évidemment pas conclure sur ce seul exemple d'autant plus que LUQUET (1976) a parfaitement exposé les problèmes soulevés du point de vue métabolique par l'utilisation des glucides dans l'alimentation des poissons marins.

#### CONCLUSION.

Le jeune bar a certainement des besoins en protéine assez élevés, voisins de 50 % du régime. Quant aux lipides, des taux de 11 à 12 % semblent assurer un apport énergétique convenable. Outre les farines de poissons qui assurent la majeure partie de la couverture des besoins protéiques, les levures et les autolysats de poissons sont des substances intéressantes à incorporer dans les aliments destinés à ces animaux. A l'opposé, les farines végétales (soja, maïs) et la farine de sang paraissent plus difficiles d'emploi dans l'état actuel des recherches, de même que les glucides aisément assimilables.

De toutes façons, de nombreuses expérimentations seront encore nécessaires pour obtenir une bonne connaissance des besoins nutritionnels de ces poissons. Il sera alors possible de mettre au point des aliments répondants tout à fait aux exigences de l'espèce, mais d'ores et déjà des régimes tels que les n° 1, 12 et 19 peuvent être considérés comme convenables. C'est d'ailleurs sur ces bases que sont composés actuellement au C.O.B. les différents régimes destinés à ces animaux.



BIBLIOGRAPHIE.

ALLIOT, E., A. FEBVRE, R. METAILLER et A. PASTOUREAUD, 1974. Besoins nutritifs du Bar (*Dicentrarchus labrax* L.). Etude du taux de protéine et du taux de lipide dans le régime. Colloque sur l'Aquaculture, Actes de colloques, 1, CNEXO Ed. : 215-231.

BARAHONA-FERNANDES, M.H. et M. GIRIN, 1976. Preliminary tests on the best pellet-adaptation age for sea-bass larvae (Pisces, *Dicentrarchus labrax* L. 1758). Aquaculture, 8 : 283-290.

BARAHONA-FERNANDES, M.H., M. GIRIN et R. METAILLER, 1977. Expériences de conditionnement d'alevins de bar (Pisces, *Dicentrarchus labrax*) à divers aliments composés. Aquaculture, 10 : 53-63.

GIRIN, M., M.H. BARAHONA-FERNANDES and A. LE ROUX, 1975. Larval rearing of Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* (L.)) with a high survival. ICES, doc. C.M. 1975/G:14, 8 pp.

LUQUET, P., 1976. Alimentation protéique et alimentation énergétique des poissons de mer. Oceanis, 2, 5 : 131-139.

METAILLER, R. et M. GIRIN, 1976. Croissance de jeunes soles (*Solea solea*) nées en laboratoire et conditionnées à l'aliment composé. 2ème Réunion du Groupe de Travail de Mariculture du CIEM, Hambourg, RFA, 4-6 mai 1976. Ronéo : 20 pp.



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4 : 111-117.

## RED SEA BREAM CULTURE IN JAPAN,

by

Jiro KITAKA

School of Fisheries Sciences, Kitasato University, Sanriku-cho, Iwate-ken, Japan.

### ABSTRACT.

The red sea bream becomes sexually mature when 3 years old. The spawning season extends from April to June. About 100-300 matured males and females are introduced in a large tank of 100-1,000 m<sup>3</sup> capacity. The floating eggs are gathered and transferred into a net cage. The optimum incubation temperature ranges from 15.0 to 17.5°C, and the optimum specific gravity is higher than 1.023. The newly hatched larvae are introduced into floating tanks hanged in a large concrete tank and cultured for about 10 days. The prelarvae are released into large concrete tanks and cultured for about 20 days. Oyster eggs, rotifers (*Brachionus plicatilis*), copepods collected by net, and nauplius of *Artemia salina* are used for feeding individuals in prelarval stage. The survival rates of prelarvae are improved in tanks with abundant propagation of uni-cellular green algae. Postlarvae are transferred into net cages installed at sea and reared to fry stage for about 10-40 days. Survival rate of fry from hatching to 20 mm total length is about 3 %.

### RESUME.

La daurade royale atteint la maturité sexuelle à l'âge de 3 ans. Sa saison de ponte s'étend d'avril à juin. 100 à 300 mâles et femelles à maturité sexuelle sont placés dans un grand bassin de 100 à 1 000 m<sup>3</sup>. Les oeufs, qui sont pélagiques, sont collectés et transférés dans des cages en filet. La température d'incubation optimale est de 15,0 à 17,5° C, avec une densité supérieure à 1,023. Les larves venant d'éclore sont placées dans des bacs flottants suspendus dans un grand bassin en ciment, et élevées ainsi pendant environ 10 jours. Les animaux sont ensuite libérés dans les grands bassins de ciment pour une vingtaine de jours. Ils sont nourris de larves d'huitres, de rotifères (*Brachionus plicatilis*), de copépodes pêchés au filet, et de nauplius d'*Artemia salina*. Les taux de survie pendant l'élevage larvaire sont améliorés par des ensemencements importants en algues vertes unicellulaires. Les post-larves sont transférées dans des cages en filet, installées en mer, et élevées jusqu'au stade juvénile en 10 à 40 jours. Le taux de survie, de l'éclosion au juvénile de l'ordre de 20 mm, avoisine 3 %.

.../...



## INTRODUCTION.

The red sea bream, *Chrysophrys major*, is the most valuable marine fish in Japan. A first trial to culture it has been made at a hatchery located at Seto Inland Sea coast in 1902 (KAJIYAMA, 1937). The hatchery was soon closed because of difficulty in rearing the larvae. Since 1960, the culture of the young yellow-tail, *Seriola quinqueradiata* has become popular in Seto Inland Sea area. The culture of the red sea bream did not progress until 1970.

Basic research on larval production has been carried out at the universities since 1955. KASAHARA, HIRANO and OSHIMA succeeded in rearing the larval stage of black sea bream, *Mylio macrocephalus*, in 1959 (KASAHARA *et al.*, 1960). SHIKAMA, YAMASHITA and NISHIZUKA succeeded in rearing 22 red sea bream fry from the eggs for the first time in Japan in 1962 (YAMASHITA, 1967). These successes were achieved on an experimental scale, and therefore, further experimentation was necessary before developing mass production methods.

In 1964, KITAKA showed effectiveness in larval production with large scale outdoor concrete tanks. He developed a method for mixed cultures of larvae and suitable food organisms in 200 m<sup>3</sup> tanks (HUDINAGA and KITAKA, 1967). In 1967, NOGUCHI observed natural spawning of cultured red sea breams in a large tank at Naruto Aquarium, Tokushima, Japan<sup>+</sup> (NOGUCHI, 1968).

Based on these successes, research has been carried out in order to find a mass rearing method for red sea bream larvae at the hatcheries belonging to Seto Inland Sea Fish Farming Association (ANONYMOUS, 1974).

## SPAWNING AND HATCHING.

### Maturation.

The red sea breams used for spawning are kept in net cages or concrete tanks (dimensions : 10-20 m x 10 m x 5 m), for about a year or two depending on their initial ages. The red sea bream becomes sexually mature when 3 years old. Its feeding activity is dependant on temperature. Breeders are cultured in the southern part of Japan during winter. The spawning season extends from April to June, with a peak in early May.

### Spawning.

Natural spawning method is more practical method than the stripping method for obtaining fertilized eggs. Spawning begins at water temperatures of 12-13° C. A large concrete tank (water volume : about 100-1,000 m<sup>3</sup>, depth : about 2-5 m) is used for spawning. About 100-300 matured red sea bream are introduced in the tank. Male and female breeders are in equal number.

.../...

---

<sup>+</sup> The late B. IMAZU was the first one to observe natural spawning of red sea bream at Hiyoriyama Aquarium.



Spawning starts just before sunset and lasts until midnight. The egg is spherical and 1.0-1.1 mm in diameter. The normal eggs float at the surface, but the dead ones sink to the bottom. Average numbers of eggs spawned per female were recorded at 4,800,000 for 6-13 years old fishes and 270,000 for 3-4 years old fishes.

#### Fertilization.

The rate of fertilization is hereon defined as the ratio of the floating eggs to the total eggs. Average rate of fertilized eggs was 80 % for the younger breeders and 34 % for the older ones. Although the rate of the fertilization is very poor for the older breeders, production of fry depends mainly on the older group because the number of eggs spawned per female in this group is much larger than in the younger one.

The floating eggs are gathered into a net (mesh : 0.16 cm) by draining. They are transferred into a net cage (dimensions : diameter 0.7 m x depth 0.5 m). The net cages are hanged in a concrete tank (dimensions : 2 m x 1 m x 1 m). Number of eggs per net cage is about 120,000 - 360,000 (100-300 ml of floating eggs). Fresh sea water runs around the net cage at a rate sufficient for replacing 0.2 to 2.0 times the total water volume per hour.

#### Hatching.

Hatching begins about 58 hours after fertilization at 15.5°C. Average hatching rate of the floating eggs is 85 % for the younger group and 55 % for the older one.

The factors affecting the hatching rate are as follows :

##### Water temperature :

The fertilized eggs cease to develop at morula stage at 10° C. The hatching rate becomes poorer and mortality increases at 25° C. The optimum incubation temperature ranges from 15.0 to 17.5° C.

##### Specific gravity :

The fertilized eggs float at the water surface when its specific gravity is higher than 1.023. They sink under the middle layer when the specific gravity is lower than 1.023. The hatching rate is 80-98 % for the former case and 20-50 % for the latter. In the latter case, the larvae become abnormal and die.

##### Turbidity due to mud :

The effect on the hatching rates of 50 ppm silt in the water is not detectable. However a decrease in hatching rates is noticeable at 100 ppm.

##### Mechanical shocks :

It is important to avoid mechanical shocks such as disturbance and vibration, as much as possible, when gathering and transferring the eggs. Aeration is also unsuitable, unless supply is slight.



REARING THE LARVAE.

Prelarval stage.

The newly hatched larvae are introduced into floating tanks (dimensions : about 2-4 m x 2-4 m x 1.5-2 m) made of synthetic fibre cloth. The floating tanks are hanged in a large concrete tank (water volume : 50-200 m<sup>3</sup>).

The survival rates of prelarvae are improved in tanks with abundant propagation of uni-cellular green algae. In order to promote the propagation of uni-cellular green algae, small amounts of inorganic and organic nutrients are added into the floating tank. The optimum density of uni-cellular green algae is about 300,000 cells/ml. Slight aeration is provided by about 8 vinyl hoses (diameter : 5 mm) per floating tank.

The prelarvae are released into large concrete tanks after they have been reared for about 10 days in the floating tanks. Fertilization is also necessary in most cases. However, in case of remarkably dense propagation of uni-cellular green algae, the illumination is reduced by covering the top of the tanks and water is exchanged for fresh sea water. Aeration is provided by about 30 vinyl hoses per concrete tank. The daily rate of water renewal is set to 1/4 of the total volume several days before transferring the larvae to another rearing net cage. Waste accumulated on the bottom is removed by siphoning.

The newly hatched larvae live for the initial 3 days on their yolk sac. The actual feeding begins on the 4th day after hatching, when the yolk sac is resorbed and the digestive organ is formed. Oyster eggs, rotifers (*Brachionus plicatilis*), copepods collected by net, and nauplius of *Artemia salina* are used for feeding individuals in prelarval stage. The feeding scheme used is shown in figure 1.

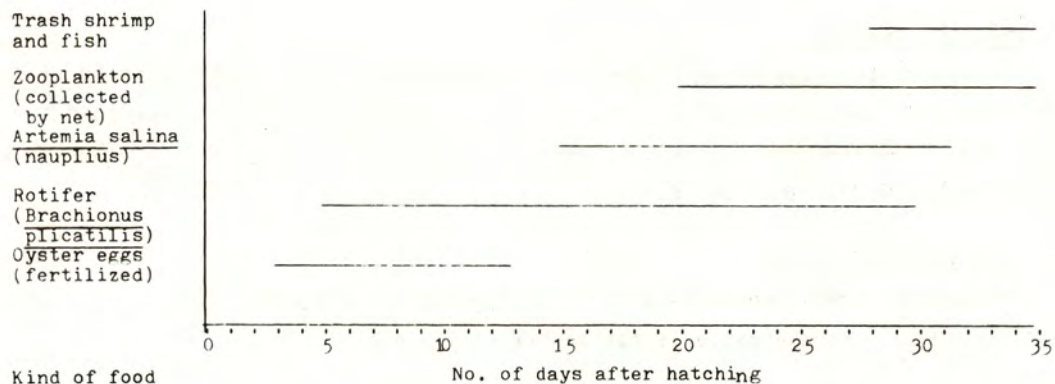


FIGURE 1 : Food used for rearing red sea bream larvae.



The food value of copepods and *Artemia* was compared. Survival rate of larvae during the period from 23rd to 34th day after hatching was 50 % with copepods and 15 % with *Artemia*. Thus copepods seem to be a better food than *Artemia*. However, the species and amount of copepods vary depending on location and season. It will be necessary to establish mass culture method of copepods.

Maximal initial density of prelarvae was 25,000/m<sup>3</sup> while the density at harvest was 2,000/m<sup>3</sup>. Average survival rate at prelarval stage was 10 %

Prelarvae hatch at 2.0-2.3 mm total length. They grow to about 6 mm total length in 20 days.

#### Postlarval stage.

Postlarvae of red sea bream (about 6 mm in total length) are transferred into net cages installed at sea. The water depth of the large concrete tanks is decreased to 1/3 (water volume : 50 m<sup>3</sup>) before gathering the larvae in order to avoid injury due to water current. A hose (diameter : 5 cm) is connected to the drain. The water flow of the drain is regulated to about 3-5 m<sup>3</sup> per hour. Gathering is done from the evening to midnight.

The mortality during transfer is about 10 %. It is higher for smaller size postlarvae. However, the postlarvae begin to swim against the water current when 10 mm total length, and mortality increases again at this stage. Therefore, it is recommendable to transfer the postlarvae when 8 mm total length.

Four net cages (dimensions : 3 m x 3 m x 2 m) are hanged per raft (dimensions : 8 m x 8 m). Mesh of the net is 0.16 cm. The nets are cleaned every 2-3 days, and replaced every 5 to 10 days.

Postlarvae are cultured to fry stage (20-30 mm total length) in the net cages for about 10-40 days. Initial density of postlarvae in the net cages is about 2,000/m<sup>3</sup>. The number of fry harvested is about 400-800/m<sup>3</sup>. Survival rate during net cage stage is about 30 %. Survival rate of fry from hatching to 20 mm total length is about 3 %.

An example of rearing result is as follows :

311,000 newly hatched larvae were placed in a tank of 50 m<sup>3</sup>. After 22 days, 109,878 postlarvae survived. The survival rate was 35.3 %. They were transferred to 3 net cages and reared for 30 days. Total number of fry harvested was 30,521. Survival rate after transfer was 30.4 %. Survival rate from newly hatched larvae to fry was about 10 %.

Feeding with *Brachionus plicatilis* and *Artemia salina* is preferable at the early stage of the net cages. But the main feed used during the net cage stage is trash shrimp and fish flesh.

.../...



#### LARGE SCALE PRODUCTION METHOD.

As long as the scale and the method of producing red sea bream larvae are limited to the above mentioned level, the mass production of larvae in the true sense will be difficult to achieve.

It was considered that the larvae of red sea bream are sensitive to the change of the environmental conditions. Therefore, rearing of the larvae was carried out in indoor tanks using filtered sea water. However, many experiments have shown that the larvae can be reared successfully in outdoor tanks using regular sea water.

An interesting experiment was carried out in an outdoor pond at Tamano in 1973. Postlarvae of red sea bream of total length 6-8 mm were released into a nursery pond (area : about 500 m<sup>2</sup>, volume : 400 m<sup>3</sup>, and depth : about 0.8 m). Prior to the release, fertilization was applied with about 100 kg chicken manure and 30 kg soy sauce waste. Zooplankton, such as copepods, brachyura larvae, ostracoda, polychaeta larvae and *gammarus* were propagated into the pond. In order to avoid a temperature increase, water was exchanged at rates of 1/8 of total volume daily and 1/4 nightly. The initial number of postlarvae released into the pond was 25,800. After 25 days, 4,013 fry were harvested. Survival rate was 16 %. The average total length of the larvae at the beginning and at harvest were 8.5 and 44.5 mm, respectively. Although the survival rate was not so much improved, the growth rate was much better than with net cages.

At present, several thousands m<sup>2</sup> ponds are constructed with dikes in former salt fields, and the newly hatched larvae are released directly into the ponds, whose water is fertilized. The larvae grow to a size of 20 mm total length in about 35 days. By using this method, it becomes possible to produce several hundred thousands of fry per pond per operation.

#### ACKNOWLEDGEMENT.

The author wishes to express his sincere thanks to Mr. T. FURUSAWA, Seto Inland Sea Fish Farming Association, for providing information used in preparing this paper.

#### BIBLIOGRAPHY.

- ANONYMOUS, 1974. Project team on red sea bream farming : Development of the seedling techniques of red sea bream. Data on the research at Seto Inland Sea Fish Farming Association, 8 : 1-51.
- HUDINAGA (FUJINAGA), M. and J. KITAKA, 1967. The large scale production of the young Kuruma prawn, *Penaeus japonicus* Bate. Inform. Bull. Plankto. Japan, Commemoration Number of Dr. Y. Matsue, 35-46.
- KAJIYAMA, E., 1937. Red sea bream, Sugiyama-shoten, Tokyo.



- KASAHARA, S., R. HIRANO and Y. OSHIMA, 1960. A study on the growth and rearing methods of the fry of black porgy, *Mylio macrocephalus* (Basilewsky). Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 26 : 239-244.
- NOGUCHI, T., 1968. On the natural spawning of red sea bream in the aquarium. Yoshoku (Aquaculture), 5 : 81-85.
- YAMASHITA, K., 1967. In *Yogyogaku Kakuron (Fish culture science, a multidisciplinary treatise)* (N. Kawamoto, Ed.), Koseisha-Koseikaku, Tokyo, 515-524.



**POISSONS ANADROMES ET D'EAU DOUCE**

*ANADROMOUS AND FRESHWATER FINFISH*



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4 (abstract only) : p. 119.

RESULTATS D'ADAPTATION A L'EAU DE MER  
DE JEUNES SAUMONS COHO (*ONCORHYNCHUS KISUTCH* WALBAUM)  
PENDANT L'AUTOMNE ET L'HIVER

par

Yves HARACHE, Gilles BOEUF et Hervé CHARTOIS

Centre Océanologique de Bretagne, B.P. 337, 29273 Brest Cédex, France.

ABSTRACT.

The growth of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch* Walbaum) in fresh water is very fast under natural conditions in Brittany.

Some fish show a smolt appearance in September of their first year and can be transferred in sea water to realize a winter production cycle with a better growth than fresh water reared fish.

Fifteen direct transfers to 34-35‰ sea water operated from September 8th to February 1st show a strong correlation between fish size and success of adaptation. Mortalities observed show a seasonal variation of salinity tolerance which is at the lowest level in November and December and maximum in February. The minimum size for a satisfactory growth raises from 170 mm in September to 210 mm in February.

Growth is better for early transfers, the more favourable period being late September and early October. However, all the transfers show a reduced growth during the first four weeks, indicating an important stress which may be reduced by a progressive adaptation to sea water.

RESUME.

La croissance du saumon coho (*Oncorhynchus kisutch* Walbaum) en eau douce est très rapide dans les conditions naturelles de la Bretagne.

Certains poissons présentent un état apparent de smoltification à partir de septembre de la première année et sont aptes à être transférés dans le milieu marin pour réaliser un cycle de production hivernal avec une croissance supérieure à celle que présentent les poissons maintenus en eau douce.

Quinze transferts directs en eau de mer (34-35‰) réalisés du 8 septembre au 1er février montrent une relation étroite entre la taille du poisson et le succès de l'adaptation. Les mortalités constatées font apparaître une variation saisonnière de la tolérance à l'eau de mer qui est minimale en novembre et décembre et maximale en février pendant la période étudiée. La taille limite compatible avec une croissance satisfaisante en eau de mer augmente d'un minimum de 170 mm début septembre à 210 mm début février.

La croissance apparaît supérieure pour les transferts précoces, la période la plus favorable étant située fin septembre-début octobre. Cependant, dans tous les cas, on note une diminution de croissance pendant les quatre semaines qui suivent le transfert, indiquant un stress important qui pourrait être atténué par une adaptation progressive au milieu marin.



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4 (abstract only) : p. 121.

## REARING SALMON AND RAINBOW TROUT FOR SEA CAGES

by

D.J. PIGGINS and J.P. LAWRIE

The Salmon Research Trust of Ireland Incorporated, Farran Laboratory, Newport, Co. Mayo, Ireland

### ABSTRACT.

*The paper presents an account of the rearing policy and techniques in use at the present time by the Salmon Research Trust of Ireland, for production of juveniles for sea-ranching and sea-farming purposes.*

*The policy has been to concentrate on 1<sup>+</sup> smolts. Details are given on the selection and handling of the brood stocks, the methods and results of incubation, first-feeding, and on-rearing. The husbandry standards, and the conditions of the transfer to sea cages are described. The differences between salmon and rainbow trout culture are briefly indicated.*

### RESUME.

*Le document présente la politique d'élevage, et les techniques employées actuellement par le "Salmon Research Trust of Ireland", pour la production de juvéniles destinés à l'élevage en cages ou au repeuplement.*

*La politique est basée sur la production de smolts 1<sup>+</sup>. La sélection et la manipulation des stocks de reproducteurs, les méthodes et les résultats de l'incubation, de l'alimentation larvaire, et de l'élevage ultérieur sont détaillés. Les standards d'élevage, et les conditions du transfert en mer dans les cages sont décrits. Les différences entre l'élevage du saumon et celui de la truite sont brièvement indiquées.*



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4 : 123-130.

PROGRESS IN THE CONTROLLED PROPAGATION OF  
*CLARIAS LAZERA* (CUVIER & VALENCIENNES)

by

H. HOGENDOORN<sup>+</sup>

F.A.O. Associate Expert, National Fish Culture Center, B.P. 130, Foumban, Cameroun.

ABSTRACT.

Subsequent to the existing work concerning the culture of *Clarias lazera* (C. & V.) it was tried to increase the effectiveness of its propagation through artificial reproduction. Hypophysation to induce the release of eggs followed by stripping and artificial fertilization gave promising results. The eggs were incubated and hatched successfully and work on fry rearing was started. Although additional work needs to be done, it is felt that good perspectives are held to resolve the problem of fingerling availability in the culture of *Clarias lazera*.

RESUME.

Poursuivant les travaux en cours sur l'élevage de *Clarias lazera* (C. et V.) il a été tenté d'accroître l'efficacité de l'alevinage par la reproduction artificielle. L'induction de l'ovulation par une hypophysation, suivie de massages abdominaux et d'une fécondation artificielle, a donné des résultats prometteurs. Mis en incubation, les oeufs ont éclos dans de bonnes conditions, et il a été possible d'entamer une étude sur l'élevage des alevins. Bien qu'il reste encore un important travail à réaliser, il semble y avoir de bonnes chances de parvenir à résoudre par ce moyen le problème de l'approvisionnement en juvéniles dans l'élevage de *Clarias lazera*.

.../...

---

<sup>+</sup> Present address : Department of Fish Culture and Inland Fisheries  
Agricultural University  
P.O. Box 338  
Wageningen  
The Netherlands



## INTRODUCTION.

*Clarias lazera* (Cuvier & Valenciennes) is a relatively new species in fish culture in Central Africa. It's feasibility as such was recognized in an inventorial study of local fish species suitable for pond fish culture that was realized in Bangui, Central African Republic (MICHA, 1973). However promising the growth and production potential of *Clarias lazera* in fish culture (DE KIMPE *et al.*, 1974), it's propagation remained only partly successful. Natural and induced reproduction in ponds as well as induced reproduction in cages and concrete tanks gave uncertain and fluctuating results (MICHA, 1975), thus forstalling a more general use of *Clarias lazera* in either subsistence or commercial fish culture.

Experiments to standardize the propagation of *Clarias lazera* have continued in different localities in Africa (JOCQUE, 1975 ; NUGENT, 1975 ; PHAM, 1975 ; VINCKE, 1975). This paper describes the approach via artificial reproduction as it was carried out at the National Fish Culture Center (FAO/UNDP project CMR/72/010) in Fouban, Cameroun.

## MATERIALS AND METHODS.

### Broodfish.

On the day prior to stripping the broodfish were taken from the small segregation ponds. The ripeness of the female was assessed by the distention and the softness of the abdomen, the protuberance and the redness of the vent and the appearance of eggs upon slight pressure on the abdomen. The males with increased vascularization on the tip of the genital papilla were preferred. The fish were stocked in holding tanks at a temperature of 19 to 20°C.

### Hypophysation.

The female was injected with acetone dried carp pituitary (Stoller's Fisheries, Iowa) around 18.00 to 19.00 hours the same day. The carp pituitary was administered intraperitoneally at a rate of 4 mg per kg female body weight in 2 to 3 ml of distilled water. The fish were kept overnight in the holding tanks. The tanks were well covered to avoid jumping out and only one fish was kept per tank to avoid fighting.

### Stripping and fertilization.

The next morning at around 7.00 to 8.00 hours the female generally released her eggs and could easily be handstripped (figure 1). The eggs were collected in a small, dry receptacle and weighed prior to fertilization.

No milt could be obtained from the males through external pressure on the abdomen. Dissection of the testes showed them to be kidney shaped with lobes on the lateral side. From the colour it appeared as if the ripe milt gathers along the edge in the lobes. This would impede handstripping of the males. However, by mincing the testes a few droplets of milt could be obtained with which eggs could be fertilized successfully.

.../...



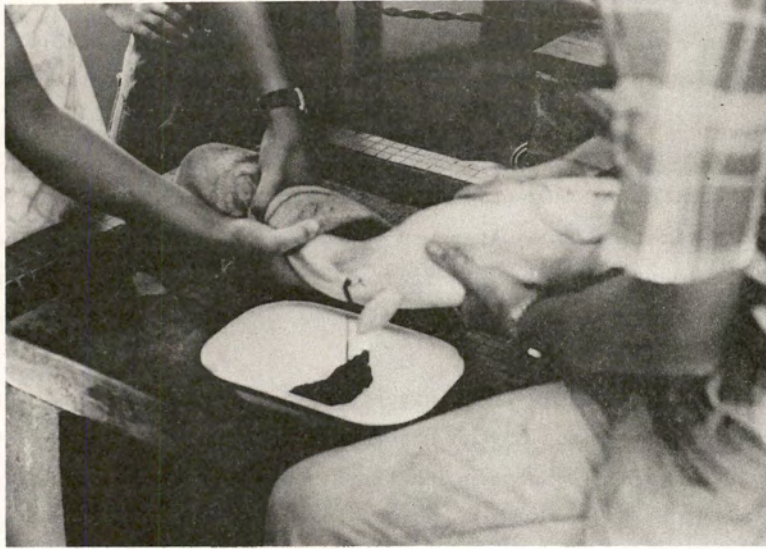


FIGURE 1 : *Stripping a female Clarias lazera.*

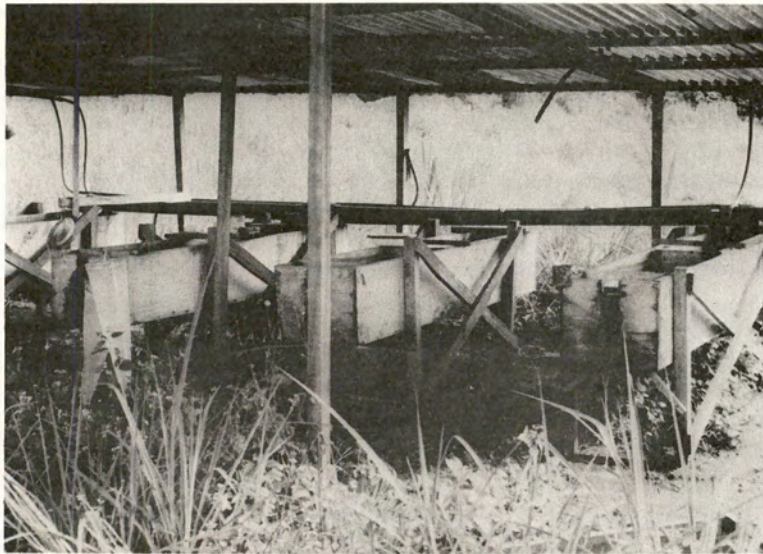


FIGURE 2 : *Improvised rearing troughs*



#### Incubation and hatching.

A little water was added to the mixture of fresh eggs and sperm after which it was gently swirled around for about 30 seconds. Immediately hereafter, the eggs were thinly deposited on a series of 2 cm deep plastic trays. Water was then added to inundate all the eggs.

After four hours the eggs generally were well adhered to the trays and a renewal of the water was carried out. At the same time the fertilization percentage was evaluated by actual (sample) count or estimation. The water was renewed again after 10, 24 and 34 hours of incubation. A formalin treatment (1000 ppm, 15 minutes) to control fungus was applied after 24 hours of incubation.

At a temperature of around 19-20° C hatching started about 48 hours after fertilization. At regular intervals, depending on the hatching rate, the newly hatched fry were removed by tilting the trays and carefully pouring the fry into a rearing trough. New water was then put back on the trays.

#### Fry and fingerling culture.

Experiments were started to rear the fry in wooden rearing troughs (0.3 m x 0.4 m x 2.5 m) with running water (figure 2). The water flow rate was regulated to give one change per hour approximately. The water was taken from a pond to reduce the turbidity and increase the temperature as compared to the general water supply.

Feeding with boiled egg yolk, milk powder, Trouvit 00 starter ground to powder in a mortar and Nr. 55 or Nr. 30 mesh plankton was started three days after hatching. Food was administered 7 to 10 times a day from 7.00 to 18.00 hours. Plankton in variable quantities was given from 8.00 to 14.00 hours. To some extent the stomach content of the fingerlings thus fed has been checked.

#### RESULTS AND DISCUSSION.

After the methodology had been developed, a total of 32 artificial reproductions was carried out (table 1). The average weight of the eggs produced per female was 10.9 ( $\pm$  4.1) % of the body weight. Five samples of fresh eggs were counted which resulted in an average of 610.6 ( $\pm$  8.6) eggs per gram of fresh eggs. Based on these results the following equation can be used to estimate the fecundity of female *Clarias lazera*.

$$\text{Total Nr. eggs} = 66.6 \times \text{female body weight (g)}.$$

A trend was observed for the larger females to produce relatively less eggs. Although this trend was not significant statistically, it may be advantageous to produce new broodstock every year rather than maintaining the same brood fish over a longer period.

Hypophysation invariably induced the release of the eggs. The females that ovulated 11 to 12 hours after pituitary injection generally gave better quality eggs than the fish ovulating after 15 to 16 hours. This may well be related to the ripeness of the eggs at the time  
.../...



Nr.	Date	Female	Hormone	Eggs (g)	Percent body weight
1	23.07.75	0.165	Doca <sup>1)</sup>	29	17.6
2	9.08.75	0.530	Adch <sup>2)</sup>	72	13.6
3	"	0.576	"	88	15.3
4	"	0.445	"	69	15.5
5	"	0.603	"	57	9.5
6	"	0.654	"	66	10.1
7	"	0.553	"	74	13.4
8	"	0.655	"	70	10.7
9	"	0.710	"	-	died
10	21.08.75	0.582	"	77	13.2
11	"	0.461	"	45	9.8
12	"	0.332	"	16	4.8
13	"	0.615	"	53	8.6
14	27.08.75	0.711	"	48	6.8
15	30.08.75	0.690	"	66	9.6
16	5.09.75	0.546	"	56	10.3
17	"	0.671	"	72	10.7
18	"	0.483	"	38	7.9
19	"	0.377	"	37	9.8
20	24.09.75	3.000	"	205	6.8
21	27.10.75	0.458	"	52	11.4
22	4.05.76	0.604	"	23	3.8
23	"	0.897	"	65	7.2
24	29.05.76	1.000	"	165	16.5
25	"	1.000	"	95	9.5
26	"	1.800	"	123	6.8
27	15.06.76	0.852	"	111	13.0
28	"	0.507	"	88	17.4
29	"	1.300	"	162	12.5
30	9.07.76	0.914	"	130	14.2
31	12.08.76	0.618	"	120	19.4
32	1.09.76	3.000	"	76	2.5

1) Doca : Desoxycorticosterone acetate : 50 mg/kg body weight

2) Adch : Acetone dried carp hypophysis : 4 mg/kg body weight

TABLE 1 : Artificial reproduction of *Clarias lazera* females

of injection. No appraisal was made of egg ripeness and it's effect on fertilization. The best results were obtained with dry, dark green eggs with a light brown, reddish spot (animal pole) as opposed to light green, yellowish or brownish eggs which generally had a more watery appearance.

In table 2 some data are given in respect of egg survival and hatching percentages. The fertilization percentage was determined after four hours of incubation, a time arbitrarily set. Generally, the fertilization rate was satisfactory when the quality of the eggs was good to start with. A formalin treatment to control fungus development and regular water renewal during incubation proved to be essential.

An advantage of the tray incubation method is that easy and almost complete separation of newly hatched fry and dead eggs can be obtained. This separation may be difficult to realize any other way, since no clear size difference exists between eggs and sac fry.

.../...



Date	Number of eggs	Percentage of eggs alive after				Hatching success (%)
		2 hours	4 hours	24 hours	48 hours	
21.08.75	(1935) <sup>+</sup>	94 (111)	--+	0	-	-
21.08.75	(1650)	97 ( 47)	-	87 (210)	84 (268)	± 84
27.08.75	(4197)	-	99 (61)	93 (292)	0	-
30.08.75	(2106)	-	97 (64)	48 (1097)	46 (1140)	± 46
5.09.75	(6076)	-	99 (15)	-	71 (1750)	-
26.09.75	± 120 000	-	99 (967)	-	-	± 80
27.10.75	± 29 000	-	99 (308)	93 (2002)	93 (2155)	92 (2203)
3.05.76	± 39 000	-	98 (834)	-	± 75	± 50
29.05.76	± 100 000	-	± 90	-	-	-
29.05.76	± 60 000	-	± 90	-	-	-
29.05.76	± 75 000	-	± 20	-	-	-
15.06.76	± 66 000	-	-	-	-	± 60
8.07.76	± 20 000	-	99 (106)	± 75	-	-
12.08.76	± 73 000	-	± 97	-	-	± 65
1.09.76	± 46 000	-	99 (642)	± 65	± 50	-

+ The numbers in parantheses are the actual egg counts.

++ The dash signifies that no percentage was raised.

TABLE 2 : Incubation and hatching of eggs of *Clarias lazera*.

The experience obtained in fry rearing (table 3) has a preliminary character because the facilities could be used only for a limited time. A major problem encountered was fouling of the troughs which resulted in clogged gills and the fry getting entangled. Although the water was taken from a pond, the turbidity and the resulting silt sedimentation remained high.

Date spawned	Date hatched	Yolk sac absorbed		Termination		% survival	Remarks
		Date	Nr.	Date (days)	Nr.		
21.08.75	23.08.75	26.08.75	565	31.08.75 (15 days)	165	29	Preliminary trial. Temperature too low
4.05.76	6.05.76	9.05.76	± 18 000	2.06.76 (24 days)	120	0.7	Fouling, cannibalism
29.05.76	31.05.76	-	0	-	0	0	Complete mortality
15.06.76	17.06.76	20.06.76	± 20 000	13.07.76 (23 days)	± 1 300	6.5	malachite green : 1 ppm - 1 hour
15.06.76	17.06.76	20.06.76	± 20 000	6.07.76 (16 days)	1 283	6.4	Malachite green : 0.25 ppm - 1 hour mortality
12.08.76	14.08.76	17.08.76	± 47 000	27.08.76 (10 days)	26 325	56	Termination before heavy fouling

TABLE 3 : Rearing *Clarias lazera* fry in wooden troughs

Feeding did not present any difficulties. After an approximate two days of feeding food conditioning had taken place and the fish spontaneously congregated along the sides of the troughs where food was administered. The stomach content showed that the uptake of food started the fourth day after hatching (19 to 20° C). After two days of feeding all the

.../...



substances fed could be found present in the stomachs. When fed Nr. 55 mesh zooplankton the incidence of copepods and ostracods was higher than that of rotifers and ciliates. When fed a combination of zooplankton and phytoplankton, the fish effectively consumed both of them.

A recurrent infestation with *Trichodina* sp., which caused mortality among the fish, could temporarily be controlled with 50 ppm formalin for 1 hour. Malachite green treatments to control fungus development proved detrimental to the fish and had to be abandoned.

In trial 6 (table 3) a total of 26 325 fry resulted after 10 days of feeding. This amounts to a 56 % survival on the number of sac fry and a 36 % return on the number of striped eggs.

Overall, the growth rate of the fry in the troughs was low :  $\pm 20$  mg over the first three weeks of feeding.

#### CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS.

The hypophysation of *Clarias lazera* females followed by stripping and artificial fertilization of the eggs has given promising results as regards its dependability and survival percentages. The appraisal of egg development (JOCQUE, 1975) prior to injection may provide a means to increase the overall viability of the eggs.

The described incubation and hatching procedure proved satisfactory. A continuous flow of water over the eggs may improve the results.

Controlled rearing of the fry to fingerlings of around 1 g in tanks is felt to hold the best perspectives for *Clarias lazera* fingerling production. It is recommended that further work be carried out in warmer water. The attention should focus on oxygen availability and especially the quality of the food.

#### ACKNOWLEDGEMENTS.

The author is indebted to the staff and the personnel of the National Fish Culture Center in Cameroun for their cooperation and assistance in this work. Special thanks are due to Mr. T.L. JOYCE and Miss A.S. ROOZEMOND for their enthusiastic participation in the different phases of the *Clarias lazera* reproduction experiments.



BIBLIOGRAPHY.

- JOCQUE, R., 1975. Sur quelques essais de reproduction induite chez *Clarias lazera* et *Clarias senegalensis*. Project PNUD/AVB/FAO - IVC 526, Rapport Technique 43.
- KIMPE, P. de and J.C. MICHA, 1974. First guidelines for the culture of *Clarias lazera* in Central Africa. Aquaculture, 4 : 227-248.
- MICHA, J.C., 1973. Etude des populations piscicoles de l'Ubangui et tentatives de sélection de quelques espèces à l'étang de pisciculture. C.T.F.T., Paris, 110 pp.
- MICHA, J.C., 1975. Synthèse des essais de reproduction, d'alevinage et de production chez un silure africain : *Clarias lazera*. CIFA/75/SE5. (FAO/CIFA Symposium on aquaculture in Africa).
- NUGENT, C.G., 1975. Contribution à l'étude de la reproduction naturelle, en étangs, de *Clarias lazera* V. Projet PNUD/FAO, CAF/72/002.
- PHAM, A., 1975. Données sur la reproduction en masse d'alevins de *Clarias lazera* Val. à la station de Bouaké, Côte d'Ivoire. C.T.F.T., 10 : 49-57.
- VINCKE, M., 1975. Bilan des premiers essais de reproduction et d'alevinage de *Clarias lazera* Val. Projet PNUD/FAO, CAF/72/002.



**CREVETTES**

*SHRIMPS*



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4 : 131-145.

CROISSANCE LARVAIRE CONTROLEE DE *PENAEUS JAPONICUS* BATE  
ENZYMES DIGESTIVES ET CHANGEMENTS DE REGIMES ALIMENTAIRES

par

Annie LAUBIER-BONICHON<sup>+</sup>, Alain VAN WORMHOUDT<sup>++</sup> et Daniel SELLOS<sup>++</sup>

<sup>+</sup> Centre Océanologique de Bretagne, B.P. 337, 29273 Brest Cédex, France

<sup>++</sup> Laboratoire de Biologie Marine du Collège de France, 29210 Concarneau

ABSTRACT.

The larval and postlarval development of the shrimp *Penaeus japonicus* has been studied on the basis of the evolution of nucleic acids, of proteinic compounds, and of digestive enzymes. Cell multiplication was assayed by tracing the evolution of the amount of desoxyribonucleic acid (DNA); this multiplication was found to be high during nauplius stages. Evolution in time of ribonucleic acid (RNA) was compared with evolution of dry weight and proteins; the amount of RNA rises considerably during stage zoe. Thus it is thought that during stages nauplius and mysis, cellular hyperplasia takes place, while cellular hypertrophy would characterize stage zoe.

The development of a new stock of digestive enzymes takes place during the zoe stage. The variations of amylasic (A) and proteasic (P) activities as well as their ratio (A/P) tend to show that the diet is predominantly based on glucids at the end of the zoea stage and at the beginning of the mysis one. The shrimps become more carnivorous later on.

RESUME.

Le développement de la crevette Peneide *Penaeus japonicus* Bate, dans les premières phases de sa vie larvaire et post-larvaire a été étudié en suivant l'évolution des acides nucléiques, des protéines et des enzymes digestives. La multiplication cellulaire estimée par le taux de l'acide désoxyribonucléique (ADN) est importante durant la phase nauplius. Pour l'acide ribonucléique (ARN), son évolution est comparée à celle du poids sec et des protéines; une augmentation importante du taux d'ARN a lieu au stade zoé. On en conclut que les phases nauplius et mysis sont caractérisées par une hyperplasie, alors que la phase zoé est marquée par une hypertrophie cellulaire.

La mise en place d'un nouveau stock d'enzymes digestives s'effectue au cours du stade zoé. L'étude des activités amylasiques (A) et protéasique (P) et surtout de leur rapport (A/P) aboutit à la mise en évidence d'une prépondérance d'un régime glucidique à la fin de la phase zoé et au début de la phase mysis, le régime devenant plus carnivore par la suite.

.../...



## INTRODUCTION.

Depuis le mois de juillet 1933, où pour la première fois au monde est obtenue la ponte et l'éclosion en bassin d'élevage des larves de la Crevette Impériale *Penaeus japonicus* par FUJINAGA (1935), les étapes jalonnant les progrès dans l'histoire de l'élevage de cette espèce se sont multipliées. Les difficultés rencontrées dans les élevages larvaires ont, pas à pas, été surmontées par cet auteur : les huit années qui suivent la date de la première ponte sont caractérisées par les difficultés rencontrées pour nourrir les larves zoé, résolues seulement en 1941 et 1942 par l'utilisation d'une diatomée cultivée, *Skeletonema costatum*. La guerre interrompt les recherches, et ce n'est qu'en 1956 que la seconde étape, celle qui permet l'élevage avec un pourcentage significatif de réussite des mysis et des post-larves, trouve sa résolution par l'apport de nauplii d'*Artemia* comme aliment principal. Il aura fallu bien des années pour qu'un régime alimentaire convenable soit appréhendé (FUJINAGA, 1942, 1969).

Depuis cette période, les recherches ont eu pour but de trouver des aliments de substitution plus économiques que l'aliment vivant, soit sous forme d'aliment naturel, chair de poisson ou de mollusque broyés, soit en partant de la constitution d'une alimentation composée. Il nous est apparu que l'étude de l'équipement enzymatique digestif pourrait être une approche intéressante permettant l'adéquation d'un régime de nutrition des larves et des juvéniles adapté à l'évolution de ces enzymes, ceci permettant sans doute une meilleure croissance. Les taux de l'ADN total et de l'ARN total, ainsi que leurs variations réciproques, ont été choisis comme indices quantitatifs de la croissance et des potentialités de synthèse. Les recherches présentées ici représentent une étude préliminaire de ce problème.

## MATERIEL ET METHODES.

### Matériel biologique.

Les larves sont issues de pontes de femelles de *Penaeus japonicus* dont la maturation sexuelle a été induite artificiellement en milieu contrôlé (LAUBIER-BONICHON, 1975 ; LAUBIER-BONICHON et LAUBIER, 1976), les facteurs d'induction de cette maturation étant des facteurs écologiques à l'exclusion de tout autre procédé (injection d'hormones, épédonculations). Dans ces conditions, la fécondation des oeufs et l'éclosion des nauplii est totale, et l'on a la certitude d'éliminer ainsi des risques d'embryogénèses monstrueuses. Les larves obtenues ont toujours été parfaitement normales. Les pontes sont émises dans les bassins même de reproduction et les oeufs s'y développent jusqu'à l'éclosion. On évite ainsi la manipulation des oeufs, qui semble néfaste au développement larvaire. Les larves sont recueillies grâce à un système de trop-plein dans un collecteur, elles sont ensuite concentrées en un volume réduit, et des échantillons au 1/10ème sont prélevés pour faire plusieurs comptages sous la loupe binoculaire en cuve de Dollfus. Les larves sont alors mises en élevage à raison d'une moyenne de 60 individus au litre en eau de mer stagnante dans des cuves de 800 litres. Les températures ont varié suivant les élevages de 22° C à 25,5° C. Les stades larvaires sont déterminés grâce aux critères morphologiques définis par FUJINAGA (1942) ; ce sont ces stades que nous avons retenus comme critères valables, l'âge à un stade donné étant fonction de deux

.../...



deux facteurs principaux, le temps et la température d'élevage. Nous avons choisi de reproduire les conditions de régime alimentaire appliquées dans les élevages pratiqués au Japon, en introduisant toutefois quelques variantes provenant du choix des algues : les larves au stade nauplius V reçoivent un apport journalier de *Monochrysis lutheri* à raison de 150 000 cellules au ml jusqu'au stade zoé I ; dès l'apparition de ce stade, on introduit chaque jour dans le bac d'élevage une culture de *Platymonas suecica*, à la concentration finale de 5 000 cellules au ml, 15 000 au stade zoé II et 20 000 ensuite. Le Rotifère *Brachionus plicatilis* est apporté à la fin de la phase zoé, et des *Artemia* fournies à partir de la phase mysis, d'abord sous forme de nauplii d'*Artemia*, puis progressivement de jeunes individus de 2 et 4 jours. Durant toute cette période, l'apport de *Platymonas* est maintenu dans le bac d'élevage. Il ne cesse que lorsque les post-larves sont nourries de moules lyophilisées broyées, au stade PL 4. Durant toutes les phases larvaires jusqu'à la post-larve 4 les élevages se déroulent en lumière constante, afin de maintenir la multiplication algale. Les changements de comportement qui apparaissent aux stades PL 3-4, où la post-larve devient benthique et change de régime, nous ont conduit à placer alors les animaux sur fond de sable et avec un éclairage discontinu.

Lors des prélèvements des échantillons, les animaux récoltés sont concentrés et comptés à la loupe, sur plusieurs échantillons au 1/10<sup>ème</sup>. Ils sont alors concentrés sur un tamis, rincés à l'eau distillée, refroidis rapidement à -40° C et lyophilisés.

#### Méthodes d'analyses.

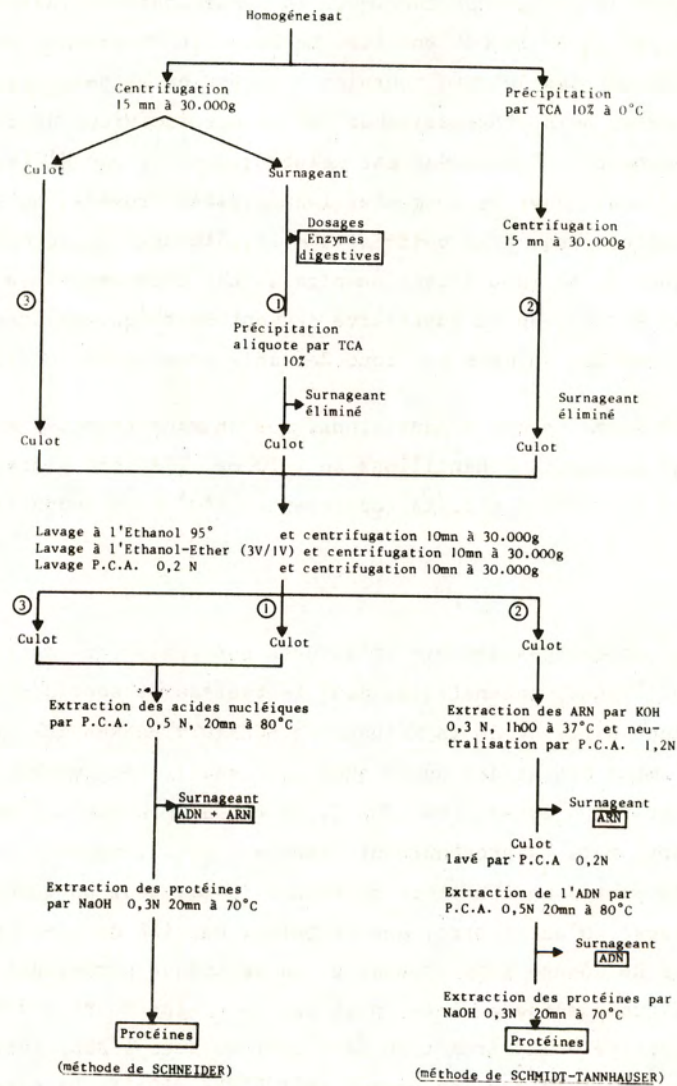
Trois séries de dosages ont été effectuées sur trois lots de larves différents. Les trois techniques utilisées, schématisées dans le tableau 1; sont dérivées de la méthode de SCHNEIDER (1957) d'une part, et de la méthode de SCHMIDT-THANNHAUSER (1945) d'autre part. L'intérêt du fractionnement des acides nucléiques (tableau 1, 2<sup>ème</sup> méthode) où l'ARN est extrait par KOH 0,3 N et l'ADN extrait par PCA 0,5 N est de pouvoir effectuer les dosages de ces quantités séparément. Mais la procédure utilisée est plus longue et les lavages plus nombreux entraînent des pertes en ADN et en protéines (comme peut en témoigner la prise du poids sec à chaque étage). D'autre part, une certaine quantité de protéines est extraite par la potasse et nécessite un dosage supplémentaire. La technique permettant l'extraction simultanée des acides nucléiques (méthode 3) est plus rapide et les sources d'erreurs sur la détermination de la quantité d'ARN (réaction de l'orcinoïl avec l'ADN) sont négligeables (sauf dans le cas de dosages effectués sur les noyaux (SUTCLIFFE, 1965). La correction peut être aisément effectuée, elle n'excède jamais quelques pour-cents. Le culot obtenu après centrifugation de l'homogénéisat au tampon phosphate à pH 7 (méthode n° 1), ne permet d'obtenir que des quantités partielles d'ARN, d'ADN et de protéines (une partie étant solubilisée). Il est donc nécessaire, après dosage des enzymes digestives sur une aliquote du surnageant, de précipiter celui-ci par l'acide trichloracétique à 10 % puis d'extraire et de doser les quantités d'acides nucléiques et de protéines qui y sont présentes.

La détermination de la quantité d'ARN est effectuée par la méthode à l'orcinoïl de SCHNEIDER (1957), l'étalon utilisé étant de l'ARN (Fluka). La quantité d'ADN est dosée par la méthode de BURTON (1956), modification de la réaction à la diphénylamine ; l'étalon est ici de

.../...



l'ARN de thymus de veau (Sigma). Le dosage des protéines est effectué par la méthode de Folin (LOWRY et al., 1951), en utilisant l'albumine bovine pour étalon.



**TABLEAU 1** : Séparation des acides nucléiques et préparation des extraits enzymatiques.

Les larves lyophilisées sont pesées puis broyées dans du tampon phosphate  $10^{-2}$  M à pH 7 dans un polybroyeur en verre (Kontes Dual). Les concentrations retenues sont de 1 000 à 5 000 nauplii par ml, suivant le stade, 500 zoés, 100 à 200 mysis, 100 post-larves. Après centrifugation à 30 000 g pendant 30', le dosage de l' $\alpha$ -amylase en présence de glycogène (Merck) 0,66 %, de manganèse  $10^{-3}$  M et de NaCl  $10^{-2}$  M, s'effectue selon BERNFELD (1954), modifié .../...



sur le surnageant. Le dosage des protéases est réalisé en présence de Caséine-Yellow (Sigma) comme substrat selon CHARNEY et TOMARELLI (1947). Les protéases sont exprimées en mg de caséine hydrolysée/h à 37° C. Les amylases sont exprimées en mg de maltose libéré/10' à 37° C. Les activités sont rapportées soit au mg de protéines solubles (activité spécifique), soit au mg d'ADN.

## RESULTATS.

### Croissance.

Au cours des stades nauplius, le poids sec lyophilisé diminue. La croissance en poids sec s'effectue essentiellement à partir de la phase zoé (figure 1). Elle est un peu moins rapide aux stades mysis et post-larvaires.

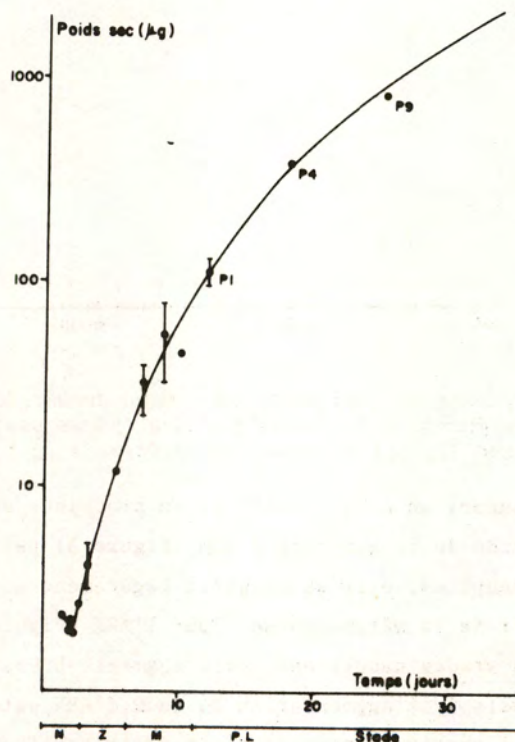


FIGURE 1 : Evolution du poids sec individuel en fonction des différents stades de développement chez Penaeus japonicus.

La relation que l'on peut établir entre la taille, mesurée sur les échantillons lyophilisés, et le poids sec lyophilisé (figure 2) fait ressortir trois grands changements morphologiques marquant deux disharmonies principales : l'une située au passage de la phase nauplius à la phase zoé, l'autre se situant au passage de la phase mysis à la phase post-larve. Pour cette dernière, des recherches ultérieures permettront sans doute de préciser le stade exact de cette disharmonie.

.../...



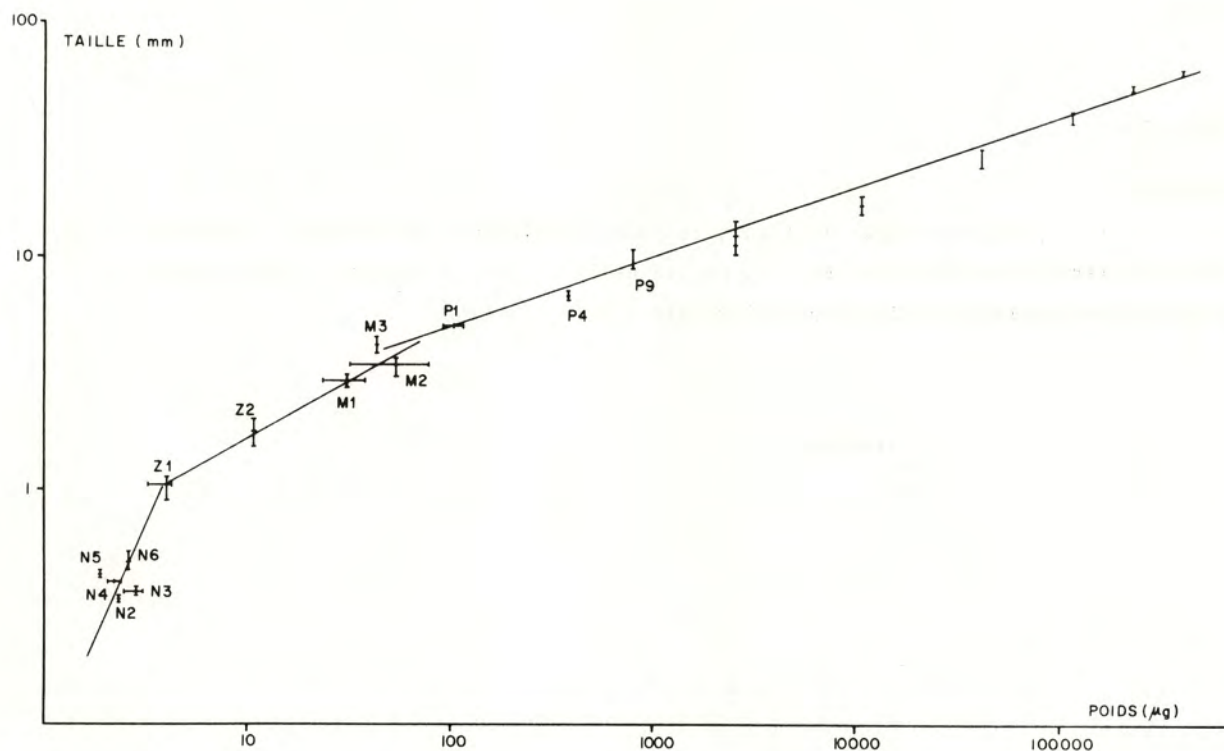


FIGURE 2 : Relation taille/poids, au cours des premiers stades du développement. La taille représente la longueur, de la zone frontale à l'extrémité des épines postérieures, jusqu'au stade zoé I ; à partir du stade zoé II, les mesures sont faites de la base du pédoncule oculaire à l'extrémité postérieure.

Les variations des teneurs en ADN, en ARN et en protéines ont été étudiées en fonction des stades. L'augmentation de la quantité d'ADN (figure 3) par individu est tout d'abord rapide durant la phase nauplius, elle se ralentit légèrement au cours des phases zoé et mysis, plus fortement à partir de la métamorphose. Pour l'ARN (figure 4), la quantité mesurée est constante durant les stades naupliens, elle augmente brutalement dès le premier stade zoé ; à partir du stade mysis I, l'augmentation du taux d'ARN est légèrement moins rapide, elle se ralentit encore à partir du premier stade post-larvaire. En ce qui concerne la quantité de protéines (figure 5), on observe une baisse de celle-ci durant la phase nauplius, puis une augmentation progressive, le schéma général ainsi tracé ayant la même allure que celui qui est donné par la courbe de poids sec (figure 1). Le rapport protéines sur poids sec varie peu en fonction des stades considérés (figure 6).

Nous avons étudié l'évolution de la concentration des acides nucléiques en fonction des stades, cette concentration étant exprimée en microgrammes d'acide nucléique par microgramme de poids sec. La concentration en ADN (figure 7) augmente au cours des stades nauplii pour atteindre son maximum au stade nauplius VI, elle diminue jusqu'au stade mysis I où elle atteint une valeur minimum, elle remonte au cours de toute la phase mysis pour atteindre un maximum au 1er stade post-larvaire ; elle diminue alors progressivement après la métamorphose.

.../...



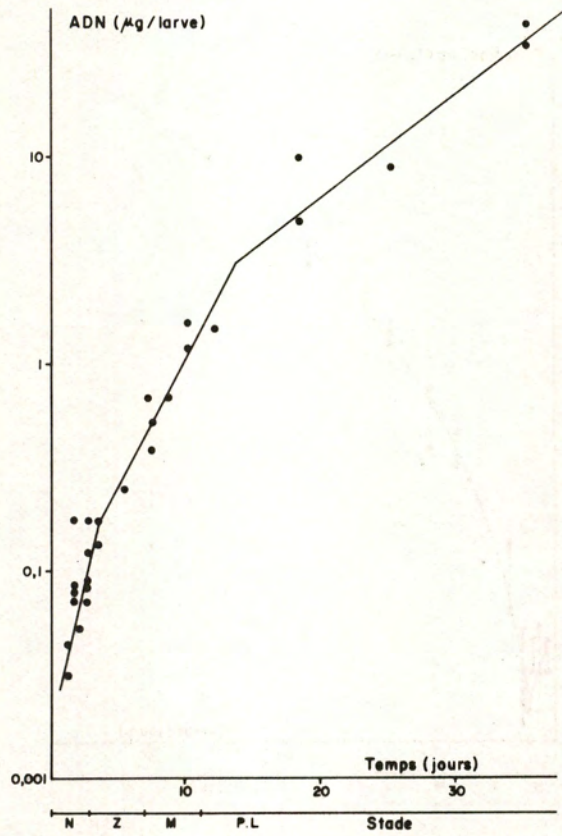


FIGURE 3 : Evolution de la teneur en ADN par individu en fonction des différents stades du développement.

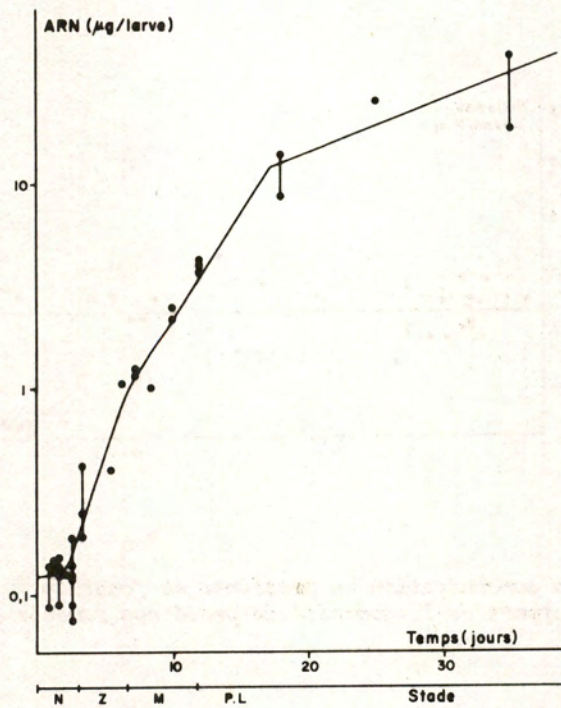


FIGURE 4 : Evolution de la teneur en ARN par individu en fonction des différents stades du développement. .../...



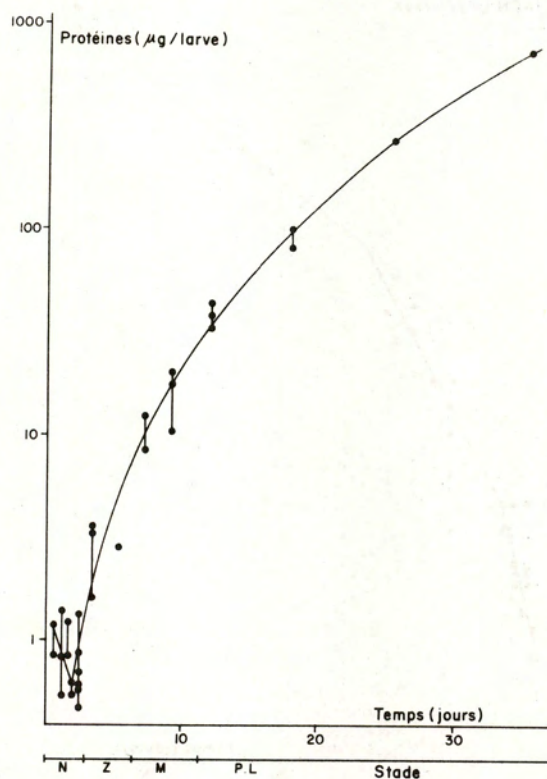


FIGURE 5 : Evolution de la teneur en protéines par individu en fonction des différents stades du développement.

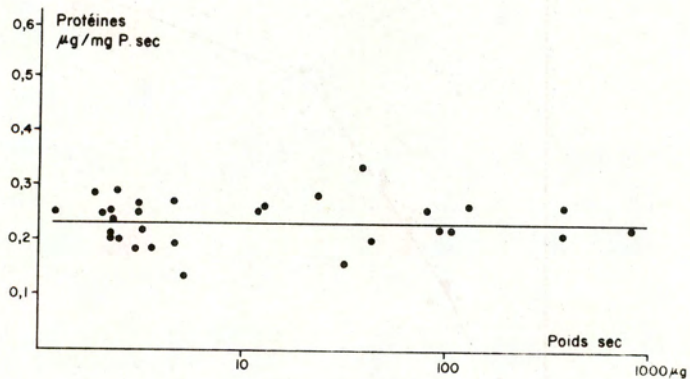


FIGURE 6 : Evolution de la concentration en protéines en fonction du poids sec individuel. La concentration est le rapport de la quantité de protéines ramenée au poids sec.



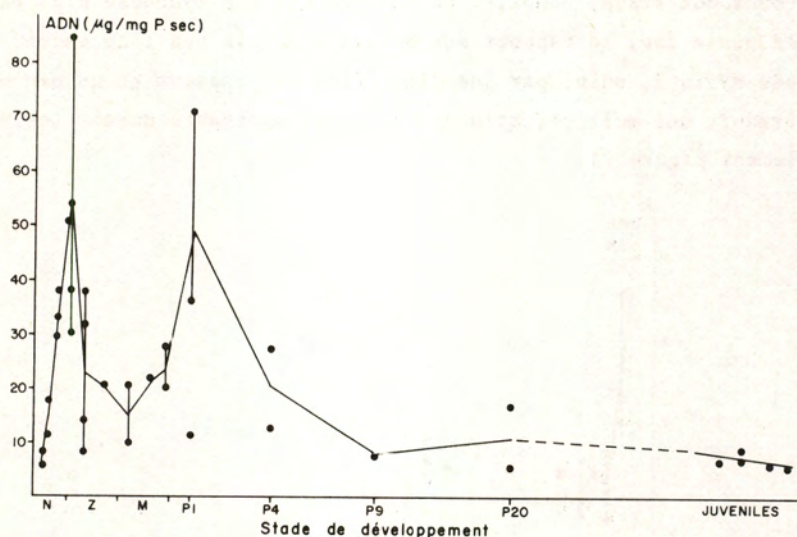


FIGURE 7 : Evolution de la concentration en ADN au cours du développement.

La concentration en ARN (figure 8) est maximale au stade nauplius VI, elle diminue progressivement au cours des stades ultérieurs, avec un second pic faible lors de la métamorphose. Les variations sont, en tout état de cause, moins importantes pour l'ARN qui varie de 30 à 80  $\mu\text{g}/\text{mg}$  de poids sec, soit un coefficient de 2,5 que pour l'ADN qui varie de 5 à 80  $\mu\text{g}/\text{mg}$  de poids sec soit un coefficient de 12,5.

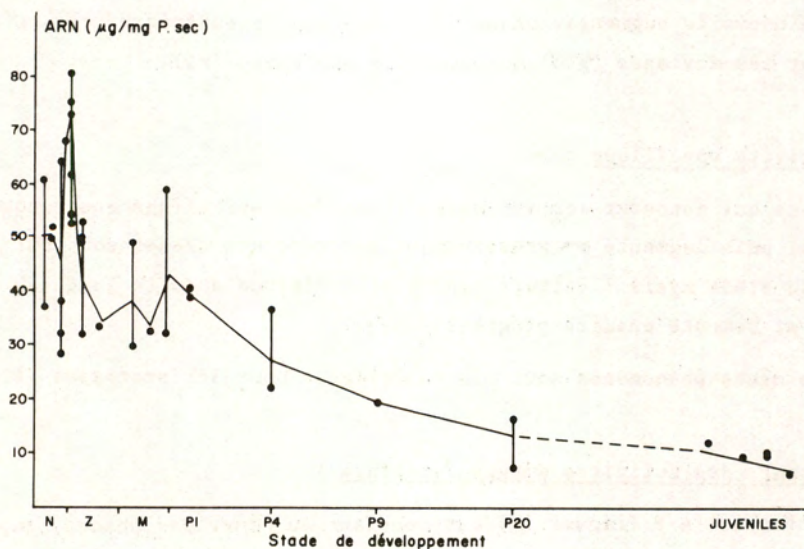


FIGURE 8 : Evolution de la concentration en ARN au cours du développement.

.../...



L'étude de l'évolution du rapport ARN/ADN (figure 9) montre que celui-ci diminue rapidement au cours des stades nauplii, ce qui traduit une synthèse plus rapide d'ADN que d'ARN. Durant la phase zoé, le rapport est faible et varie peu ; un second maximum est mis en évidence au stade mysis I, suivi par une diminution progressive et un minimum au stade post-larve I. Ceci traduit une multiplication cellulaire importante durant les phases nauplius et mysis (cf. également figure 7).

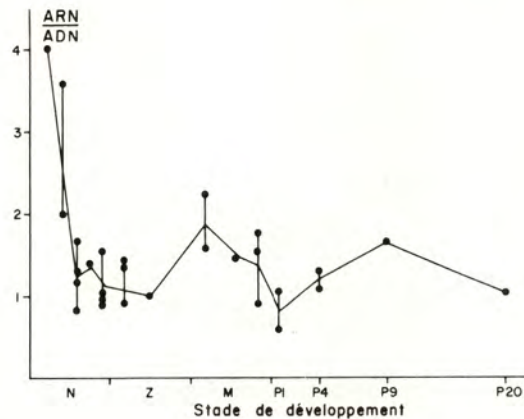


FIGURE 9 : Evolution du rapport ARN/ADN au cours du développement.

#### Activités enzymatiques digestives.

##### Activité totale par larve :

Parallèlement à l'augmentation de poids individuel, on observe une augmentation de l'activité des enzymes digestives, amylases et protéases (figure 10) à partir de la larve zoé I, les nauplii voyant leur teneur en enzyme diminuer de l'éclosion au passage à la phase zoé. L'augmentation enzymatique est très forte jusqu'au stade mysis I, puis on observe un plateau et une nouvelle augmentation au cours des stades post-larvaires. L'augmentation est plus forte pour les amylases (x15) que pour les protéases (x5).

##### Activité spécifique :

En ce qui concerne les amylases, l'activité spécifique reste constante au cours des stades nauplii, puis augmente progressivement au cours des stades zoé pour atteindre un maximum au cours du stade mysis I (figure 11a) ; elle diminue ensuite jusqu'au premier stade post-larvaire et remonte ensuite progressivement.

Les mêmes phénomènes sont mis en évidence pour les protéases (figure 11b).

##### Rapport des activités amylase/protéase :

Le rapport A/P (figure 12) est constant au cours des phases nauplius et zoé et augmente brusquement lors du passage au stade mysis I. Il s'abaisse légèrement jusqu'à la métamorphose, tout en ayant une valeur supérieure à celle calculée chez les zoés.

.../...



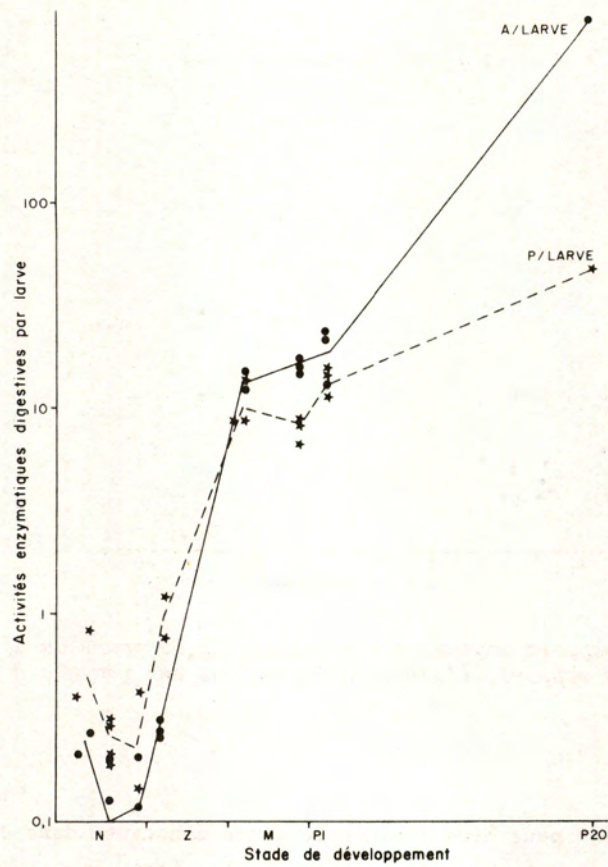


FIGURE 10 : Evolution des activités enzymatiques digestives, amylase (A) et protéase (P) au cours du développement.

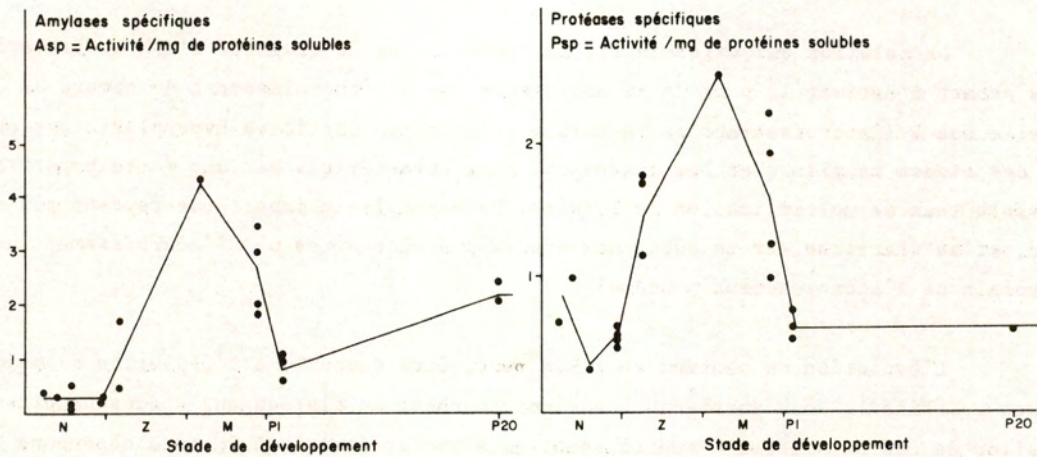


FIGURE 11 : Evolution des activités enzymatiques digestives spécifiques au cours du développement.

.../...



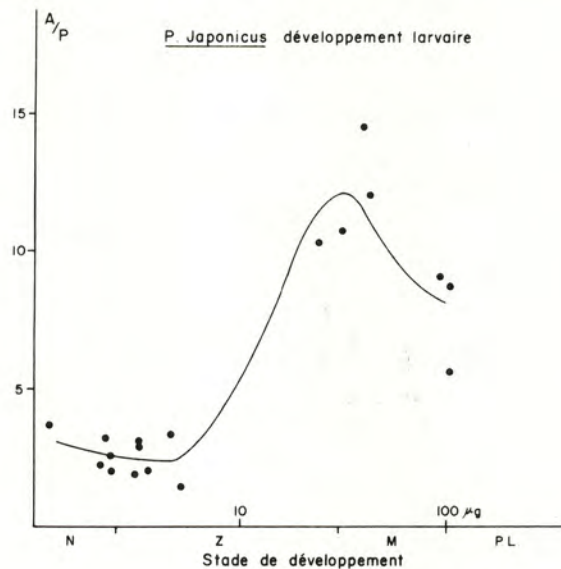


FIGURE 12 : Evolution du rapport amylase sur protéase, A/P, au cours du développement larvaire. Pour l'établissement de ce rapport, l'activité amylasique est ramenée à la même durée.

#### DISCUSSION.

La quantité d'ADN peut être considérée comme constante dans des cellules somatiques diploïdes et ceci, pour une espèce donnée (BOIVIN et al., 1948). Le taux d'ADN par individu est donc représentatif de l'évolution du nombre de noyaux. L'augmentation de l'ADN se poursuit tout au long de la phase de croissance étudiée et traduit l'existence d'un nombre croissant de cellules. Deux disharmonies sont observées aux stades  $N_6$ -Zoé 1 et à la métamorphose. Une période de multiplication cellulaire importante recouvre la phase nauplius, tandis qu'au niveau des phases zoé et mysis, la prolifération de cellules est plus modérée. Celle-ci se ralentit encore lors des étapes post-larvaires.

La relation qui existe entre la variation de la quantité d'ADN et la variation du poids permet d'estimer la part de la croissance due à l'accroissement du nombre de cellules et celle due à l'accroissement de la taille cellulaire. Une forte hyperplasie est observée lors des stades nauplius, et les stades zoé sont caractérisés par une forte hypertrophie, et un faible taux de multiplication cellulaire. Une hyperplasie importante reprend aux stades mysis, et se stabilise sur le début des stades post-larvaires où l'accroissement de l'ADN est voisin de l'accroissement pondéral.

L'évolution du contenu en A.R.N. peut être comparée à l'évolution du poids sec (ou des protéines). Nous constatons, sur ces courbes, un plateau aux stades naupliens, l'augmentation de ces paramètres n'apparaissent qu'à partir de la zoé 1. Nous observons une décroissance de la concentration en A.R.N. pour les différents stades larvaires. Les parties accidentées de la courbe (phase nauplius) sont dues aux variations enregistrées sur le poids des animaux.

.../...



L'influence de la mue sur la concentration en acides nucléiques (SKINNER, 1966 ; SULKIN et al., 1975) n'a pu être déterminée ici, mais les changements morphologiques importants sont cependant marqués par des ruptures de pente dans les courbes d'évolution des contenus en acides nucléiques.

Le rapport de la quantité d'A.R.N. sur la quantité d'A.D.N. (figure 9) est considéré comme un indice de l'activité métabolique cellulaire. Nous constatons que ce rapport décroît fortement lors des stades naupliens (où l'on assiste à la mise en place de l'A.D.N., et, à la stagnation des quantités d'A.R.N. et de protéines). L'activité métabolique reprend à la phase zoé, pour décroître à nouveau, et se stabiliser lors des étapes post-larvaires. Ce rapport n'est jamais inférieur à l'unité. Chez la larve de *Palaemon serratus*, CAMPILLO et al. (1975) trouvent un rapport entre 0,72 et 0,88. Cependant, le mode de développement de *P. japonicus* permet d'observer l'évolution au cours des stades naupliens (qui s'effectuent dans l'oeuf chez *P. serratus*).

L'augmentation de la teneur en enzymes digestives est à mettre en parallèle avec l'alimentation chez *Palaemon serratus* adulte : l'un d'entre nous (VAN WORMHOUDT, 1973, 1975) a mis en évidence une adaptation de la teneur en enzymes digestives, en particulier de l' $\alpha$ -amylase, au régime alimentaire. L'alimentation constitue ainsi un activateur et un modulateur de la bio-synthèse des enzymes digestives chez les Crustacés, comme cela a déjà été démontré dans d'autres groupes (BEN ABDELJLIL, 1964). Chez *Penaeus japonicus* au cours des stades zoé, il y a prépondérances de la faculté d'assimilation glucidique sur l'assimilation protéique (figure 10). Bien que nous ne possédions pas les données sur la teneur en glucides, l'examen de la teneur en pour-cent de poids sec des différents aliments que l'on fournit aux larves et aux post-larves donne à partir de la moyenne pour les protéines une indication globale, 30 % de protéines chez *Platymonas* et 33 % chez *Isochrysis*, contre 50 % de protéines chez *Brachionus* et de 54 à 62 % chez *Artemia*, la concentration chez cette espèce augmentant au cours du développement du Branchiopode (PERSON, communication personnelle, cf. aussi BENIJTS et al., 1975). A la fin du stade zoé, le rapport A/P est maximum. Au cours de la phase mysis, les activités enzymatiques digestives varient peu, on observe une baisse du rapport A/P qui est minimal à la métamorphose. Le taux d'amylase élevé pourrait révéler les potentialités omnivores des mysis et des premières postlarves avec une forte tendance carnivore.

Ainsi, si l'on fait le rapprochement avec *Palaemon serratus*, espèce considérée comme ayant un régime omnivore (VAN WORMHOUDT, 1974), les activités spécifiques protéasiques sont plus fortes chez *P. japonicus* (15x), de même que les activités spécifiques amylasiques (6x), ceci pour les stades post-larvaires comparés chez les deux espèces.

Les variations d'activité enzymatiques reflètent bien les changements d'alimentation exigés par l'animal au cours de son développement. D'autres études sont envisagées afin de préciser les limites des possibilités d'adaptation à divers régimes, et les modifications du stock enzymatique apparues entre le nauplius et la postlarve. Des résultats partiels permettent de mettre en évidence une augmentation de l'activité de certaines enzymes (esterases,  $\alpha$ -glucosidase,  $\alpha$ -galactosidase), une réduction de l'activité en ce qui concerne la trypsine et la  $\beta$ -glucuronisade, une baisse des  $\alpha$ -fucosidases et des  $\alpha$ -mannosidases. .../...



BIBLIOGRAPHIE.

- BEN ABDELJLIL, A. et P. DESNUELLE, 1964. Sur l'adaptation des enzymes exocrines du pancréas à la composition du régime. Biochim. Biophys. Acta, 81 : 136-149.
- BENIJTS, F., E. VAN WOORDEN and P. SORGELOOS, 1975. Changes in the biochemical composition of the early larval stages of the brine shrimp, *Artemia salina* L. 10th European Symposium on Marine Biology, Ostend, Belgium, sept. 17-23, 1 : 1-9.
- BERNFELD, P., 1954. Sur une méthode de microdosage des amylases in : Methods in Enzymology, S.P. Colowick and N.O. Kaplan eds., Academic Press, New-York : 149-157.
- BOIVIN, A., R. VENDRELY et C. VENDRELY, 1948. L'acide désoxyribonucléique du noyau cellulaire, dépositaire des caractères héréditaires, argument d'ordre analytique. C.R. Acad. Sc., Paris, 226 : 1061-1062.
- BURTON, K., 1968. Determination of DNA concentration with diphenylamine. In : Methods in Enzymology, S.P. Colowick and N.O. Kaplan eds., Academic Press, New-York, 12 B : 163-168.
- CAMPILLO, A., M. REGNAULT et P. LUQUET, 1975. Evolution des acides nucléiques au cours du développement larvaire de la Crevette rose *Palaeomon serratus* (Pennant). Rev. Trav. Inst. Pêches marit., 39 (3) : 333-342.
- CHARNEY, J. and R.M. TOMARELLI, 1947. A coloric method for the determination of the proteolytic activity of duodenal juice. J. biol. chem., 171 : 501-505.
- FUJINAGA, M., 1935. The studies of *Penaeus*. 1. The development of *Penaeus japonicus* Bate. Rep. Hayatomo Fish. Res. Lab., 1 (1) : 1-51.
- FUJINAGA, M., 1942. Reproduction, development and rearing of *Penaeus japonicus* Bate. Jap. J. zool., 10 (2) : 305-393.
- FUJINAGA, M., 1969. Kuruma shrimp (*Penaeus japonicus*) cultivation in Japan. Proceedings of the world scientific conference on the biology and culture of shrimps and prawns (Mexico, June 1967, FAO Fisheries Reports n° 57, vol. 3, Rome : 811-832.
- LAUBIER-BONICHON, A., 1975. Induction de la maturation sexuelle et ponte chez la crevette *Penaeus japonicus* Bate en milieu contrôlé. C.R. Acad. Sc., Paris, 281, sér. D : 2013-2016.
- LAUBIER-BONICHON, A. et L. LAUBIER, 1976. Reproduction contrôlée chez la crevette *Penaeus japonicus*. Conférence technique de la FAO sur l'Aquaculture. Kyoto, Japon (26 mai-2 juin). FIR:AQ/Conf/76/E.38 (sous presse).
- LOWRY, O.M., N.J. ROSEBROUGH, A.L. FARR and R.J. RANDALL, 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. biol. chem., 193 : 256-275.
- SCHMIDT, G. and J.J. THANNHAUSER, 1945. A method for the determination of desoxyribonucleic acid, ribonucleic acid, and phosphoprotein in animal tissues. J. biol. chem., 116 : 13-89.

.../...



- SCHNEIDER, W.C., 1957. Determination of nucleic acids in tissues by pentose analysis. In : Methods in enzymology. S.P. Colowick and N.O. Kaplan eds. Academic Press New-York, 3 : 680-681.
- SKINNER, D.M., 1966. Breakdown and reformation of somatic muscle during the molt cycle of the land crab *Gecarcinus lateralis*. J. Exp. Zool., 163 : 115-124.
- SULKIN, S.D., R.P. MORGAN and L.L. MINASIAN, Jr., 1975. Biochemical changes during larval development of the Xanthid Crab *Rithro panopeus harrisi*. II. Nucleic Acids. Mar. Biol., 32 : 113-117.
- SUTCLIFFE, W.H., 1965. Growth estimates from ribonucleic acid content in some organisms. Limnol. Oceanogr. (suppl.), 10 : 253-258.
- VAN WORMHOUDT, A., 1973. Activité des protéases, des amylases et des protéines solubles au cours du développement larvaire chez *Palaemon serratus*. Mar. Biol., 19 : 245-248.
- VAN WORMHOUDT, A., 1974. Variation des activités enzymatiques spécifiques chez *Palaemon serratus* et *Penaeus kerathurus* en fonction des conditions physiologiques normales et en élevage. Thèse spécialité Océanographie, Université Aix-Marseille.



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4 : 147-155.

REMPLACEMENT DES HERBIVORES PROIES PAR DES MICROPARTICULES INERTES ;  
UNE APPLICATION A L'ELEVAGE LARVAIRE DE *PENAEUS JAPONICUS*.

par

Michel L'HERROUX, Robert METAILLER et Luc PILVIN

Centre Océanologique de Bretagne, B.P. 337, 29273 Brest Cédex, France

ABSTRACT.

*The present work describes the rearing of Penaeus japonicus larvae using only unicellular algae and inert microparticles. The use of these particles is compared with that of living animal preys, more frequently employed.*

RESUME.

*Le présent travail a pour objet la description d'une technique d'élevage des larves de Penaeus japonicus ne faisant intervenir que des algues unicellulaires et des microparticules inertes. L'utilisation de ces dernières est comparée avec celle des proies animales vivantes, plus classiquement employées.*

.../...



## INTRODUCTION.

Nous décrivons ici une technique d'élevage larvaire de *Penaeus japonicus* sans apport de proies animales vivantes c'est-à-dire sans les élevages annexes de Rotifères (*Brachionus plicatilis*) et d'*Artemia salina* classiquement employés pour la nourriture larvaire de l'espèce et des pénéidés en général.

La méthode retenue pour cette réalisation procède de l'utilisation de volumes de 250 et 450 l et de l'élevage séparé d'algues unicellulaires fournies quotidiennement aux larves. Sont également apportés, en temps utile, les aliments inertes préparés séparément.

Ces travaux sont menés à Brest (France) au sein d'une équipe de recherche en Aquaculture, et il ne saurait être question, sous ce climat, d'établir une filière rationnelle d'élevage, comme cela est pratiqué au Japon, par l'emploi de grands volumes dans lesquels se réalisent des cultures algales (de type "Bloom") et où se développent, ainsi que les larves, les proies animales vivantes (FUJINAGA, 1942, 1967 ; SHIGUENO, 1975).

Selon la méthode en petits et moyens volumes classiquement employée ("Galveston method" : MOCK et NEAL, 1974), les proies animales vivantes sont utilisées dès la première mysis (souvent à partir de la dernière zoé) et pour les 3 mysis, soit environ pendant la moitié de la vie larvaire (COOK et MURPHY, 1966 ; MOCK, 1971, 1974 ; SAN FELIU, 1972, 1976 ; DURBIN et al., 1972). Ces élevages annexes d'animaux herbivores sont contraignants. Ils constituent un maillon très coûteux à produire. Ils exigent un apport considérable de nourriture vivante (algues unicellulaires) ou inerte (poudre fine de *Spirulina maxima*) à fournir quotidiennement (PERSON-LE RUYET, 1975, 1976). Ils nécessitent donc une constante main d'oeuvre pour la nutrition, l'entretien, la pêche.

En outre, les oeufs d'*Artemia salina* disponibles dans le commerce sont de qualités différentes et d'un approvisionnement difficile.

Ce sont ces raisons qui ont orienté nos efforts vers la mise au point d'une méthode d'élevage larvaire qui puisse se passer, en tout ou partie, des proies animales vivantes, tout en conservant une survie satisfaisante jusqu'après la métamorphose.

## MATERIEL ET METHODE.

La définition des techniques employées ne saurait être donnée ici dans le détail. Nous nous limiterons à la description sommaire des volumes d'élevage larvaire et à celle de la fabrication des particules inertes.

### Volumes d'élevage larvaire.

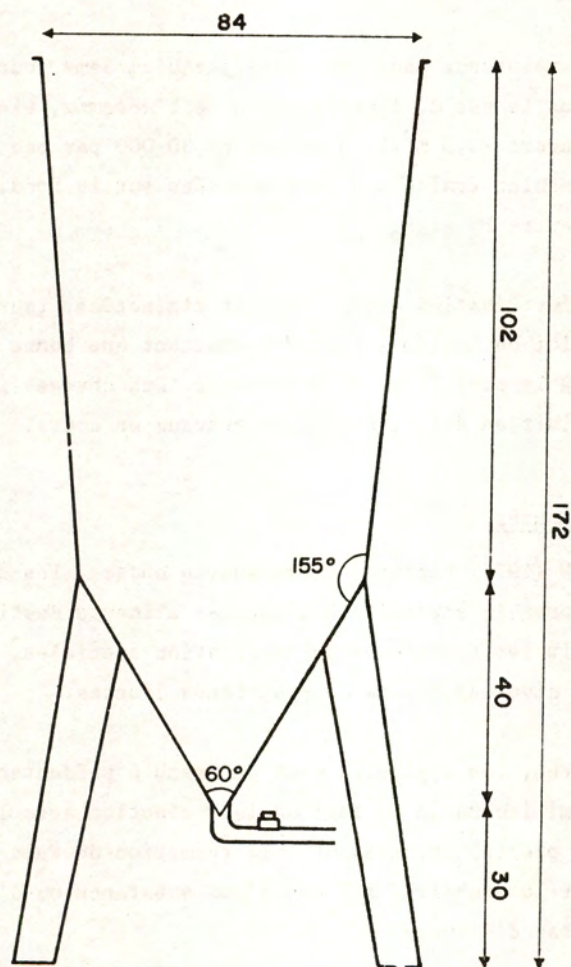
Nous avons utilisé 3 types de volumes, 250, 450 et 1 500 l. Sans qu'il soit possible de donner une explication ferme, ce sont toujours les volumes de 450 l qui ont fourni les meilleures survies. Il s'agit ici sans doute d'un problème lié à l'homogénéité des conditions

.../...



du milieu en rapport avec la dynamique de la masse d'eau, elle-même étroitement liée à la géométrie du volume.

Ces volumes de 450 l sont des cuves en polyester intérieurement revêtues d'un "gelcoat". Elles sont montées sur pieds pour permettre la pêche finale au moyen d'un concentrateur (L'HERROUX et coll., 1974) et construites telles que présentées sur la figure 1.



**FIGURE 1** : Cuve de 450 l utilisée pour l'élevage larvaire.

"L'aération-agitation" est réalisée au moyen de 7 orifices de 2 mm ouverts sur le fond dont :

- 1 orifice sur la robinetterie d'évacuation (destiné à éviter les dépôts en ce "point-bas" du volume ;
- 6 orifices répartis par 2 sur 3 rayons équidistants.

.../...



Les débits d'air sont semblables pour chaque orifice et sont réglés pour 100 l/h en tout jusqu'au stade mysis I, puis 200 l/h jusqu'à et après la métamorphose.

L'eau de mer est celle de la rade de Brest (salinité normale entre 34 et 35‰) maintenue à 24° C ( $\pm 1^\circ$  C) par la climatisation de l'air de la salle.

Il s'agit d'élevages en eau stagnante. Les renouvellements en eau s'effectuent à partir du 4<sup>ème</sup> jour puis tous les 2 jours à raison de 1/3 du volume. Dès l'utilisation des aliments inertes (mysis 3) ces renouvellements deviennent quotidiens.

Les animaux sont maintenus dans ces cuves jusqu'au 3<sup>ème</sup> jour après la métamorphose (P<sub>3</sub>)<sup>+</sup>. Ils sont ensuite, dans le cas de l'utilisation de l'*Artemia*, élevés en bacs "Ewos" de 2 m x 2 m avec un circuit ouvert (0,5 m<sup>3</sup>/h) à raison de 30 000 par bac jusqu'à leur faculté à se nourrir uniquement de moules fraîches ouvertes posées sur le fond, le passage à ce régime se faisant progressivement entre P<sub>5</sub> et P<sub>9-10</sub>.

Dans le cas de l'utilisation des particules alginatées, leur maintien en suspension exige la poursuite de l'emploi de "volumes hauts" permettant une bonne remise en suspension de la nourriture inerte jusqu'à la post-larve de 9-10 jours. Les charges initiales ne peuvent être maintenues et leur définition fait l'objet des travaux en cours.

#### Fabrication des broyats alginatés.

Le travail de NEW (1976) reprend, entre autres choses, les différents procédés qui ont été utilisés pour améliorer la stabilité à l'eau des aliments destinés aux crustacés. Ceux-ci font intervenir, soit des techniques de fabrication spéciales, soit plus simplement l'utilisation de substances diverses douées de propriétés liantes.

Parmi ces dernières, les alginates nous ont semblé présenter un intérêt évident pour les animaux élevés en milieu marin du fait de leur réaction avec les ions calcium (ceux de l'eau de mer dans ce cas précis) aboutissant à la formation de gels très stables. On peut ainsi envisager de provoquer la stabilité à l'eau d'une substance ou d'un mélange au moment de sa distribution dans le bac d'élevage.

Nous décrivons ici la technique simple que nous avons utilisée pour réaliser les microparticules alimentaires (de l'ordre de la centaine de microns).

#### - Les aliments :

Plusieurs substances naturelles, seules ou en mélange ont été testées (tableau 1).

.../...

---

+ L'on convient d'appeler P<sub>n</sub> une post-larve âgée de n jours après la métamorphose.



ALIMENTS		A	C	D
Composition (en % sec)	Moules crues	90		
	Moules ébouillantées		41,5	
	Filet de poisson blanc		41,5	81
	Huile de foie de morue		3	5
	Vitamines		4	4
	Alginates	10	10	10

TABLEAU 1 : *Composition des aliments testés.*

Ce sont les aliments D pour les larves et C pour les post-larves qui ont finalement été retenus. Essentiellement d'ailleurs pour des raisons pratiques. L'aliment A est très satisfaisant mais contraignant à fabriquer (chair de moules crues).

Les moules et les filets de poisson sont finement broyés à l'aide d'un "waring blender". Eventuellement un passage à travers une toile à bluter de 200  $\mu$  permet d'éliminer les résidus de byssus, coquilles ou arêtes. L'huile de foie de morue, les vitamines et l'alginate sont successivement ajoutés selon les cas. Il est nécessaire de poursuivre le broyage pendant une à deux minutes pour favoriser l'incorporation de microbulles et permettre l'obtention de particules ayant une densité voisine de celle de l'eau de mer.

- Appareil utilisé pour la réalisation des microparticules :

Nous avons employé une trompe à vide (démontable pour permettre un nettoyage complet) représentée sur la figure 2. L'orifice supérieur est relié à une canalisation d'air comprimé.

La pâte est injectée à l'aide d'une seringue par l'orifice latéral avec un débit voisin de 600 grammes/minute. L'orifice inférieur, par où sortent les microparticules non encore gélifiées, est placé au-dessus d'un récipient rempli d'eau de mer.

Le gel se réalise dès la rencontre avec les ions calcium de l'eau de mer. Ensuite le calibrage s'effectue par tamisage sous courant d'eau de mer.

En ajustant les débits d'air et (ou) de pâte, il est possible de déplacer le maximum de particules vers les grandes ou les petites tailles. Cependant, avec l'appareil utilisé, il existe une dispersion (de 50  $\mu$  à 1 mm) qui rend nécessaire le tamisage. Un appareillage plus sophistiqué devrait permettre vraisemblablement de pulvériser directement la pâte sur le bac d'élevage tout en obtenant des microparticules de granulométrie très voisines prêtes à être consommées par les animaux.

.../...



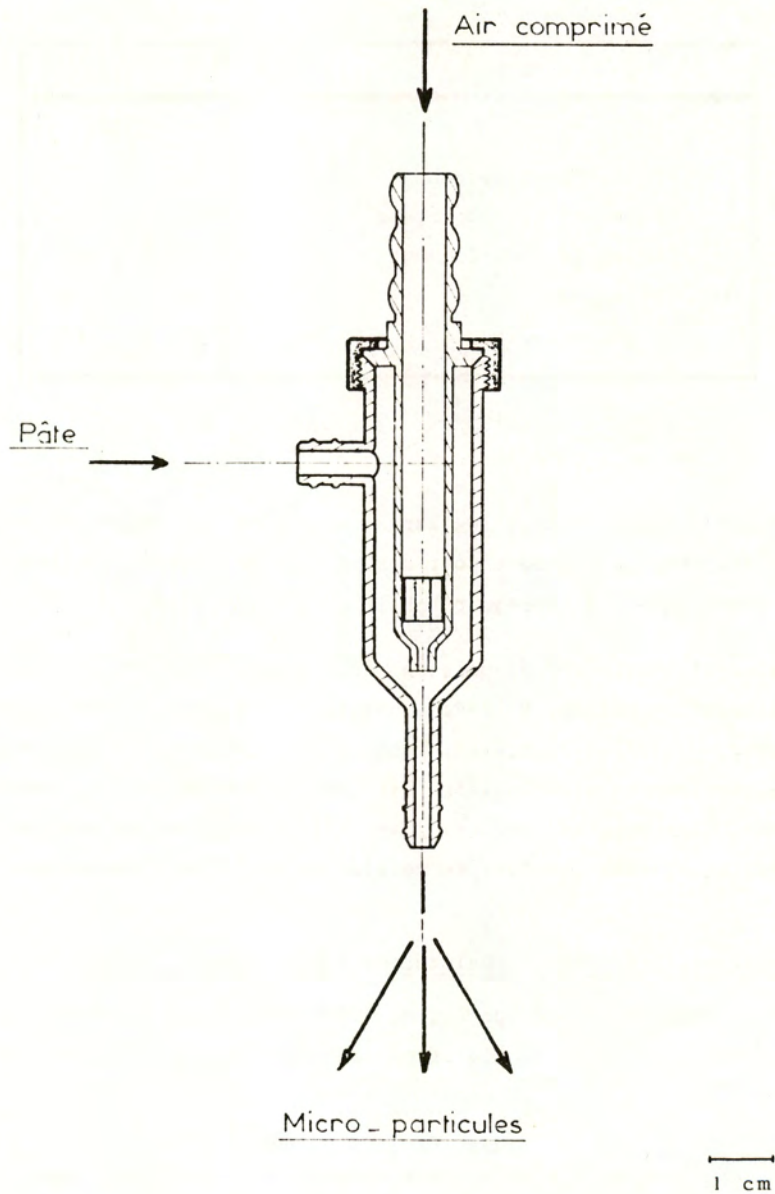


FIGURE 2 : *Trompe à vide utilisée pour la fabrication des particules alginatées.*

RESULTATS ET DISCUSSION.

Les larves élevées au COB proviennent d'oeufs de lots de géniteurs captifs dont la maturation contrôlée s'obtient par l'utilisation de thermo et photopériode variables (LAUBIER-BONICHON, 1975, 1976).

Les résultats obtenus sont nécessairement liés à l'utilisation d'un régime algal particulièrement adapté au développement des larves (*Tetraselmis suecica* (Prasinophycée),

.../...



*Phaeodactylum tricornerutum* (Bacillariophycée), *Isochrysis galbana* (Haptophycée), *Monochrysis lutheri* (Chrysophycée)). Ces résultats sont issus d'une longue série d'essais et figurent dans le tableau 2.

Jours	Stade	MONOCHRYISIS ou ISOCHRYISIS		PHAEODACTYLUM		TETRASELMIS		SOLUTION I : <i>Artemia salina</i> de 2 jours		SOLUTION II : Broyat (g/individus)		
			C/1		C/1		C/1		C/1	200-400 μ Poisson	400-600 μ Poisson	400-600 μ Poisson et Moule
1	Nauplius	300 000	2,4 10 <sup>7</sup>									
2	Zoé I	300 000	2,4 10 <sup>7</sup>	150 000	1,2 10 <sup>7</sup>							
3	Zoé I			300 000	2,4 10 <sup>7</sup>	100 000	0,8 10 <sup>7</sup>					
4	Zoé II			400 000	3,2 10 <sup>7</sup>	100 000	0,8 10 <sup>7</sup>					
5	Zoé II			400 000	3,2 10 <sup>7</sup>	200 000	1,6 10 <sup>7</sup>					
6	Zoé III			400 000	3,2 10 <sup>7</sup>	300 000	2,4 10 <sup>7</sup>					
7	Zoé III			400 000	3,2 10 <sup>7</sup>	500 000	4 10 <sup>7</sup>					
8	Mysis I			400 000	3,2 10 <sup>7</sup>	700 000	5,6 10 <sup>7</sup>					
9	Mysis II			300 000	2,4 10 <sup>7</sup>	600 000	4,8 10 <sup>7</sup>					
10	Mysis III			100 000	0,8 10 <sup>7</sup>	500 000	4 10 <sup>7</sup>	traces	ε	25 10 <sup>-5</sup>		
11	P.larve					400 000	3,2 10 <sup>7</sup>	20	1 600	50 10 <sup>-5</sup>		
12	P <sub>2</sub>					300 000	2,4 10 <sup>7</sup>	30	2 400		1 10 <sup>-4</sup>	Au-delà de PL <sub>4</sub> à PL <sub>9</sub>
13	P <sub>3</sub>							50	4 000		1 10 <sup>-4</sup>	

TABLEAU 2 : Rations alimentaires au jour le jour, par stade et par individu, pour l'élevage larvaire à 24° C de *Penaeus japonicus* en volume de 450 litres. Concentration des larves au départ : 80/litre.

Ce tableau définit pour chaque jour et pour chaque stade de la vie larvaire la nature et la quantité d'"aliments" à distribuer aux larves en élevage.

Il décrit les 2 méthodes différentes. Les rations en algues unicellulaires étant les mêmes il est possible d'utiliser :

- ou bien la solution I, c'est-à-dire l'emploi d'*Artemia salina* (de 2 jours) mais seulement pour la dernière mysis ;
- ou bien la solution II qui consiste à remplacer les *Artemia* par des particules d'une granulométrie comprise entre 200 et 400 μ (puis, pour les post-larves, entre 400 et 600 μ) obtenues à partir d'un broyat alginaté.

.../...



Le but des séries expérimentales entreprises, environ 150 expériences, était la définition d'une méthode simplifiée d'élevage larvaire. A titre indicatif, les survies moyennes, estimées à P<sub>3</sub> ont été, avec des larves issues de pontes diverses et avec l'emploi des méthodes décrites ici (cf. tableau 1), de 63 % (15 manipulations) par l'utilisation d'*Artemia salina* pour la dernière mysis et les post-larves, et de 47,6 % (15 manipulations) par l'utilisation des broyats alginatés.

Les techniques décrites ont prouvé leur efficacité pour le développement larvaire. L'emploi des aliments inertes n'est pas sans risque. En particulier la ration alimentaire doit-être, sous peine de pollution, la mieux adaptée possible, ce qui conduit à une surveillance plus étroite des volumes.

Ici la distribution s'est faite 2 fois par jour (9 h et 17 h). Une distribution continue serait certainement plus efficace. Elle reste à mettre au point et des essais sont en cours à ce sujet. Enfin l'utilisation des aliments inertes conduit à éloigner, pour le passage à l'alimentation benthique (de P<sub>3</sub> à P<sub>10</sub>), l'emploi des volumes à fonds plats. Ceux-ci ne permettent pas une mise en suspension satisfaisante de l'aliment. Les travaux actuels devraient permettre la définition d'une technologie d'élevage satisfaisante pour cette période.

Les ressources de cette technique ne sont bien évidemment pas épuisées. Les compositions de broyat sont infinies et leur utilisation envisageable pour l'élevage des larves et des juvéniles d'autres espèces d'élevage. Les premiers essais réalisés sur les larves du homard et du turbot sont encourageants.

#### BIBLIOGRAPHIE.

- COOK, H.L. and M.A. MURPHY, 1966. Rearing penaeid shrimp from egg to postlarvae. Proc. S. East Ass. Game Fish Comms, 19 : 283-288.
- DURBIN, C. Tabb., W.T. YANG, Y. HIRONO and J. MEINEN, 1972. A manual for culture of pink shrimp *Penaeus duorarum* from eggs to postlarvae suitable for stocking. Sea Grant Special Bulletin, n° 7, Feb. 1972.
- FUJINAGA (HUDINAGA), M., 1942. Reproduction, development and rearing of *Penaeus japonicus* Bate. Japanese Journal of Zoology, vol. 10, n° 2.
- FUJINAGA (HUDINAGA), M., 1967. Kuruma shrimp (*Penaeus japonicus* Bate) cultivation in Japan. FAO Fish. Rep., n° 57, vol. 3, Oct. 1967. Proceedings of the World Scientific Conference on the Biology and Culture of Shrimps and Prawns, Mexico, 1967.
- LAUBIER-BONICHON, A., 1975. Induction de la maturation sexuelle et ponte chez la crevette *Penaeus japonicus* Bate en milieu contrôlé. C.R. Acad. Sc. Paris, t. 281, série D : 2013-2016.
- LAUBIER-BONICHON, A. et L. LAUBIER, 1976. Reproduction contrôlée chez la crevette *Penaeus japonicus*. FAO Technical Conference on Aquaculture, FIR:AQ/Conf/76/E.38.



- L'HERROUX, M., J.P. FLASSCH et M. GIRIN, 1974. Dispositif pour concentrer et transporter les oeufs, larves et herbivores d'aquaculture. Colloque sur l'Aquaculture. Actes de colloques, 1, CNEOX Ed. : 69-76.
- MOCK, C.R., 1971. Shrimp culture. FAO Aquacul. Bull., 4 (1) : 20.
- MOCK, C.R., 1974. Larval culture of penaeid shrimp at the Galveston Biological Laboratory. *In* Proceedings of the First U.S. Japan Meeting on Aquaculture at Tokyo, Japan. October 18-19, 1971, William N. Shaw (Editor), NOAA Technical Report NMFS CIRC-288: 33-40.
- MOCK, C.R. and R.A. NEAL, 1974. Penaeid shrimp hatching systems. FAO/Carpas Symposium on Aquaculture in Latin America, Montevideo.
- NEW, M.B., 1976. A review of dietary studies with shrimp and prawns. Aquaculture, 9 : 101-144.
- PERSON-LE RUYET, J., 1975. Techniques d'élevage en masse d'un Rotifère (*Brachionus plicatilis* Müller) et d'un Crustacé Branchiopode (*Artemia salina* L.). 10th European Symposium on Marine Biology, Ostend, Belgium, Sept. 17-23, 1975. Vol. 1 : 331-343.
- PERSON-LE RUYET, J., 1976. Elevage larvaire d'*Artemia salina* (Branchiopode) sur nourriture inerte : *Spirulina maxima* (Cyanophycée). Aquaculture, 8 : 157-167.
- SAN FELIU, J.M., F. MUNOZ et M. ALCARAZ, 1972. Techniques d'élevage artificiel de crustacés. FAO, Colloque sur l'Aquiculture en eau saumâtre, Athènes, 1972.
- SAN FELIU, J.M., F. MUNOZ et F. AMAT, 1976. Techniques de stimulation de la ponte et d'élevage de larves de crustacés et de poissons. Etud. Rev. Cons. Gén. Pêches Méditerr., (55) : 34 p.
- SHIGUENO, K., 1975. Shrimp culture in Japan. Tokyo, Association for international technical promotion, 153 p.



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4 : 157-178.

## OBSERVATIONS SUR LA MATURATION ET LA REPRODUCTION EN CAPTIVITE DES CREVETTES PENEIDES EN MILIEU TROPICAL.

par  
AQUACOP<sup>+</sup>

Centre Océanologique du Pacifique, B.P. 7004, Taravao, Tahiti.

### RESUME.

Le développement des élevages de crevettes Pénéidés est actuellement limité par les problèmes que pose l'obtention en routine de la reproduction en captivité. En Polynésie où aucune espèce d'intérêt commercial ne se trouve à l'état naturel, cette obtention était un préalable nécessaire. Les observations effectuées au Centre Océanologique du Pacifique du CNEXO ont porté sur 6 espèces du genre *Penaeus* (*P. merguensis*, *P. aztecus*, *P. japonicus*, *P. monodon*, *P. vannamei* et *P. stylirostris*) élevées et maintenues dans des bacs extérieurs de 12 m<sup>2</sup> en circulation ouverte.

Avec des températures variant de 25 à 32°, une salinité de 35‰ et un pH voisin de 8,2, maturations et pontes s'observent toute l'année et plusieurs générations ont été obtenues : *P. merguensis*, F7 ; *P. aztecus* et *P. japonicus*, F3 ; *P. monodon*, F2 ; *P. stylirostris* et *P. vannamei*, F1. Pour *P. aztecus* et *P. monodon*, la maturation est induite par épédon-  
culation unilatérale.

Le comportement des animaux, la copulation et les signes extérieurs du développement des ovaires sont décrits. Les facteurs qui paraissent essentiels au bon déroulement du processus de maturation sont la température, l'éclaircissement, l'alimentation et l'état de santé des animaux.

Quoique la viabilité des oeufs ne soit pas encore toujours satisfaisante, il apparaît qu'il sera possible dans un proche avenir de soutenir un élevage de type commercial à partir de reproducteurs maintenus en captivité.

### ABSTRACT.

The present development of Peneid shrimp culture is limited by the problem set by the routine obtainment of reproduction in captivity. In Polynesia where no species of commercial interest is found naturally, this obtainment is a necessary prerequisite. The observations at the Centre Océanologique du Pacifique of CNEXO were made on 6 species of the genus *Penaeus* (*P. merguensis*, *P. aztecus*, *P. japonicus*, *P. monodon*, *P. vannamei* and *P. stylirostris*) raised and maintained in 12 m<sup>2</sup> outdoor tanks.

At temperatures between 25 and 32°, a salinity of 35‰ and a pH of 8.2, maturations and spawnings are seen throughout the year and several generations were obtained : *P. merguensis*, F7 ; *P. aztecus* and *P. japonicus*, F3 ; *P. monodon*, F2 ; *P. stylirostris* and *P. vannamei*, F1. For *P. aztecus* and *P. monodon* maturation is induced by unilateral eyestalk ablation.

The animals' behavior, copulation and external signs of ovarian development are described. The factors which seem essential to the proper progress of maturation are the temperature, the light intensity, the food and the state of health of the animals.

Although the viability of the eggs is not always satisfying yet, it seems that it will be possible in the near future to sustain a commercial operation depending only on captive brood stock.

.../...



+ AQUACOP, équipe d'aquaculture du C.O.P.

- Algues et mollusques : J.L. Martin, O. Millous, Y. Normant, J. Moriceau, D. Carlson, D. Gillet.
- Nutrition : G. Cuzon, A. Fevre, J. Melard, L. Mu, C. de la Pomelie, G. Fagnoni, J. Gatesoupe, P. Vilmorin.
- Contrôle et traitement de l'eau : J. Calvas, H. Bouchard, B. Couteaux.
- Pathologie : J.F. Le Bitoux, J. Robin.
- Elevage de crustacés et poissons : J.M. Griessinger, P. Hatt, M. Jarillo, F. Fallourd, T. Orth, J.P. Landret, O. Avalle, D. Amaru, A. Bennet, V. Vanaa, J. Mazurié, G. Poullaouec, D. Lacroix, B. Aufauvre, X. Sandrin, J. Goguenheim, S. Robert.
- Technologie : J.F. Virmaux.
- Responsable de l'équipe : A. Michel.



## INTRODUCTION.

Les élevages de crevettes de mer Pénéidés ont connu un essor important dans les dix dernières années. Toutefois, leur rentabilité n'est démontrée que dans des conditions d'aquaculture traditionnelle extensive où les crevettes ne constituent souvent qu'un apport secondaire, comme aux Philippines (VILLALUZ, 1972) ou encore au Japon, où la vente sur le marché d'animaux vivants (SHIGUENO, 1975) bénéficie de cours très élevés.

Si les techniques d'élevage larvaire et de grossissement sur aliments frais ou composés sont actuellement suffisamment au point pour supporter des opérations commerciales, l'approvisionnement en femelles prêtes à pondre reste le facteur limitant. Tous les élevages actuels reposent encore sur la capture en mer de ces femelles (Japon - USA - Taïwan - Philippines - Thaïlande) ou encore de post-larves (Philippines). Ces solutions présentent des inconvénients majeurs :

- difficulté de s'approvisionner toute l'année, car la saison de ponte naturelle ne dure souvent que quelques mois ;

- obligation d'entretenir un bateau et un équipage possédant une connaissance précise des lieux de pêche, ce qui grève lourdement le coût de production de la post-larve ;

- restriction géographique des élevages aux seuls lieux où les stocks naturels sont suffisants et obligation d'élever les espèces indigènes ; l'approvisionnement en post-larves à partir d'écloseries éloignées présente des aléas et se révèle être un handicap sérieux pour une opération de type commercial.

Pour ces raisons, de nombreux chercheurs ont tenté d'obtenir le cycle complet en captivité de façon à disposer à volonté du nombre de reproducteurs nécessaires à la production de post-larves.

MOCK (1971) signale que FUJINAGA a obtenu plusieurs générations de *P. japonicus* mais aucun détail quant à la méthode employée n'a été précisé. SHOKITA (1970) observe la ponte et le développement d'oeufs de *P. latisulcatus* élevées en aquarium. IDYLL (1971) provoque la maturation de *P. duorarum* par double épédonculation, sans toutefois obtenir de ponte. LIAO (1973) constate la maturation en captivité de *P. penicillatus* et *P. monodon* mais les oeufs obtenus ne sont pas viables. CAILLOUET (1973) observe la maturation de *P. duorarum* après épédonculation et MOORE *et al.* (1974) récoltent des oeufs viables de *P. californiensis* ayant mûri et pondu en captivité. AQUACOP (1975) obtient en routine des maturations et des pontes de *P. merguensis* élevées dans des bassins à fond de sable et atteint en 6 mois la deuxième génération ; dans les mêmes conditions d'élevage, quelques pontes de *P. japonicus*, *M. ensis* et *P. aztecus* donnant des oeufs viables ont été enregistrées ; pour *P. aztecus*, la maturation doit être induite par écrasement d'un pédoncule oculaire. ARNSTEIN et BEARD (1975) après épédonculation unilatérale chez *P. orientalis*, *P. monodon* et *P. occidentalis* obtiennent la maturation et la ponte, mais les oeufs non fécondés ne se développent pas. CAUBERE *et al.* (1976) obtiennent des maturations et quelques pontes de *P. japonicus* après manipulation de la photopériode et de la thermopériode. Ces travaux repris par LAUBIER-BONICHON et LAUBIER (1976)

.../...



aboutissent, dans des conditions de reproductibilité, à de nombreuses pontes d'oeufs viables. L'équipe du SEAFDEC (1976) et AQUACOP (1977) obtiennent la reproduction de *P. monodon* après épédonculation unilatérale. HANSON *et al.* (1976) signalent des résultats analogues pour *P. vannamei* et *P. stylirostris* ainsi que NEAL (1976) pour *P. aztecus*.

En Polynésie où aucune espèce d'intérêt commercial n'existe, l'obtention de la reproduction en captivité était un préalable nécessaire à tout développement d'importance. Ce texte présente les observations faites et les résultats obtenus de 1974 à 1977 sur 6 espèces du genre *Penaeus* : *P. merguensis* de Man, *P. aztecus* Ives, *P. japonicus* Bate, *P. monodon* Fabricius, *P. vannamei* Boone et *P. stylirostris*. Les données récentes d'autres auteurs sont discutées au vu de ces résultats.

#### MATERIEL ET METHODES.

Le stock initial a été constitué en Polynésie à partir de post-larves (*P. aztecus* : laboratoire NMFS de Galveston, 1973 ; *P. japonicus* : écloserie Fujinaga, Japon, 1973 ; *P. vannamei* et *P. stylirostris* : écloseries de Crystal River et de Vera Cruz de Ralston Purina, 1975), de juvéniles de 3 à 6 g (*P. merguensis*, capturés dans la mangrove de Nouvelle-Calédonie, 1973) ou encore d'adultes de 20 à 100 g (*P. monodon*, capturés dans la mangrove des Iles Fidji et de Nouvelle-Calédonie, 1975 et 1976). Ces animaux ont été transportés par avion en eau de mer dans des sacs polyéthylène gonflés à l'oxygène. Les adultes étaient préalablement emprisonnés dans un étui plastique grillagé, ce qui évite les flexions brutales de l'abdomen qui conduisent souvent à des lésions musculaires irréversibles. Toutes les crevettes utilisées par la suite sont nées en captivité au C.O.P.

L'eau d'élevage pompée dans le lagon à 5 mètres de profondeur présente au cours de l'année les caractéristiques suivantes : salinité 35‰ - température 26° à 28,5° - pH 8,2. Cette eau est très claire du fait d'une charge faible en matière organique et inorganique. Dans les enceintes d'élevage, la température varie de 25,5° en saison froide à 30° en saison chaude. L'amplitude diurne est de l'ordre de 2 à 4°. Le pH ne varie pas sensiblement (8,15 à 8,35) et l'oxygène dissous est toujours proche de la saturation. La salinité reste constante, des évacuations de surface permettant la sortie rapide de la pellicule d'eau douce après de fortes pluies.

Les crevettes sont maintenues dans différents types de bacs et bassins. Les bacs les plus utilisés sont des bacs circulaires de 12 m<sup>2</sup> construits en feuilles de polyester armé de fibre de verre (1 mm d'épaisseur) et possédant un fond de sable drainé ; l'eau circule en permanence à travers le sédiment de bas en haut (figure 1a) ; l'évacuation se fait par un filtre central ; le sédiment est constitué de sable corallien de granulométrie moyenne ou de sable de rivière noir de granulométrie fine ou encore d'un mélange des deux ; le taux de renouvellement quotidien de l'eau est de l'ordre de 200 à 300 %. Une circulation secondaire (figure 1 b) permet un nettoyage aisé des bacs.

.../...



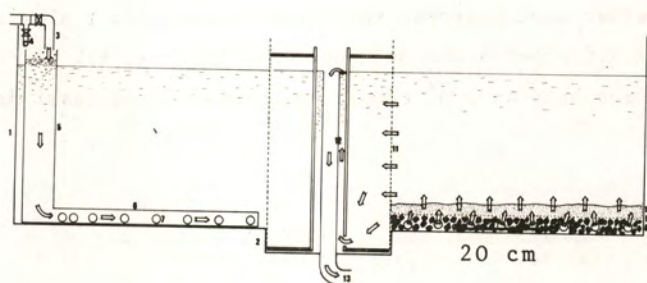


FIGURE 1 a : Coupe du bac d'élevage de 12 m<sup>2</sup> - 1-2. côtés et fonds en feuille de polyester - 3. arrivée d'eau principale - 4. arrivée d'eau secondaire - 5. tuyau vertical d'arrivée d'eau - 6. distribution de l'eau vers les drains - 7. drains semi rigides (50 mm) - 8. graviers - 9. toile de maille 1 mm - 10. sable - 11. filtre cylindrique - 12. tuyau d'évacuation.

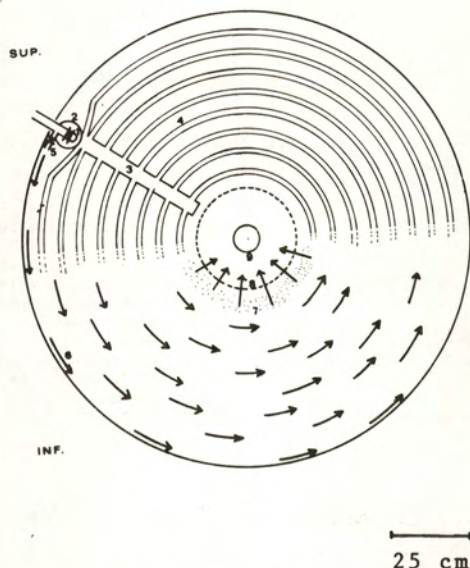


FIGURE 1 b : Bac d'élevage vue de dessus - partie supérieure : position des drains ; partie inférieure : circulation secondaire de l'eau pour nettoyage du bac. 1. arrivée d'eau principale - 2. tuyau vertical d'arrivée d'eau - 3. distribution de l'eau vers les drains - 4. drains - 5. arrivée d'eau secondaire - 6. circulation secondaire de l'eau - 7. débris rassemblés au centre - 8. filtre.

Des bacs de 1 à 2 m<sup>2</sup> sont utilisés pour suivre régulièrement des animaux en cours de maturation et plus spécialement en fin de maturation ; les conditions sont identiques à celles des bacs précédents.

Enfin, quelques observations concernent des bassins de 400 à 1 200 m<sup>2</sup> avec fond drainé ou de corail compacté ; le taux de renouvellement de l'ordre de 10 à 30 % permet au phytoplancton de se développer, ce qui produit un ombrage naturel.

Les bacs de petits volumes (1 à 12 m<sup>2</sup>) sont ombrés artificiellement par des toiles utilisées en agriculture et qui laissent passer un certain pourcentage de la lumière incidente, 30 % et 10 % suivant les modèles. Certains bacs ont été maintenus à l'obscurité totale.

.../...



Les crevettes sont nourries sur aliments composés ; plusieurs formulations avec des teneurs en protéines différentes ont été employées (tableau 1). En fin de maturation, les animaux isolés dans des bacs de 2 m<sup>2</sup> reçoivent en plus de la chair de troca frais (*Trocaniloticus*).

<u>Aliment composé japonais type Shigueno K 25</u> commercialisé par : KYOWA HAKKO KOGYO CO., LTD	<u>Aliment composé : 76.1.1.0</u> (fabriqué au C.O.P.)
Protéines : 60 % minimum	Protéines : 55 %
Lipides : 5 %	Lipides : 7 %
Cendres : 13 %	Cendres : 19 %
Ingrédients : Farine de calmar Farine de mysidacée Farine de poisson Levure sur alcanes Tourteau de soja Boue activée Gluten Amidon Vitamines Minéraux	Ingrédients : Farine de crevette Farine de poisson Concentré protéique soluble de poisson Spiruline atomisée Levure de bière Tourteau de soja Gluten de blé Huile de foie de morue Vitamines Minéraux
<u>Aliment composé : 45.1.1.0</u> (fabriqué au C.O.P.)	<u>Aliment composé : MOTOP</u> (fabriqué au C.O.P.)
Protéines : 38 %	Protéines : 47 %
Lipides : 5,5 %	Lipides : 9 %
Cendres : 9 %	Cendres : 11 %
Ingrédients : Farine de poisson Farine de crevette Farine de sang Concentré protéique soluble de poisson Tourteau de soja Tourteau d'arachide Riz blanc poli Blé entier Germe de blé Huile de foie de morue Vitamines Minéraux	Ingrédients : Farine de crevette Farine de poisson Levure sur alcanes Tourteau de soja Tourteau de coprah Lait écrémé Maïs Gluten de blé Huile de foie de morue Vitamines Minéraux

TABLEAU 1 : Aliments composés.

Les bacs de 12 m<sup>2</sup> contiennent entre 40 et 100 individus, soit 3,3 à 8,3 ind/m<sup>2</sup> ; le sex ratio est de 1/1. Les animaux ont en général entre 6 et 24 mois, ce qui correspond à des poids de 6 à 30 g pour *P. merguensis*, de 45 à 140 g pour *P. monodon*, de 20 à 45 g pour *P. vannamei*, de 50 à 70 g pour *P. stylirostris*, de 15 à 50 g pour *P. japonicus* et de 15 à 30 g pour *P. aztecus*.

Pour *P. aztecus* et *P. monodon*, la maturation doit être déclenchée par épédonculation. L'opération consiste en une énucléation unilatérale par pincement, sans sectionnement du pédoncule oculaire. Le globe de l'oeil est vidé de son contenu par pression progressive entre le pouce et l'index de l'opérateur de la zone de raccordement oeil-pédoncule.

La ponte ayant toujours lieu la nuit entre 20 h et 1 h, les crevettes sont observées le soir :

- avant le coucher du soleil, pour les espèces dont la carapace est suffisamment transparente pour autoriser un examen visuel de l'état de la gonade (*P. merguensis*,

.../...



*P. vannamei* et *P. stylirostris*). Cet examen est effectué de l'extérieur à travers la couche d'eau pour les bacs maintenus en eau claire, par plongée dans les grands bassins ;

- à la tombée de la nuit au moyen d'une lampe étanche dont le faisceau est dirigé perpendiculairement à l'abdomen pour apprécier l'opacification de la gonade dans le cas de *P. monodon* dont la carapace est très pigmentée ou encore pour *P. japonicus* et *P. aztecus* qui ne sortent du sédiment qu'à la nuit. L'état de maturation s'apprécie à la largeur, à la couleur et à la texture de la gonade. Les femelles en fin de maturation sont prélevées et examinées à la jointure du thorax et de l'abdomen.

Les individus prêts à pondre sont placés dans un bac de ponte de 500 litres à fond conique (AQUACOP, 1975). Plusieurs femelles peuvent être mises à pondre en même temps. Le lendemain matin, les oeufs sont examinés à la loupe binoculaire pour déterminer le pourcentage de fécondation et apprécier l'état de développement des nauplii avant l'éclosion.

L'ensemble des observations a porté sur quelques milliers d'individus de *P. merguensis*, quelques centaines de *P. monodon*, *P. aztecus*, *P. vannamei*, *P. japonicus* et quelques dizaines de *P. stylirostris*.

#### RESULTATS.

Toutes les espèces se sont bien adaptées aux types de bacs et bassins employés ; les animaux muent régulièrement et aucun cannibalisme n'est observé. Toutefois, le comportement vis-à-vis du sédiment et la résistance aux maladies varient largement d'une espèce à l'autre.

*P. japonicus* s'enfouit complètement et profondément pendant la journée dans les fonds de sable alors qu'elle ne supporte pas les fonds de terre ; elle n'est active que de nuit. Sa sensibilité à diverses maladies est grande : branchies noires (*Fusarium*), pleures blancs (Vibriose) (AQUACOP, 1977 b). Il est donc difficile dans ce contexte de maintenir des animaux toujours en bonne santé.

*P. aztecus* s'enfouit plus superficiellement et généralement les yeux sont apparents à la surface du sédiment ; cette espèce est également très sensible à la maladie des pleures blancs qui se produit cycliquement, détruisant chaque fois une partie du stock.

*P. merguensis* s'enfouit rarement sauf dans la vase et présente une activité importante de nuit et de jour ; elle est aussi sensible à la maladie des pleures blancs et présente régulièrement un pourcentage important d'individus avec un abdomen flasque et blanchâtre (cause inconnue).

*P. monodon* s'enfouit quelquefois à demi, mais repose le plus souvent sur le sédiment ; cette espèce est peu active de jour comme de nuit et très peu sensible aux maladies.

.../...



*P. vannamei* s'enfouit très rarement dans les fonds de sable, plus fréquemment dans les fonds de terre. Elle est aussi très résistante aux maladies.

*P. stylirostris* ne s'enfouit pas et nage activement même de jour ; un pourcentage élevé d'individus présente des abdomens déformés.

*P. monodon*, *P. vannamei* et *P. stylirostris* sont les 3 espèces qui se sont le mieux acclimatées au contexte de Tahiti, particulièrement aux fonds de bassin en terre ou de corail compacté et à la température élevée. Elles peuvent en outre être élevées dans des bassins sans sédiment.

L'apparition des caractères sexuels se fait très rapidement chez les différentes espèces et l'examen visuel permet généralement, dès 2 à 3 g de distinguer mâles et femelles. Chez les mâles, les spermatophores sont clairement visibles dès 4 à 5 g pour *P. merguensis*, à partir de 10 à 15 g pour les autres espèces. Il reste à savoir à quel moment ils deviennent réellement fonctionnels.

Le poids lors de la première maturation ovarienne varie suivant les espèces ; il est de 6 g pour *P. merguensis*, de 25 g pour *P. japonicus* et de 35 à 50 g pour *P. vannamei* et *P. stylirostris*. Après épédonculation, la maturation est plus précoce : 15 g pour *P. aztecus*, 45 g pour *P. monodon* (90 g en moyenne dans le milieu naturel), 20 g pour *P. vannamei*.

Chaque espèce présente une évolution des ovaires différente, quant à la taille, à la forme et à la couleur mais ces critères peuvent aussi varier dans une certaine mesure, d'un individu à l'autre. Cette évolution suivie sur des animaux vivants permet de distinguer 5 stades selon les signes extérieurs :

- stade 0 : gonade peu visible à l'état de fil sans turgescence ;
- stade 1 : gonade élargie, transparente, d'aspect blanchâtre, sans opacification ;
- stade 2 : élargissement important et développement de la couleur : vert pâle pour *P. merguensis*, *P. monodon*, *P. aztecus*, jaune pour *P. japonicus*, *P. vannamei* et *P. stylirostris* ; début d'opacification visible par transparence ;
- stade 3 : intensification des critères précédents ;
- stade 4 : quelques heures avant la ponte, l'ovaire prend un aspect vert pâle ou foncé pour *P. merguensis* et *P. monodon*, vert pâle pour *P. japonicus* (quelquefois rougeâtre) et *P. aztecus*, brun doré pour *P. vannamei* et *P. stylirostris*. La forme elle-même varie : on note un élargissement important avec renflement dans le premier segment thoracique et quelquefois un éclatement partiel de la gonade pour *P. merguensis* et *P. monodon*, moindre pour *P. japonicus* et *P. aztecus*. Pour *P. vannamei* et *P. stylirostris*, au contraire, l'ovaire présente une constriction importante dans le premier segment abdominal (figure 2).
- stade 5 : femelles ayant pondu, ovaire légèrement turgescent et quelquefois rougeâtre.

.../...



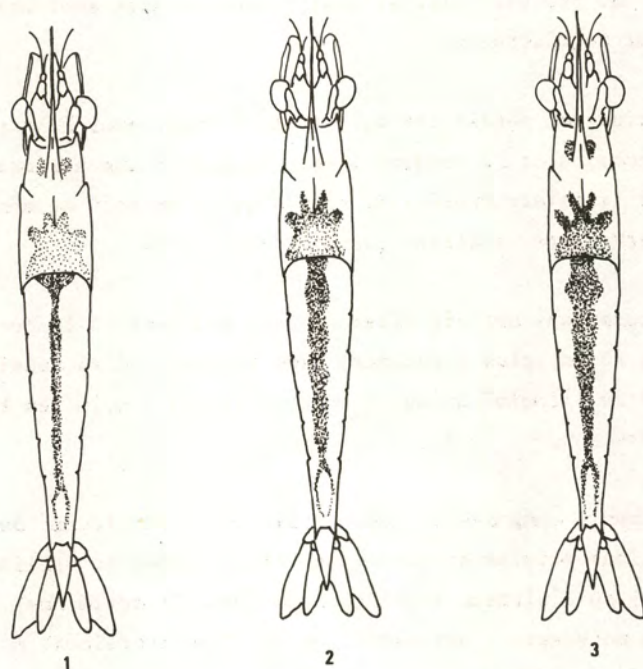


FIGURE 2 : Aspect schématique des ovaires vu par transparence juste avant la ponte.  
1. *P. vannamei* et *P. stylirostris* - 2. *P. japonicus* - 3. *P. merquiensis* et *P. monodon*.

Cette classification correspond à celle généralement utilisée pour caractériser les stades ovariens des femelles pêchées dans le milieu naturel à partir du diamètre des ovules (TUMA, 1966). La durée de la maturation est très variable suivant les individus. Elle peut être brève ou s'étaler sur plus d'une dizaine de jours. Elle est d'autant plus courte que les animaux sont en bon état et qu'ils ne subissent pas de stress. La durée minimale observée a été de 5 jours pour *P. stylirostris* et *P. monodon*. Plusieurs maturations peuvent avoir lieu entre deux mues ; des pontes à intervalle de 8 jours ont été notées plusieurs fois pour *P. stylirostris* et *P. monodon* mais il peut arriver aussi qu'aucune maturation ne soit observée entre deux mues. En mars 1976, en 3 mois, 6 femelles de *P. monodon* ont pondu 18 fois, soit 1 ponte/mois/femelle.

Après chaque ponte, l'ovaire apparaît complètement vide. Le déclenchement de la maturation n'implique pas nécessairement le développement des ovaires jusqu'à la ponte. Il est fréquent qu'arrivés aux stades 2 ou 3, on observe ensuite une régression de quelques jours. Ce phénomène peut être suivi par une reprise du développement et la ponte.

Le développement des ovaires chez *P. aztecus* et *P. monodon* ne se produit qu'après épédonculation mais la réponse est différente suivant les individus. Juste après la mue, l'épédonculation entraîne la mort de l'animal par perte importante d'hémolymphe ; en période  
.../...



de prémue, elle déclenche immédiatement la mue ; en période d'intermue, elle entraîne soit une maturation très rapide en 3 à 4 jours, soit un début de maturation, suivi d'une régression. Une femelle épédonculée peut attendre une ou deux mues avant de maturer mais l'opération est toujours suivie d'une réponse positive sauf si les animaux sont malades. Une fois opérées, les femelles rematurent régulièrement.

Maturations et pontes ont lieu toute l'année pour *P. merguensis*, *P. aztecus*, *P. japonicus*, *P. monodon* et *P. vannamei*, avec toutefois une période moins favorable pour *P. monodon* lors de la saison froide. Il semble qu'il en soit de même pour *P. stylirostris* mais les premières observations ne datent que d'octobre 1976.

Les maturations ont été obtenues dans des bacs où la densité varie de 1 à 10 ind/m<sup>2</sup>. Il semble qu'elles soient plus fréquentes dans les bacs où la densité est la plus faible et c'est à la densité de 1 ind/m<sup>2</sup> qu'ont été observées en 3 mois les 18 pontes recensées pour 6 femelles de *P. monodon*.

Les aliments composés utilisés (tableau 1) ont fourni des réponses différentes. De nombreuses maturations suivies de pontes ont été obtenues en utilisant l'aliment 45.110 (40 % de protéines) ou l'aliment type Shigueno (60 % de protéines). Par contre, un essai réalisé pendant un mois avec l'aliment MOTOP (47 % de protéines) n'a abouti qu'à des débuts de maturation suivis de régressions ; des résultats similaires ont été observés pour l'aliment 76.110 (60 % de protéines) et l'aliment type Shigueno revitaminé puis regranulé. L'apport de troca frais entier semble favoriser la fin de maturation.

Les espèces en élevage se répartissent en deux groupes suivant le moment de la copulation par rapport à la mue. Le premier groupe comprend les espèces à thelycum fermé. La copulation se produit après la mue alors qu'aucun développement des gonades n'est visible : c'est le cas de *P. merguensis*, *P. aztecus*, *P. monodon* et *P. japonicus*. La dépose des spermatophores a lieu sur chaque femelle qui vient de muer sauf si les animaux sont en mauvaise condition. Les spermatophores sont introduits à l'intérieur du thelycum, la partie contenant le sperme étant plus profonde. Au matin on observe sur les femelles de *P. merguensis*, *P. monodon* et *P. aztecus*, fécondées pendant la nuit, les restes des parties mucilagineuses des spermatophores sortant du thelycum ; ces signes externes, disparaissent en 24 heures. Pour *P. japonicus*, la partie externe des spermatophores se présente sous forme d'un "noeud papillon" assez résistant qui peut rester en place jusqu'à la mue suivante. Pour ces quatre espèces, des masses blanchâtres constituées par les spermatozoïdes se distinguent nettement sous la chitine du thelycum.

Le deuxième groupe comprend les espèces à thelycum ouvert où la copulation se produit en dehors de la mue quelques heures avant la ponte, alors que les ovaires sont déjà complètement développés ; c'est le cas de *P. vannamei* et *P. stylirostris* dont la face ventrale thoracique est simplement ornée de sculptures qui aident à la fixation des spermatophores dont l'adhérence est assurée par leurs parties glutineuses. Pour ces espèces, la copulation n'a pas toujours lieu et de nombreuses femelles pondent sans que les spermatophores aient été déposés.

.../...



La partie contenant le sperme se trouve placée à l'orifice des oviductes situés à la base de la troisième paire de pattes thoraciques des femelles. Au matin, après la ponte, il ne reste plus aucun signe de la copulation.

Il semble que le comportement sexuel lors de l'accouplement (figure 3 a) soit le même pour toutes les espèces ; l'heure seule change. Pour le premier groupe, l'accouplement se produit à l'obscurité après que les femelles aient mué, ce qui a lieu au crépuscule ou en début de nuit. Pour le deuxième groupe, l'activité sexuelle se manifeste quelque temps avant le coucher du soleil et se poursuit jusqu'à la nuit. L'ensemble du processus a été observé plusieurs fois chez *P. stylirostris*. Certains mâles commencent à nager activement dans le bac. Avec leurs écailles antennaires, ils soulèvent délicatement les femelles et les forcent à se déplacer puis les suivent en se plaçant ventralement, leurs antennules étant situées à la hauteur de la partie postérieure du thorax des femelles. Chaque couple nage de concert, le mâle effectuant des oscillations rapides de la partie antérieure du thorax et son abdomen étant légèrement arqué (phase 1). A un moment donné, le mâle se retourne et nageant sur le dos, saisit fermement avec ses pattes la carapace de la femelle et projette rapidement vers le haut la partie arrière de son thorax, l'abdomen étant alors complètement arqué (phase 2), tout en effectuant une rotation de 90° qui le place perpendiculairement à la femelle qui continue à nager (phase 3). Les spermatophores sont mis en place lors des phases 2 et 3 dont la durée est très brève : de l'ordre de quelques dizaines de secondes. Le mâle se sépare ensuite immédiatement de la femelle.

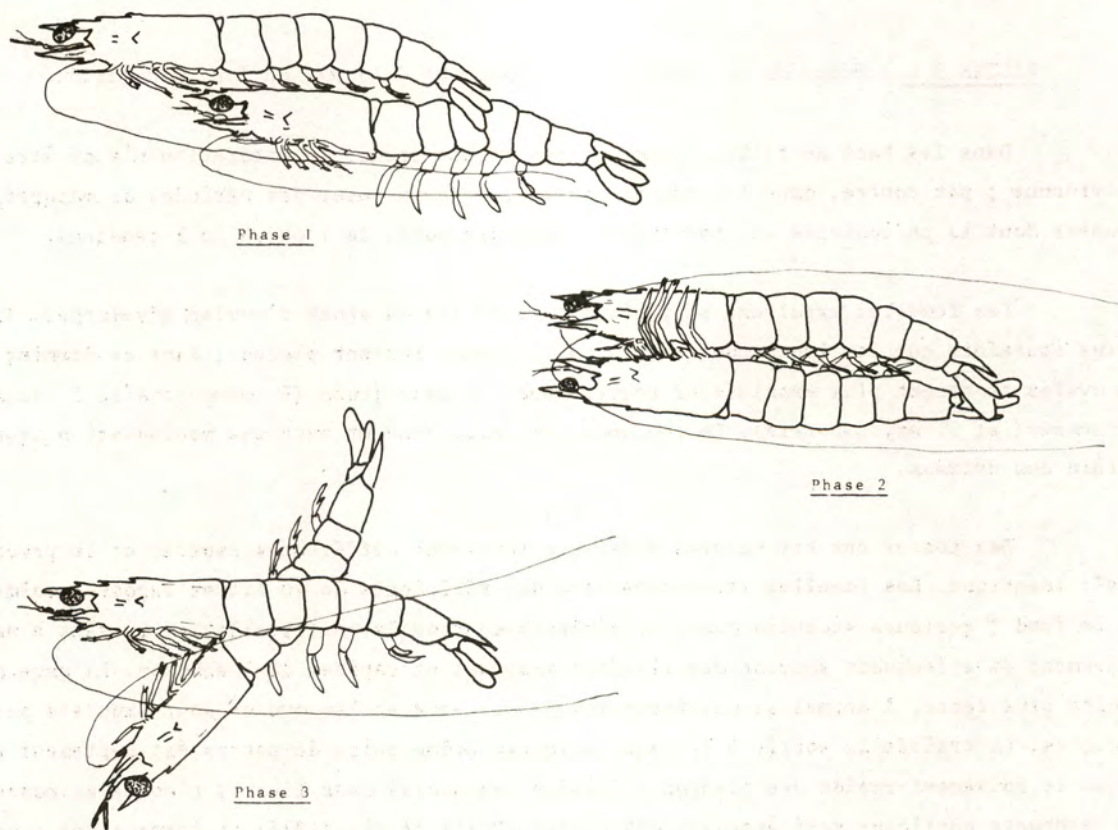


FIGURE 3 a : Accouplement chez *P. stylirostris*.

.../...



Les phases 1 et 2 ont été observées pour *P. monodon*, *P. aztecus* et *P. vannamei*. Par contre, la phase 3 semble ne se produire que chez *P. stylirostris* permettant l'insertion des ailes des spermatophores dans les sculptures thoraciques des femelles.

A noter que pour le groupe 2, seules les femelles prêtes à pondre reçoivent les spermatophores alors que le comportement sexuel, tout au moins la phase 1, se manifeste semble-t-il au hasard ; certains mâles poursuivent des femelles non matures ou encore d'autres mâles. Il arrive aussi que par suite de heurts contre les parois ou contre d'autres animaux lors de l'accouplement, les spermatophores soient déposés sur l'abdomen ou sur les pléopodes. Le déclenchement de l'activité sexuelle semble être en relation avec l'intensité de la lumière. Il se produit beaucoup plus tôt les jours où le ciel est couvert.

La figure 3 b situe la copulation par rapport à la mue et aux diverses maturations possibles.

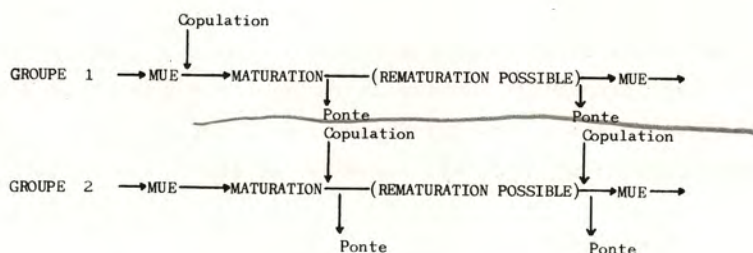


FIGURE 3 b : Place de la copulation par rapport à la mue et à la maturation.

Dans les bacs de faible volume, aucun rythme précis de maturation n'a pu être mis en évidence ; par contre, dans les grands bassins, on a pu noter des périodes de maturation groupées dont la périodicité est voisine de celle des mues, de l'ordre de 3 semaines.

Les femelles expulsent en général la totalité du stock d'ovules développés. Il arrive toutefois que les lobes postérieurs de l'abdomen restent pleins ; dans ce dernier cas, les ovules ne seront plus expulsés et régresseront en deux jours (*P. merguensis*, *P. aztecus*, *P. vannamei* et *P. stylirostris*). Ce phénomène coïncide souvent avec une manipulation trop brutale des animaux.

Des pontes ont été suivies plusieurs fois pour différentes espèces et le processus paraît identique. Les femelles maintenues dans des récipients de 10 litres reposent calmement sur le fond ; quelques secondes avant le déclenchement de la ponte, elles se mettent à nager activement et effectuent souvent des flexions brusques et rapides de l'abdomen. La nage devient ensuite plus lente, l'animal se maintient entre deux eaux et les ovules sont expulsés par les oviductes. La traînée de sortie à la base de la troisième paire de pattes est nettement visible et le mouvement rapide des pléopodes dissipe les ovules dans l'eau ; c'est à ce moment que les bâtonnets corticaux sont expulsés des ovules (CLARK *et al.*, 1976) et forment une couche

.../...



périphérique qui se dissout (moins d'une minute pour *P. merguensis*) très rapidement avec l'apparition de la membrane d'éclosion. Il arrive parfois, probablement à la suite de stress dus aux manipulations que la femelle pond en restant immobile sur le fond ; dans ce cas les ovules se groupent en amas et la couche formée par l'expulsion des bâtonnets corticaux ne se dissout pas : le lendemain matin, les oeufs présentent toujours une auréole gélatineuse. Ce phénomène se produit aussi dans le cas où la femelle pondant normalement, les oeufs se rassemblent en amas en raison de la petitesse du récipient ; une agitation artificielle permet de pallier cet inconvénient.

Les femelles placées en bacs de ponte et laissées au contact des oeufs en mangent une partie, ce qui se concrétise par la présence de granules caractéristiques dans leurs fèces. Le diamètre des oeufs se situe entre 230 microns et 260 microns pour *P. monodon*, *P. merguensis*, *P. japonicus* et *P. aztecus* ; il avoisine 220 pour *P. vannamei* et *P. stylirostris*.

La couleur varie suivant les espèces et les pontes : blanc ou vert clair pour *P. monodon*, vert gris pour *P. merguensis*, vert jaune pour *P. japonicus*, bleuâtre pour *P. aztecus*, légèrement rougeâtre pour *P. stylirostris* et *P. vannamei*.

Les premières pontes ont été obtenues à partir de 6 g pour *P. merguensis*, de 25 g pour *P. japonicus*, de 15 g pour *P. aztecus*, de 50 g pour *P. monodon*, de 20 g pour *P. vannamei*, de 60 g pour *P. stylirostris*. Le nombre d'oeufs pondus varie suivant l'espèce et le poids des femelles : 5 000 oeufs pour une femelle de 6 g de *P. merguensis* à 600 000 oeufs pour des femelles de *P. monodon* dépassant 100 g (tableau 2) ; il varie aussi suivant les individus qui, à poids égal, peuvent présenter des ovaires plus ou moins larges (variation pouvant atteindre 30 %). Plusieurs dizaines de millions d'oeufs ont été obtenues pour *P. merguensis* et *P. monodon*, plusieurs millions pour *P. vannamei* et *P. stylirostris*, quelques centaines de mille pour *P. japonicus* et *P. aztecus*.

	Introduction		FEMELLES				PONTE		Nombre de générations
			Poids à la 1ère maturation (g)		Echelle de poids (g)	Age (mois)	Nombre d'oeufs x 10 <sup>3</sup>	Viabilité	
	♀ épédonculée	♀ non épédonculée							
<i>P. merguensis</i>	1973	Juveniles	3,5	6	6 - 35	6 - 18	5 - 100	Bonne	7
<i>P. aztecus</i>	1973	Post-larves	15		15 - 32	9 - 18	30 - 60	Moyenne	3
<i>P. japonicus</i>	1973	Post-larves		25	25 - 50	9 - 15	30 - 60	Bonne	3
<i>P. monodon</i>	1975	Adultes	45		45 - 140	8 - 24	70 - 600	Moyenne	2
<i>P. vannamei</i>	1975	Post-larves	20	35	20 - 45	8 - 20	50 - 100	Mauvaise	1
<i>P. stylirostris</i>	1975	Post-larves	50	65	50 - 70	8 - 16	100 - 250	Mauvaise	1

TABLEAU 2 : Récapitulatif des résultats obtenus.



Ces oeufs ne donnent pas tous des nauplii : le lendemain de la ponte, l'examen à la loupe binoculaire montre (figure 4) :

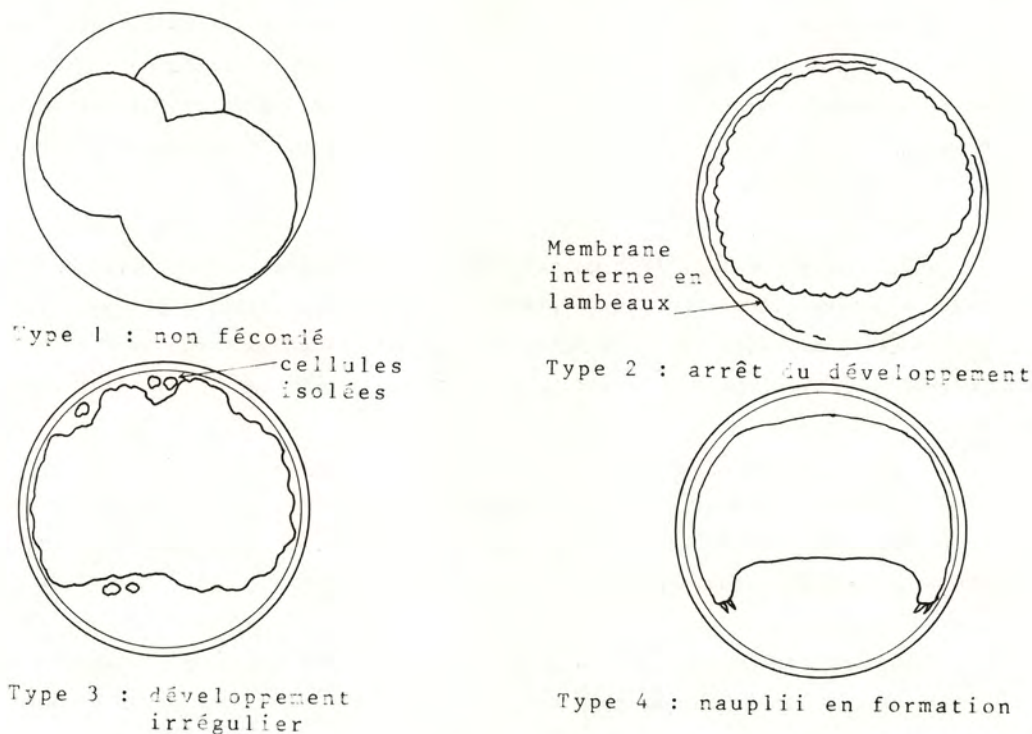


FIGURE 4 : Différents aspects des oeufs.

- Des oeufs non fertilisés qui se caractérisent par la présence d'une à plusieurs grosses cellules inégales (type 1).

- Des oeufs fertilisés où le développement embryonnaire s'est arrêté, souvent au stade morula. La membrane interne brisée n'apparaît plus que sous forme de lambeaux ; aucune éclosion (type 2).

- Des oeufs où la forme des nauplii apparaît, mais où le développement est anormal : prolifération de cellules plus ou moins importantes en certains endroits entraînant des dissymétries et présence de cellules isolées à l'intérieur de l'oeuf (type 3). Beaucoup d'embryons de ce type meurent dans l'oeuf, certains éclosent sous la forme de monstres ou, si le corps semble normal, avec les soies des différents appendices cassées et déformées. Ces nauplii nagent difficilement et se rassemblent mal à la lumière, ce qui permet de les séparer en partie des nauplii sains.

- Des oeufs où le développement est normal ; les embryons apparaissent bien symétriques, les soies des appendices sont longues et bien fournies (type 4), l'éclosion est bonne et les nauplii nagent activement.

Le pourcentage moyen d'oeufs normaux dépasse 50 % pour *P. merguiensis* et *P. japonicus*, il est nettement inférieur pour *P. monodon* et *P. aztecus* et de quelques unités seulement

.../...



jusqu'à présent pour *P. stylirostris* et *P. vannamei*. Pour les individus d'une même espèce, la gamme de variation va de 0 à 95 % pour les espèces à thelycum fermé, de 0 à 20 % pour les espèces à thelycum ouvert. Dans le cas de *P. stylirostris* et *P. vannamei*, c'est de loin les oeufs non fertilisés qui sont prédominants. Par contre, pour *P. monodon* dont les pontes ont été plus spécialement étudiées, ce sont les développements anormaux qui sont les plus fréquents et beaucoup de nauplii qui éclosent ne dépassent pas le stade zoé I. Le pourcentage de développements anormaux paraît en relation avec le traitement qu'ont subi les femelles en fin de maturation. D'octobre 1976 à avril 1977, les oeufs obtenus à partir d'animaux sortis juste avant la ponte des bacs de 12 m<sup>2</sup> étaient le plus souvent du type 2, alors que les femelles placées en bac de 2 m<sup>3</sup>, 1 à 3 jours avant la ponte, présentaient des oeufs des types 2, 3 et 4, le pourcentage d'oeufs viables paraissant d'autant plus élevé que la femelle était restée plus longtemps dans ces bacs. Ce résultat récent devra être confirmé.

Lors des élevages larvaires, la survie, à partir du stade zoé se révèle d'autant meilleure que les oeufs de type 4 sont les plus nombreux.

Les premières crevettes produites ont été élevées dans des grands bassins jusqu'à la taille adulte, puis replacées en bacs de 12 m<sup>2</sup> où elles se sont à leur tour reproduites en captivité. Actuellement, plusieurs générations ont été obtenues (tableau 2). Leur nombre reflète à la fois le temps nécessaire pour obtenir un cycle complet en captivité et le temps écoulé depuis l'introduction de l'espèce : 7ème génération pour *P. merguensis* qui se reproduit au bout de 6 mois (première ponte en 1973) ; 3ème génération pour *P. japonicus* et *P. aztecus* qui se reproduisent après 9 à 12 mois (premières pontes en 1974) ; 2ème génération pour *P. monodon* qui se reproduit au bout de 9 mois (première ponte en novembre 1976) ; 1ère génération pour *P. vannamei* et *P. stylirostris* dont l'introduction est plus récente (premières pontes obtenues en octobre 1976). Les pontes obtenues d'une génération à l'autre paraissent identiques quant au nombre d'oeufs et au pourcentage de développements normaux.

#### DISCUSSION.

Les observations et les résultats précédents montrent que le processus de maturation des femelles élevées en captivité ne peut se déclencher et arriver à son terme normal, la ponte, que si un ensemble de conditions est réuni concernant : les paramètres physico-chimiques de l'eau d'élevage (température, lumière, salinité, pH) ; l'alimentation ; l'âge, la taille, la densité et l'état de santé des crevettes. Pour certaines espèces, il faut en outre agir au niveau hormonal par épédonculation unilatérale.

CAUBERE *et al.* (1976) et LAUBIER-BONICHON et LAUBIER (1976) ont montré l'importance de la température sur la maturation de *P. japonicus*. Il apparaît que dans les bacs où l'eau est élevée progressivement à la température qui correspond à celle enregistrée lors des périodes de pontes naturelles, les femelles mûrissent et pondent ; si l'on maintient cette température, les animaux continuent à mûrir quelque soit la période de l'année. Dans les conditions tropicales et en particulier en Polynésie, les températures de 25° à 30° C permettent d'obtenir des maturations toute l'année. Il semble toutefois que l'optimum soit différent suivant

.../...



les espèces ; c'est ainsi que *P. monodon* mature peu en dessous de 26°C et que *P. merguensis* en Nouvelle-Calédonie arrête de murer au-dessous de 22°C. L'influence de la photopériode paraît moins nette ; LAUBIER-BONICHON et LAUBIER (1976) obtiennent des résultats similaires dans les bacs où la durée d'éclairement est différente (12, 14 et 16 heures) et des maturations complètes ont été obtenues au C.O.P. pour des animaux maintenus à l'obscurité. La lumière doit agir différemment suivant que les espèces s'enfouissent ou non et c'est plus son intensité que sa durée qui paraît primordiale. L'éclairement solaire direct des bacs en eau claire semble nuire à la maturation d'où l'emploi systématique de toiles ombrage. Il est possible que la lumière n'intervienne pas directement et agisse seulement en maintenant les crevettes en meilleure santé ; les *P. merguensis* par exemple, placées dans des bacs recouverts d'une toile ombrage coupant 90 % de la lumière se répartissent au hasard sur le fond alors que sans ombrage ou avec une toile coupant 70 % de la lumière seulement, elles ont tendance à toutes se rassembler à l'ombre des bords du bassin et à se déranger entre elles.

WICKINS (1976) signale que les maturations en captivité de Pénéidés ayant conduit à des oeufs viables ont été obtenues dans une eau à forte caractéristique océanique. C'est le cas de Vairao : l'eau du lagon a pratiquement toujours la même composition que l'eau du large (salinité de 35‰ et pH de 8,2) et le fort renouvellement dans les bacs maintient ces caractéristiques ; toutefois, l'obtention de maturations dans des bassins de plus grande superficie où l'eau, plus faiblement renouvelée peut voir ses caractéristiques se modifier semble montrer que cette condition n'est pas obligatoire. WICKINS (1976) a d'ailleurs obtenu pour *P. merguensis* des pontes viables à partir d'animaux élevés en circuit fermé.

La qualité des aliments fournis est essentielle. CAUBERE *et al.* (1976) et LAUBIER-BONICHON et LAUBIER (1976) utilisent des organismes marins frais : crabes et moules, distribués "ad libitum". Au C.O.P. certains aliments composés ont permis d'obtenir des maturations régulières alors que dans les mêmes conditions d'autres aliments n'ont donné aucun résultat. Il est difficile actuellement de relier avec certitude la teneur en protéines et la maturation et il est fort possible que l'aliment agisse au niveau d'autres composants, en particulier les lipides. La dégradation de certaines substances lors de la regranulation de l'aliment K25 pourrait expliquer l'arrêt de maturation constaté alors que la formule brute était restée inchangée. Les résultats récents sur *P. monodon* indiquent que les trocas frais apportés en fin de maturation pourraient avoir un effet important sur la viabilité des oeufs ; il est possible que ce soit l'ingestion des gonades de ces mollusques qui provoquent cet effet. Ce résultat est à rapprocher de ceux obtenus sur *P. japonicus* nourries sur moules fraîches (LAUBIER-BONICHON et LAUBIER, 1976) dont les gonades sont le plus souvent matures.

Il faut que les crevettes aient atteint un certain poids pour que l'accouplement se produise et que la maturation se déclenche. Ce poids variable suivant les espèces correspond à des animaux de 6 à 10 mois. Les mâles présentent un comportement sexuel (essai d'accouplement) avant cet âge mais ils sont alors incapables de déposer leurs spermatophores. CLARK (1976) signale que si les chercheurs ont prêté beaucoup d'attention aux femelles et au développement ovarien, peu de choses sont connues sur les mâles et sur le moment où ils deviennent féconds. Un sex ratio de 1/1 semble suffisant pour assurer une fécondation régulière des

.../...



femelles des espèces à thelycum fermé. Pour les autres, il est possible qu'un nombre plus élevé de mâles soit nécessaire, eu égard à la difficulté qu'ont les mâles à féconder les femelles. Pour *P. vannamei* et *P. stylirostris*, le dépôt des spermatophores, uniquement sur les femelles prêtes à pondre, semble indiquer la détection par les mâles d'une substance ectocrine. Cette substance pourrait être émise par l'oviducte et détectée par les organes sensoriels des fouets antennulaires qui se placent lors de la phase 1 de l'accouplement au niveau des pattes thoraciques arrières de la femelle. Pour ces deux espèces le comportement sexuel se déclenche quotidiennement quand l'intensité lumineuse diminue et il apparaît possible en contrôlant ce facteur d'augmenter artificiellement la période d'activité sexuelle favorisant ainsi les chances de fécondation réussie.

La densité paraît aussi avoir une influence puisque les maturations les plus nombreuses sont obtenues pour *P. monodon* à des densités inférieures à 3 individus par m<sup>2</sup>, les femelles en maturation peu actives et s'enfouissant à demi seraient moins dérangées par leurs congénères.

Il est certain qu'un bon déroulement de la maturation demande des animaux en bonne santé ; cet état se juge à l'absence d'attaques bactériennes chitinolytiques sur la carapace, à l'intégrité des fouets antennulaires et antennaires et à la pigmentation de l'animal. Dès que les animaux s'affaiblissent en raison de la détérioration du milieu d'élevage (salissure des bacs), d'un défaut d'alimentation (mauvaise tenue à l'eau, etc...), ou de maladies l'accouplement ne se produit plus et aucune maturation ne s'observe. Ceci explique les faibles nombres de pontes enregistrés pour *P. aztecus* et *P. japonicus* qui, dans nos conditions d'élevage, sont très souvent malades.

Il serait idéal de pouvoir disposer d'un critère permettant de juger à coup sûr de l'état de maturité d'une crevette et de l'imminence de la ponte. Pour *P. vannamei* et *P. stylirostris*, la couleur brun doré de l'ovaire, clairement visible sans sortir la crevette de l'eau, indique que la ponte aura lieu le soir même ; on dispose en outre pour ces deux espèces d'un autre critère qui est la présence du spermatophore, les mâles ne fécondant que les femelles prêtes à pondre. Par contre, pour *P. aztecus*, *P. monodon*, *P. merguensis* et *P. japonicus*, la couleur est très sujette à caution car elle varie souvent d'un individu à l'autre. Il semble que les conditions de captivité entraînent des variations de couleurs plus importantes que celles observées pour les femelles capturées dans le milieu naturel (BROWN et PATLAN, 1974). Pour ces espèces, c'est donc surtout la largeur de la gonade dans le premier segment thoracique et la compression des lobes céphaliques postérieurs observés au niveau de la jointure abdomen-thorax qui permet une bonne sélection. La texture apparaît le plus souvent granuleuse mais son appréciation est difficile. C'est en fait l'expérience acquise par le personnel chargé du suivi des animaux qui permet de réduire les manipulations et d'isoler à coup sûr les crevettes prêtes à pondre.

En captivité, une maturation complète se déroule toujours entre deux mues et l'exuviation n'a jamais été observée sur des animaux dont les ovaires sont développés. Les variations importantes dans la durée du développement des ovaires et les régressions suivies

.../...



de reprise de maturation montrent que les crevettes Pénéidés sont capables de mobiliser très rapidement leurs réserves de l'hépatopancréas ou encore de les restocker. Cette faculté qu'ont les ovaires de régresser semble disparaître dans les 48 heures qui précèdent la ponte ; le développement devient irréversible sauf en cas de traumatisme majeur. Le développement des ovaires se reproduit le plus souvent à chaque cycle de mue et laisse supposer qu'une crevette a des chances de maturer plus de 10 fois par an. Pour *P. monodon* c'est donc 4 à 5 millions d'oeufs qui pourraient être obtenus par femelle.

L'épédonculation chez les crustacés provoque une modification de l'équilibre hormonal en particulier des rapports de synergie ou d'antagonisme entre l'hormone inhibitrice de la mue, l'hormone inhibitrice des gonades, l'hormone de mue et l'hormone de stimulation des gonades (ADIYODI et ADIYODI, 1970). Les réponses toujours positives obtenues pour *P. monodon* et *P. aztecus* semblent prouver que cette opération déclenche définitivement la maturation puisque celle-ci a lieu ensuite régulièrement. Pour les autres espèces, la levée d'inhibition se ferait naturellement. CLARK (1976) pense que c'est au niveau des pédoncules que serait synthétisé un polypeptide qui supprimerait la mise en circulation ou la production d'un stéroïde, essentiel dans le développement ovarien ; le niveau de ce polypeptide serait réduit directement par l'ablation du pédoncule ou par la modification de stimuli externes qui pourraient être d'origine lumineuse. Cette dernière hypothèse serait confirmée par les maturations obtenues aussi bien sur des femelles dont tout le pédoncule a été sectionné accidentellement que sur celles dont seul le globe oculaire a disparu. Dans ce dernier cas, il paraît en effet probable que les glandes pédonculaires gardent en partie leur capacité de sécrétion. A noter que la reproduction des Pénéidés dans le milieu naturel se fait dans des eaux relativement profondes de 30 à 80 mètres où la lumière est très faible et de longueur d'onde différente. La technique d'épédonculation souvent pratiquée (IDYLL, 1971 ; CAILLOUET, 1973 ; ARNSTEIN et BEARD, 1975) n'avait jusqu'aux travaux d'AQUACOP (1975) sur *P. aztecus*, pas donné d'oeufs viables. Elle ne semble donc être efficace que si d'autres conditions sont en même temps réunies. La double épédonculation, conduit généralement à un développement très important des ovaires mais perturbe l'équilibre hormonal puisque la mue se produit sans que la ponte ait eu lieu. Les réponses différentes observées sur un lot de plusieurs femelles épédonculées en même temps peuvent s'expliquer par le fait que les animaux opérés ne sont pas au même stade de leur cycle d'intermue. La réponse ne serait immédiate qu'au stade où l'animal stocke des réserves dans son hépatopancréas. L'observation des régressions fréquentes, quand elles ne sont pas dues à des manipulations, pourrait provenir d'une désynchronisation des hormones de mue et de maturation ; les maturations débuteraient au hasard et seules, celles qui se déclencheraient au stade favorable, auraient des chances, les réserves de l'hépatopancréas étant suffisantes, d'arriver à leur terme. La validité de cette technique d'épédonculation unilatérale a été confirmée par les travaux récents d'autres équipes qui ont obtenu des pontes viables pour *P. monodon* (SEAFDEC, 1976), *P. aztecus* (NEAL, 1976), *P. vannamei* et *P. stylirostris* (HANSON et al., 1976). L'épédonculation permet aussi de déclencher plus précocement la maturation. Pour *P. vannamei*, cette différence a été très nette puisque les femelles épédonculées ont mûri dès 20 g, alors qu'il a fallu attendre que les femelles non épédonculées atteignent 35 à 40 g.

.../...



Les procédés de fertilisation *in vitro* développés par CLARK *et al.* (1973) pour *P. aztecus* sont particulièrement intéressants car ils ouvrent la voie à des techniques d'hybridation ; les essais effectués en ce sens au C.O.P. sont pour l'instant négatifs.

Au cours des générations successives obtenues pendant des années, en particulier pour *P. merguensis*, au cours de croisement frères-soeurs, aucune modification n'a été décelée au niveau du nombre d'oeufs pondus et de leur viabilité.

Le pourcentage élevé d'oeufs ne donnant pas de nauplii ou fournissant des nauplii mal formés qui ne dépassent pas le stade zoé relève d'autres causes. Pour *P. vannamei* et *P. stylirostris*, il semble s'agir en grande partie d'une non fertilisation ; les spermatozoaires ont d'une part une adhérence faible entraînant souvent leur décollement lors des manipulations et d'autre part sont souvent mal positionnés lors de l'accouplement ce qui empêche les ovules de venir au contact du sperme. Pour *P. monodon*, les oeufs sont généralement fertilisés et le problème se situe au niveau des femelles ; en effet, l'accouplement a lieu avant le développement des ovaires et l'issue est différente selon que les femelles mûrissent complètement en bacs de 12 m<sup>2</sup> ou sont isolées en fin de maturation en bacs de 2 m<sup>2</sup>. La cause serait donc à rechercher dans une modification chimique déclenchée par le changement d'intensité lumineuse ou l'apport dans la nourriture de mollusque frais. L'action pourrait se situer au niveau des membranes de l'oeuf lors de la réaction corticale ; CLARK *et al.* (1973) signalent en effet la nécessité de certains ions pour que cette réaction se déroule normalement.

La découverte du mécanisme exact de l'évolution des ovules en fin de développement devrait permettre en agissant à ce niveau d'obtenir un pourcentage élevé de larves se développant normalement.

Pour assurer une production de 100 tonnes de crevettes (20 g de poids moyen) avec une survie de 50 % entre P1 et la taille adulte, il faudrait pouvoir disposer de 10 millions de post-larves, ce qui implique d'obtenir 40 millions d'oeufs par an en comptant sur une survie de 50 % lors de l'élevage larvaire et sur un taux d'oeufs viables de 50 %. Pour *P. monodon*, cette production devrait être atteinte facilement avec 2 bacs de 12 m<sup>2</sup> contenant chacun 20 femelles de 100 g. Il est bien certain que l'investissement à consentir est très réduit en regard de ce que coûte l'entretien et le fonctionnement d'un bateau spécialement chargé de collecter des femelles matures dans le milieu naturel.

#### CONCLUSION.

Les connaissances fragmentaires sur les mécanismes hormonaux (FARGES, 1973) qui règlent l'équilibre entre les deux événements majeurs de vie d'un crustacé, mue et développement des gonades, obligent à aborder la reproduction en captivité d'une façon empirique. L'approche consistant à maintenir les animaux dans des conditions de température et d'éclairage voisines de celles rencontrées lors des périodes de pontes, dans le milieu naturel ne se révèle efficace que pour certaines espèces : *P. merguensis*, *P. japonicus*, *P. vannamei* et *P. stylirostris*. Pour d'autres, l'équilibre hormonal doit être modifié par une action au

.../...



niveau des glandes du pédoncule oculaire. Il est possible que l'épédonculation pratiquée puisse être remplacée par un contrôle précis de l'intensité et de la qualité de l'éclairage, la régulation hormonale étant probablement sujette à des stimuli lumineux.

Les travaux réalisés au C.O.P. depuis 1973 ont abouti à l'obtention de la reproduction en captivité, dans des bacs de faible superficie pour 6 espèces du genre *Penaeus* dont cinq font actuellement l'objet d'élevages dans différentes parties du monde. Maturations et pontes se produisent toute l'année dans de bonnes conditions de reproductibilité.

La viabilité des oeufs, convenable pour *P. merguensis* et *P. japonicus* devra être améliorée pour *P. monodon*, *P. vannamei* et *P. stylirostris* en agissant sur la période de fin de maturation.

Ces résultats et ceux obtenus ces dernières années en différents laboratoires laissent à penser que des élevages commerciaux pourront, dans un très proche avenir, subvenir à leur besoin en post-larves à partir d'un petit nombre de reproducteurs gardés en captivité.

#### BIBLIOGRAPHIE.

- ADIYODI, K.G. and R.C. ADIYODI, 1970. Endocrine control of reproduction in decapod crustacea. Biological Review, 45 : 121-165.
- AQUACOP, 1975. Maturation and spawning in captivity of Penaeid prawns *Penaeus merguensis* de Man, *Penaeus japonicus* Bate, *Penaeus aztecus* Ives, *Metapenaeus ensis* de Haan, and *Penaeus semisulcatus* de Haan. Proceedings of the Sixth Annual Meeting World Mariculture Society, 6 : 123-132.
- AQUACOP, 1977 a. Reproduction in captivity and growth of *P. monodon* Fabricius in Polynesia. Présenté à la 8ème réunion de la World Mariculture Society.
- AQUACOP, 1977 b. Observations on diseases of Crustacean cultures in Polynesia. Présenté à la 8ème réunion de la World Mariculture Society.
- ARNSTEIN, D.R. and T.W. BEARD, 1975. Induced maturation of the prawn *Penaeus orientalis* (Kishinouye) in the laboratory by means of eyestalk removal. Aquaculture, 5 : 411-412.
- BEARD, T.W., J.F. WICKINS and D.R. ARNSTEIN, 1977. The breeding and growth of *Penaeus merguensis* de Man in laboratory recirculating systems. Aquaculture, 10 : 275-289.
- BROWN, R. Jr. and D. PATLAN, 1974. Color changes in the ovaries of penaeid shrimp as a determinant of their maturity. Marine Fisheries Review, 36 (7) : 23-26.
- CAILLOUET, C.W., Jr., 1973. Ovarian maturation by eyestalk ablation in pink shrimp *Penaeus duorarum* Burkenroad. Proceedings 3rd Annual Workshop of the World Mariculture Society, 3 : 205-225.

.../...



- CAUBERE, J.L., R. LAFON, F. RENE et C. SALES, 1976. Maturation et ponte chez *Penaeus japonicus* en captivité. Essai de contrôle de cette reproduction à Maguelone dans les côtes françaises. F.A.O. Technical Conference on Aquaculture, Kyoto, Japan. (sous presse).
- CLARK, W.H., P. TALBAT, R.A. NEAL, C.R. MOCK and B.R. SALSER, 1973. In vitro fertilization with non motile spermatozoa of brown shrimp *P. aztecus*. Marine Biology, 22 : 353-354.
- CLARK, W.H., A. YUDIN, W.J. LYNN and A. PERSYN, 1975. The cortical reaction in the egg of the Penaeid shrimp. Présenté au Symposium International sur la Physiologie de la Reproduction chez les Invertébrés. Calicut University.
- FARGES, G., 1973. Recherches sur le pédoncule oculaire (Diogenides) et le protocerebran (Porcellanides) chez 5 espèces d'anamoures. Doctor Thesis in animal biology. U.S.T.L. Montpellier. 138 p.
- HANSON, J.A., J.E. HUGUENIN and H.L. GOODWIN, 1976. Marine shrimp farming in the Americas. The Oceanic Institute Waimanolo Hawai, 108 p.
- IDYLL, C.P., 1971. Induced maturation of ovaries and ova in Pinck shrimp. Commercial Fisheries Review, 33 (4) : 20 p.
- LAUBIER-BONICHON, A. et L. LAUBIER, 1976. Reproduction contrôlée chez la crevette *Penaeus japonicus*. F.A.O. Technical Conference on Aquaculture, Kyoto, Japon. (sous presse).
- LIAO, C.I., 1973. Note on the cultured spawner of red tailed prawn *Penaeus penicillatus*, Alcock. Contribution A n° 21 from the Tunkang Marine Laboratory. Taiwan Fisheries Research Institute.
- MOCK, C.R. and M.A. MURPHY, 1971. Technic for raising penaeid shrimp from eggs to post-larvae. Proceedings 1st Annual Workshop World Mariculture Society, 1 : 143-156.
- MOORE, D.W., C.W. SHERRY and F. MONTANEZ, 1974. Maturation of *Penaeus californiensis* in captivity. Proceedings 5th Annual Workshop World Mariculture Society, 5 : 445-450.
- NEAL, R.A., 1976. Penaeid shrimp culture research at the National Marine Service Galveston Laboratory. F.A.O. Technical Conference on Aquaculture, Kyoto, Japon. (sous presse).
- Prawn Maturation Team of SEAFDEC, 1976. Development of a brood stock of the tiger prawn *Penaeus monodon* Fabricius. Technical Report n° 1.
- SHIGUENO, D.K., 1975. Shrimp culture in Japan. Association for International Technical Promotion. Tokyo, Japan. 153 p.
- SHOKITA, S., 1970. A note on the development of eggs and larvae of *Penaeus latisulcatus* Kishinouye reared in an aquarium. Biological Magazine Okinawa, 8 : 34-36.
- TUMA, D.J., 1966. A description of the development of primary and secondary sexual characters in a penaeid prawn *Penaeus merguensis* de Man. Aust. J. Mar. Freshwater Res., 18 : 73-78. .../...



- VILLALUZ, D.K., A. LADRERA, M. SHEIK and A. GONZAGA, 1969. Production larval development and cultivation of sugpo (*Penaeus monodon* Fabricius). Philippine Journal of Science, 98 (3-4) : 205-233.
- WICKINS, J.F., 1976. Prawn biology and culture. Oceanography Marine Biological Annual Review : 435-507.



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4 : 179-191.

## ELEVAGE LARVAIRE DE PENEIDES EN MILIEU TROPICAL

par

AQUACOP<sup>+</sup>

Centre Océanologique du Pacifique, B.P. 7004, Taravao, Tahiti.

### RESUME.

Afin de pouvoir utiliser au mieux et élever séparément les pontes de crevettes Pénéidés obtenues à partir de reproducteurs en captivité, l'équipe du Centre Océanologique du Pacifique du CNEOX a adapté au milieu tropical la technique en faible volume et forte densité mise au point par le laboratoire de Galveston.

Les conditions d'environnement, en particulier les températures élevées toute l'année, ont permis de développer une éclosérie simple, demandant le minimum d'investissement. L'eau, préalablement chlorée puis déchlorée, n'est renouvelée qu'à partir du stade mysis. Des algues *Cylindrotheca* et *Tetraselmis* produites à part sont utilisées pour les stades zoé, des rotifères pour les stades mysis et des nauplii d'*Artemia* de P1 à P5, âge auquel les post-larves sont placées en bassin. Des résultats de 100 P/litre sont obtenus en bacs cylindroconiques de 0,5 et 2 m<sup>3</sup>. Les manipulations sont réduites et demandent une seule personne, pour une capacité théorique de 2 millions de post-larves par mois.

Des attaques bactériennes et fongiques qui décimaient souvent les élevages ont été contrôlées par l'utilisation d'antibiotiques et d'un herbicide (Treflan). Toutefois certaines mortalités restent encore inexplicables.

Cette éclosérie qui est passée progressivement de l'échelon expérimental à l'échelon pilote a permis de produire environ 2 millions de post-larves des espèces *P. merguensis*, *P. aztecus*, *P. japonicus*, *P. monodon*, *P. stylirostris* et *M. ensis*. La simplicité des installations devrait permettre d'obtenir un coût de production très bas.

### ABSTRACT.

With a view of utilizing to the maximum and raising separately the spawn of Peneid shrimps obtained from captive brood stock, the team of the Oceanographic Center of the Pacific of CNEOX adapted the technic of small volume, high density perfected by the Galveston laboratory to tropical conditions.

The environmental conditions, particularly year-round high temperatures, allowed the development of a simple hatchery, demanding a minimum investment. The water, previously chlorinated, then dechlorinated, is only renewed from the mysis stage onward. *Cylindrotheca* and *Tetraselmis* algae produced separately are used for the zoea stage, rotifers for the mysis stage and *Artemia* nauplii for P1 to P5 at which point the post-larvae are stocked in ponds. The 100 P/liter results are obtained in cylindroconic tanks of 0.5 and 2 m<sup>3</sup>. Manipulation is reduced and requires only one person for a theoretic capacity of 2 millions post-larvae per month.

Bacterial and fungal attacks which often decimated whole hatches were controlled with antibiotics and an herbicide (Treflan). Nevertheless, certain mortalities still remain unexplained.

This hatchery which passed progressively from the experimental to pilot scale permitted a production of about 2 million post-larvae of the species *P. merguensis*, *P. aztecus*, *P. japonicus*, *P. monodon*, *P. stylirostris* and *M. ensis*. The simplicity of the installations promises a very low production cost.

.../...



\* AQUACOP, équipe d'aquaculture du C.O.P.

- Algues et mollusques : J.M. Martin, O. Millous, Y. Normant, J. Moriceau, D. Carlson, D. Gillet.
- Nutrition : G. Cuzon, A. Febvre, J. Melard, L. Mu, C. de la Pomelie, G. Fagnoni, J. Gatesoupe, P. Vilmorin.
- Contrôle et traitement de l'eau : J. Calvas, H. Bouchard, B. Couteaux.
- Pathologie : J.F. Le Bitoux, J. Robin.
- Elevage de crustacés et poissons : J.M. Griessinger, P. Hatt, M. Jarillo, F. Fallourd, T. Orth, J.P. Landret, O. Avalle, D. Amaru, A. Bennet, V. Vanaa, J. Mazurié, G. Poullaouec, D. Lacroix, B. Aufavre, X. Sandrin, J. Goguenheim, S. Robert.
- Technologie : J.F. Virmaux.
- Responsable de l'équipe : A. Michel.



## INTRODUCTION.

En mai 1973, débute au Centre Océanologique du Pacifique une étude de faisabilité d'élevage de crevettes Pénéidés en milieu tropical. Après l'obtention de la reproduction en captivité, l'étape suivante consiste donc en la mise au point d'une technique d'élevage larvaire fiable, susceptible de fournir toute l'année les post-larves nécessaires au grossissement.

Si les conditions d'environnement de Polynésie Française, la température, la salinité et la qualité des eaux sont a priori particulièrement favorables à cet élevage, la première difficulté de l'entreprise provient de l'absence d'espèce de Pénéidés indigène d'intérêt commercial. Ceci implique donc de maintenir en captivité un stock de géniteurs. Toutes les écloséries de Pénéidés opérant dans le monde à l'heure actuelle utilisent des géniteurs capturés dans le milieu naturel.

Deux techniques d'élevage larvaire différentes permettent la production de post-larves aptes à être stockées en bassins de prégrossissement. La plus ancienne est la technique japonaise, mise au point par FUJINAGA en 1933 ; dans des bassins de plusieurs dizaines de mètres cubes, la prolifération des algues nécessaires à l'alimentation des stades zoé est assurée par fertilisation artificielle de l'eau et par l'enselement, à partir des algues naturellement présentes dans les eaux du site. La technique américaine, mise au point au laboratoire N.M.F.S. de Galveston, utilise des algues sélectionnées, cultivées séparément, et l'élevage se pratique dans des bacs de 2 m<sup>3</sup> qui permettent un contrôle permanent du milieu et des animaux (MOCK and MURPHY, 1971 ; MOCK and NEAL, 1976).

En Polynésie Française, les eaux sont particulièrement pauvres en sels nutritifs, donc en phytoplancton, si bien qu'il n'est pas possible d'obtenir naturellement les proliférations d'algues nécessaires aux premiers stades larvaires ; il faut les produire séparément. De plus, dans un stock captif, le nombre de femelles prêtes à pondre disponibles chaque jour est toujours limité à quelques individus. Il n'est donc pas possible de mettre en oeuvre les bacs de plusieurs dizaines de mètres cubes de la technique japonaise prévus pour élever des pontes simultanées de plusieurs dizaines d'animaux en même temps. Afin de pouvoir utiliser au mieux et élever séparément les pontes de crevettes Pénéidés obtenues à partir de reproducteurs maintenus en captivité, l'équipe du Centre Océanologique du Pacifique du CNEXO a adapté au milieu tropical, la technique en faible volume et forte densité mise au point par le laboratoire de Galveston.

## MATERIEL ET METHODES.

Les élevages ont porté essentiellement sur quatre espèces de Pénéidés, d'origines diverses pour les stocks initiaux et reproduites en captivité :

- *Penaeus merguensis* de Man
- *Penaeus aztecus* Yves
- *Penaeus japonicus* Bate
- *Penaeus monodon* Fabricius

.../...



Quelques expérimentations ont également porté sur *Metapenaeus ensis* de Haan, *Penaeus vannemei* Boone et *Penaeus stylirostris*.

Les conditions d'environnement sont celles décrites précédemment (AQUACOP, 1975). L'eau a des caractéristiques océaniques, une température de 25 à 29° C, une salinité de 35‰ et un pH de 8,2.

L'ensemble complet d'élevage larvaire comprend une unité de production d'algues, une unité de production de rotifères et une éclosérie où se déroule l'élevage proprement dit.

En salle d'algues, les souches sont maintenues en tubes à essais, repiquées en volume de 150 cc, 3 litres et 20 litres qui servent à ensemercer des bacs de 110 litres. L'eau des cultures est filtrée à 0,5 microns, additionnée de milieu nutritif de Conway et bullée à l'air enrichi au gaz carbonique. Les bacs de production, construits en feuilles de polyester armé de fibre de verre (épaisseur 1 mm) sont éclairés par des tubes néon de 40 watts. Des cultures d'algues *Cylindrotheca* sp. (4 µ x 1 µ) à 5.10<sup>6</sup> C/ml, *Tetraselmis chui* (10 à 12 µ) à 1,2.10<sup>6</sup> C/ml, *Tetraselmis tetrathele* (10 à 12 µ, espèce locale) à 1,2.10<sup>6</sup> C/ml et *Isochrysis* sp. (Ø 4 µ, espèce locale) à 7.10<sup>6</sup> C/ml, sont maintenues en routine dans une salle à 20° pour les deux premières, à 25° C pour les souches locales. Les cultures sont utilisées vivantes ou congelées après centrifugation.

Des rotifères, *Brachionus plicatilis*, sont élevés en bloom dans des bacs de 800 l (100 - 150 animaux par ml) ou en continu dans des bacs de 10 m<sup>3</sup> (40/ml). La nourriture consiste essentiellement en chlorelles et occasionnellement en farine (poudre de spirulines atomisées,...).

L'éclosérie rassemble dans un local à toit et parois translucides, une série de bacs destinés aux différents aspects de la mise au point des élevages :

- 8 bacs de 50 l pour les expérimentations à petite échelle,
- 3 bacs de ponte de 500 l,
- 8 bacs de 500 l pour tester les résultats expérimentaux à une échelle significative,
- 3 bacs de 2 m<sup>3</sup>, modèle type de bac utilisable dans une éclosérie de production.

Ces bacs en polyester armé sont équipés d'un fond conique et thermostatés par la circulation continue d'eau du lagon dans une enveloppe extérieure. A chaque bac, correspond une arrivée d'eau et une arrivée d'air ; l'aération est assurée par un seul diffuseur central (P = 0,4 bar). Le matériel annexe (éclosoirs pour *Artemia*, concentrateurs, seaux, bédons, filtres, ...) et tout ce qui peut venir en contact avec les larves sont nettoyés régulièrement à l'eau douce chlorée puis stockés à sec.

L'eau des élevages peut subir divers traitements :

- chloration et déchloration,
- filtration fine pour les stades nauplius et zoé,
- filtration grossière pour les stades mysis et post-larve.

.../...



Dans les bacs de  $2\text{ m}^3$ , le renouvellement de l'eau se fait par l'évacuation centrale au travers d'un filtre (AQUACOP, 1977 e). Dans les bacs de 500 l, il se fait par une surverse latérale, le filtre étant immergé au fond (figure 2).

Les bacs de ponte sont d'un type décrit précédemment (AQUACOP, 1975). La figure 1 montre le fonctionnement de l'air-lift. Une plaque perforée rend le fond inaccessible aux femelles, afin d'éviter qu'elles ne mangent leurs oeufs. Ceci se traduit par la présence de granulations réfringentes, provenant des réserves de l'oeuf, dans les fèces des animaux.

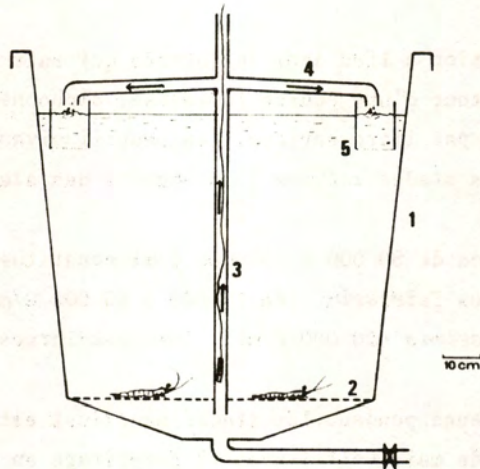


FIGURE 1 : Bac de ponte.

1. bac de  $0,5\text{ m}^3$
2. fond perforé
3. air-lift
4. tuyaux de distribution
5. tamis pour collecter les oeufs

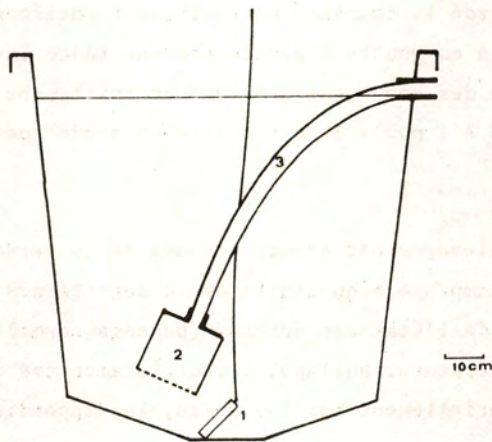


FIGURE 2 : Bac d'élevage larvaire.

1. aération
2. filtre
3. tuyau simple

.../...



Les femelles prêtes à pondre sont isolées le soir (AQUACOP, 1977 d). Chaque bac peut recevoir de 3 à 4 animaux de 80 à 100 g jusqu'à une vingtaine de 10 à 30 g.

Les oeufs libérés dans l'eau du pondoir sont repris par un courant d'eau créé par air-lift et recueillis dans un panier sur une toile de 207 microns. Au matin, les femelles sont pesées et remises dans leur bassin d'origine. Les oeufs restés en suspension dans l'eau ou déposés sur les parois sont recueillis sur un tamis de 100 microns. Après un passage sur tamis de 335 microns qui retient les débris grossiers, les oeufs sont rassemblés et lavés sur un tamis de 207 microns. Dans un seau de 10 litres, un comptage est effectué par échantillonnage à la pipette de 1 ml. Selon l'importance de la ponte, l'incubation se fait en bac de 50 l ou de 500 l.

A 28° C, l'éclosion a lieu dans la journée qui suit la ponte. Le lendemain, les nauplii sont concentrés autour d'une source lumineuse, siphonnés et transférés en bac d'élevage à la densité de 120-150 par litre environ. Les nauplii vivant sur leurs réserves, ce n'est qu'à l'apparition des stades zoé que l'on apporte des algues.

Des *Cylindrotheca* de 80 000 à 150 000 C/ml constituent la première nourriture, puis à partir du stade zoé 2, des *Tetraselmis* de 10 000 à 40 000 C/ml. Les mysis reçoivent des rotifères (10/ml) et des *Tetraselmis* (20 000 C/ml), les post-larves des nauplii d'*Artemia* (5/ml).

L'aération, moyenne pendant les stades nauplius, est assez forte pendant le reste des stades larvaires afin de maintenir larves et nourriture en suspension, sans former de rassemblement.

L'eau n'est changée que lorsque les larves sont zoé 3 ou mysis. Celles-ci sont alors recueillies dans un concentrateur puis remises en eau claire et bac propre. A partir du stade mysis, la moitié ou les trois quarts de l'eau seront renouvelés quotidiennement.

Avec le stade zoé 1, commence un traitement antifongique continu : 2 l/j d'une solution à 5 ppm de Trifuralin en goutte à goutte pendant toute la durée de l'élevage. 12 à 24 heures après l'apparition des zoé 1 est appliqué un traitement préventif antibiotique (phosphate d'Erythromycine 0,5 à 1 ppm). Il est répété au stade zoé 3 puis mysis lorsque cela est nécessaire.

Le suivi des élevages est assuré par une seule personne. Il consiste en un ajustement de la ration après comptage biquotidien de la densité des algues, en une vérification du nombre, de l'activité et de l'état des animaux (passage normal des stades) et des conditions générales d'élevage (température, bullage, ...). L'examen des larves à la loupe binoculaire ou au microscope porte essentiellement sur les soies, les appendices (recherche de nécroses) et le tube digestif.



RESULTATS.

La séquence d'élevage larvaire normale, c'est-à-dire qui se déroule sans incident ou problème pathologique, ne varie pas sensiblement d'une espèce à l'autre.

Au cours de l'année, malgré le thermostat, on enregistre des variations de température, d'une amplitude quotidienne de 2° à 3° C.

En saison chaude, il est parfois nécessaire de thermostatier les bacs à l'eau douce (23° C) tandis qu'en saison froide, il faut veiller à limiter les déperditions de chaleur la nuit. La moyenne dans les bacs d'élevage varie de 27° C (saison froide) à 28° C (saison chaude) ; il faut environ 12 jours pour atteindre le stade post-larve dans le premier cas (tableau 1), il en faut 10 dans le second (AQUACOP, 1977 c).

Jour	Stade	Eau		Type	Nourriture Densité C/ml	Quantité l	Traitement	
		Filtration	Renouvellement				Treflan <sup>R</sup>	Gallimycine <sup>R</sup>
J <sub>0</sub>	ω	48 μ						
J <sub>1</sub>	ω-N	0,5 μ ou chlorée			0		0	0
J <sub>2</sub>	N	0,5 μ ou chlorée			0		0	0
J <sub>3</sub>	N-Z <sub>1</sub>		0	<i>Cylindrotheca</i>	80 000	16 x 2	+	0
J <sub>4</sub>	Z <sub>1</sub>		0	<i>Cylindrotheca</i>	120 000	20 x 2	+	+
J <sub>5</sub>	Z <sub>1</sub> -Z <sub>2</sub>		0	<i>Cylindrotheca</i>	150 000	20 x 2	+	0
J <sub>6</sub>	Z <sub>2</sub>		0	<i>Cylindrotheca</i> <i>Tetraselmis</i>	150 000 10 000	20 x 2 20	+	0
J <sub>7</sub>	Z <sub>3</sub>		0	<i>Tetraselmis</i>	30 000	50 x 2	+	+
J <sub>8</sub>	Z <sub>3</sub> -M <sub>1</sub>		0	<i>Tetraselmis</i>	40 000	50 x 2	+	0
J <sub>9</sub>	M <sub>1</sub>	48 μ	Total	<i>Tetraselmis</i> Rotifère	20 000 10	30 x 2 15 x 2	+	0
J <sub>10</sub>	M <sub>2</sub>	48 μ	1/2	<i>Tetraselmis</i> Rotifère	20 000 10	30 x 2 10 x 2	+	0
J <sub>11</sub>	M <sub>3</sub>	48 μ	3/4	<i>Tetraselmis</i> Rotifère	20 000 10	30 x 2 100 x 2	+	0
J <sub>12</sub>	P <sub>1</sub>	48 μ	3/4	Rotifère <i>Artemia</i>	10 3	100	+	0
J <sub>13</sub>	P <sub>2</sub>	48 μ	3/4	<i>Artemia</i>	5		+	0
J <sub>14</sub>	P <sub>3</sub>	48 μ	3/4	<i>Artemia</i>	5		+	0

TABLEAU 1 : Séquence d'élevage larvaire à 27° C - Bac de 2 m<sup>3</sup> - Densité N : 120/l.

N : nauplius ; Z : zoé ; M : mysis ; P : post-larve.

*Cylindrotheca* : culture à 5.10<sup>6</sup> C/ml

*Tetraselmis* : culture à 1.10<sup>6</sup> C/ml

Rotifère : culture à 100 C/ml

La ponte ayant lieu entre 20 heures et 01 heure selon les individus, l'état de développement des oeufs à la récolte est différent. Toutefois, à une même température, les oeufs de *P. merguensis* sont généralement plus développés que ceux de *P. monodon*, *P. aztecus* et *P. japonicus*. Le fait d'avoir plusieurs femelles dans un même pondoir n'affecte ni la quantité des oeufs pondus ni leur viabilité puisque une cinquantaine de *P. merguensis* de 10 à 20 g dans un seul pondoir ont pondu plus d'un million d'oeufs viables à 70 %. A la récolte, le lavage permet d'éliminer les fèces des femelles et d'obtenir des oeufs propres. Les oeufs de *P. stylirostris* et *P. vannamei* passant en partie au travers du tamis de 207 μ, utilisé pour les autres espèces, sont recueillis sur 100 μ. Lors du comptage des oeufs leur viabilité potentielle est appréciée selon l'état de développement et l'aspect des nauplii en formation. Si la ponte est de bonne qualité, l'éclosion est presque totale. .../...



A 27° C l'éclosion a lieu après une incubation de l'ordre d'une quinzaine d'heures et les oeufs éclosent simultanément, en l'espace d'une heure. Le phototropisme des nauplii permet de les concentrer autour d'une source lumineuse. On peut noter une différence de sensibilité à la lumière selon les espèces. Les nauplii de *P. aztecus* et *P. varnamei* se regroupent moins bien et leur transparence les rend plus difficiles à discerner dans la masse d'eau.

La survie des stades nauplii est normalement totale. Des densités d'algues supérieures à 80 000 C/ml de *Cylindrotheca* et 15 000 C/ml de *Tetraselmis* sont suffisantes pour assurer la survie de 60 à 90 % des larves au stade zoé. Les mysis sont carnivores dans toutes les espèces, toutefois celles de *P. monodon* utilisent encore des algues jusqu'au stade post-larve. Le maintien d'une certaine quantité d'algues permet d'entretenir la qualité de l'eau et la population de rotifères, ce qui donne des survies de 90 % à des densités d'élevage qui ont atteint 200 individus par litre. Les nauplii d'*Artemia*, introduits le 2ème jour de la vie post-larvaire, sont maintenus jusqu'à la mise en bassin de prégrossissement à P5-P6. La survie totale entre le stade nauplii et le stade P6 est de 60 à 70 % et peut atteindre 80 %. Cependant, il convient de dédoubler les élevages à partir de P2 pour ramener les densités à 50-60 individus par litre.

Dans un bac de 2 m<sup>3</sup>, pour une production finale de 200 000 post-larves P6, il faut (tableau 1) : 150 l de cultures d'algues *Cylindrotheca* (5.10<sup>6</sup> C/ml), 300 l de cultures d'algues *Tetraselmis* (1.10<sup>6</sup> C/ml), 800 l de cultures de rotifères (100 C/ml), 200 g d'oeufs d'*Artemia*.

Cependant, au cours de la mise au point de la technique, des troubles pathologiques ou autres ont souvent limité la production. Les larves saines sont très actives, traînent un long fèces bien moulé au stade zoé et muent d'un stade à l'autre de manière synchrone. Par contre, des larves affaiblies ont des soies engluées par les algues, et le contenu du tube digestif liquide ; leur nage est ralentie et l'étalement des mues finit par entraîner la présence permanente de stades larvaires différents dans un même bac. Quand l'affaiblissement des larves est dû à des erreurs techniques (variation brutale de température, manque momentané de nourriture, tendance à la sédimentation des algues), un changement d'eau total et un lavage des animaux sur tamis est suivi d'une reprise de l'évolution normale.

Cependant, il a été également observé des retards et des mortalités d'origine pathologique. Les principales mortalités sont dues à des nécroses bactériennes, des attaques fongiques et à la présence de nauplii malformés (AQUACOP, 1977 g). Pendant une période de 6 mois, tous les élevages ont été décimés à partir du stade Z2 par des bactéries qui entraînaient des nécroses, principalement au niveau des appendices, plus particulièrement des antennes, des antennules et du telson. Ces nécroses détruisent un élevage en 48 heures au stade zoé mais leur évolution est plus lente aux stades mysis et post-larves. Ces dernières, conservées en forte densité au-delà du stade P6, présentent fréquemment des déformations des antennes ou de l'abdomen, séquelles de ces nécroses (AQUACOP, 1977g). Les champignons *Lagenidium* sp et *Sirolopidium* sp ont également entraîné de grosses mortalités pendant les premiers essais d'élevage. Des changements d'eau plus fréquents et l'utilisation d'eau chlorée limitent l'apparition de ces phénomènes, mais ne suffisent pas à les prévenir ni à les enrayer. .../...



Si la prolifération des spores de champignons et donc l'apparition de la maladie sont inhibées par le traitement à la Trifuraline, contre les nécroses, seule l'action d'antibiotiques s'est révélée efficace. Plusieurs antibiotiques ont donné des résultats satisfaisants et le phosphate d'Erythromycine à la dose de 0,5 à 1 ppm de produit actif est utilisé en routine à titre préventif et curatif, directement dans les bacs d'élevage (tableau 1). Cependant, ces antibiotiques sont toxiques pour les nauplii et leur emploi répété ralentit les élevages, surtout lors des stades zoé plus sensibles que les stades mysis et post-larves. De plus, deux présentations commerciales de phosphate d'Erythromycine provenant d'une même société se sont révélées différemment toxiques pour les larves. Si ces types de mortalités ont été contrôlés, d'autres problèmes n'ont pas encore été résolus, en particulier celui des nauplii mal formés.

Dans beaucoup de pontes, notamment de *P. monodon* et *P. stylirostris* naissent des nauplii anormaux ou présentent des soies cassées. Selon les pontes, leur nombre peut être négligeable ou représenter 100 %, dès l'éclosion. De plus, il apparaît que lorsque le pourcentage des oeufs anormaux est important, le taux d'éclosion du reste des oeufs diminue. C'est ainsi que dans une ponte comportant plus de 30 % d'oeufs anormaux, le taux d'éclosion est inférieur à 35 %. Une partie des nauplii ne se concentre pas à la lumière et reste au fond du bac ou dans la masse de l'eau ; des essais d'élevage ont montré qu'ils ne dépassaient jamais le stade Z1. Ils sont donc maintenant rejetés systématiquement. Cependant, plus récemment, des élevages de pontes différentes obtenues le même jour ont donné des survies variant de 10 à 70 %. Malgré une apparence correcte de la ponte, la mortalité est élevée au passage nauplius zoé et pendant le stade zoé 1. Cette mortalité aigue est suivie d'une mortalité chronique qui se poursuit tout l'élevage alors que l'observation ne montre ni nécrose, ni agent pathogène.

Cette écloserie pendant 3 années d'expérimentations a produit plus d'un million de post-larves de *P. merguensis* dont la production de masse a été arrêtée après 2 années en raison de sa croissance lente en élevage intensif, plus d'un million de *P. monodon*, quelques dizaines de milliers de *P. japonicus* et *P. aztecus* et quelques milliers de *P. vannamei* et *P. stylirostris*. Ces chiffres reflètent les problèmes actuels de reproduction en captivité et c'est le faible nombre d'oeufs de bonne qualité qui limite la production de cette écloserie.

#### DISCUSSION.

Dans les années 70, les résultats obtenus en matière d'élevage larvaire de Pénéidés par les auteurs japonais et américains laissaient penser que des techniques fiables de production de masse étaient au point. L'expérience a prouvé que le transfert de ces méthodes ne s'est pas fait sans difficulté. Les tentatives d'adaptation de la technique japonaise à des sites du sud de l'Amérique du Nord, d'Amérique Centrale, des Philippines ou de France, ont montré sa dépendance vis-à-vis des conditions d'environnement et les difficultés de contrôle et de traitement en cas d'apparition de maladies. Au C.O.P., il a fallu 3 années pour passer du stade expérimental au stade de pilote en utilisant la technique de Galveston. Les difficultés rencontrées ont cependant permis de mieux comprendre l'action d'un certain nombre de facteurs particulièrement importants pour les élevages larvaires de Pénéidés.

.../...



A Galveston, les larves obtenues à partir de pontes de femelles pêchées dans le milieu naturel, sont élevées en eau de mer recyclée et nourries d'algues *Skeletonema* produites en eau de mer artificielle, en raison des variations importantes de la qualité de l'eau de mer de l'endroit. Sa mise en oeuvre, dans le contexte polynésien a entraîné des changements qui ont porté, entre autres, sur les espèces d'algues et la qualité de l'eau utilisée ; les caractéristiques océaniques stables de l'eau pompée directement dans le lagon paraissaient en effet suffisantes pour permettre les élevages larvaires sans filtration, ni traitement préalable. De surcroît, ces élevages sont réalisés à partir de pontes d'animaux maintenus en captivité. L'importance relative de ces différences n'est apparue qu'au fur et à mesure des expérimentations.

Différentes souches d'algues permettent l'élevage des stades zoé, tout particulièrement les diatomées dont *Skeletonema*, vivante ou congelée (TABB *et al.*, 1972 ; MOCK et MURPHY, 1971). Des difficultés de production de masse de cette diatomée au C.O.P. ont amené son remplacement par *Cylindrotheca* sp et *Tetraselmis chui*. Par la suite, des souches isolées localement d'*Isochrysis* sp et de *Tetraselmis tetrathele* ont également donné de bons résultats. *Isochrysis* seule ne semble pas aussi performante que *Cylindrotheca* mais en mélange avec *Tetraselmis*, elle donne des résultats comparables. BEARD *et al.* (1977) ont montré que *Tetraselmis* pouvait être utilisée seule. L'utilisation d'algues congelées permet de s'affranchir des problèmes de synchronisation des productions d'algues et d'élevage larvaire. L'utilisation de *Tetraselmis* congelée à partir de Z3 se fait en routine mais, à l'heure actuelle, des algues vivantes sont encore nécessaires pour les deux premiers stades zoé. De toutes façons, des algues vivantes présentent l'avantage de métaboliser une partie des déchets excrétés par les larves dans des proportions qui restent à préciser (COHEN *et al.*, 1976). L'activité alimentaire d'une zoé semble continue et il est nécessaire de maintenir une densité d'algue minimale pour qu'elle en rencontre suffisamment (de l'ordre de 70 000 C/ml pour *Cylindrotheca* et *Isochrysis*, de 15 000 C/ml pour *Tetraselmis*). A des densités inférieures à 70-80 animaux par litre, la luminosité ambiante permet une multiplication des algues qui suffit à les maintenir à une densité satisfaisante sans addition importante de cultures ; les espèces isolées localement mieux adaptées aux conditions d'élevage, se multiplient mieux et représentent ainsi une économie substantielle. Par contre, à des densités supérieures à 100-120 animaux par litre les algues sont rapidement consommées sans beaucoup se multiplier. Il faut donc augmenter le rythme des distributions, voire distribuer en continu ou augmenter sensiblement les densités lors des réajustements biquotidiens. Dans les conditions de laboratoire BEARD *et al.*, (1977) ont obtenu plus de 200 post-larves par litre avec des densités de *Tetraselmis* de 75 000 C/ml. Les algues parasites (dinoflagellés) qui peuvent se développer dans les élevages ne semblent pas en gêner l'évolution.

L'application d'une méthodologie stricte, incluant une séquence d'alimentation contrôlée n'a cependant pas suffi à assurer une fiabilité de production.

Les élevages se succédaient et donnaient des résultats contradictoires avec parfois plus de 80 % de survie mais aussi souvent des mortalités brutales. Ces mortalités relativement limitées la première année d'expérimentation empêchèrent toute production de post-larves

.../...



pendant une partie de la seconde année. La mise en évidence de nécroses bactériennes et d'attaques fongiques conduisit à attribuer ces problèmes à la qualité de l'eau. Les mêmes observations faites dans des bacs d'élevage larvaire de *Macrobrachium* à la même époque ont permis de se rendre compte de la généralisation du phénomène (AQUACOP, 1977 a). Des renouvellements fréquents d'eau, des filtrations et la chloration de l'eau ayant limité les mortalités, sans toutefois les faire disparaître, ont montré que le problème n'était pas seulement celui de la qualité de l'eau au départ mais aussi celui du contrôle de son évolution dans les bacs d'élevage. Ceci fut confirmé par un suivi rigoureux des élevages de *Macrobrachium* (AQUACOP, 1977 b).

L'action curative des antibiotiques sur les nécroses a incité à développer ces traitements de manière préventive ce qui permet actuellement de les éviter. Si plusieurs antibiotiques ont donné des résultats satisfaisants, leur utilisation en routine demande une certaine prudence. Les bains de longue durée, c'est-à-dire l'introduction du traitement directement dans le bac d'élevage, se sont toujours révélés toxiques pour les nauplii. Les larves Z1 et Z2 y sont également très sensibles et il faut éviter de les traiter de manière répétée. En fait, il convient de tester chaque présentation nouvelle d'antibiotiques dans chaque condition d'emploi (température, stade larvaire). L'origine dans l'eau d'élevage des spores infestants de *Lagenidium* et de *Sirolopidium* n'a pas été recherchée mais ces champignons peuvent être pathogènes pour de nombreuses espèces (BLAND *et al.*, 1976).

L'eau du lagon bien que pauvre en matière organique et inorganique entretient donc une flore bactérienne et fongique qui, du fait des températures élevées stables toute l'année, ne varie guère et peut proliférer dès qu'elle se trouve dans des conditions favorables, ce qui est le cas des bacs d'élevage. De plus, au fur et à mesure de l'amélioration des techniques, le nombre de bacs en expérience et la densité des animaux a rapidement augmenté. Ceci favorise encore les proliférations bactériennes potentiellement pathogènes et les contaminations de bac à bac. L'expérience a souvent montré qu'après un arrêt total de quelques jours les premiers élevages évoluaient mieux que les suivants. Le siphonnage des nauplii hors de l'incubateur a également pour seul but d'éviter l'introduction d'oeufs non éclos dans lesquels prolifèrent bactéries et champignons.

Le traitement de l'eau et le contrôle de son évolution apparaissent comme une nécessité pour tous les élevages larvaires. Ce problème s'est d'ailleurs posé aux éleveurs japonais puisque, après avoir connu des mortalités multiples plus ou moins expliquées (vibrioses) KURATA et SHIGUENO (1975) estiment que le progrès principal effectué ces dernières années par la méthode japonaise est la chloration de l'eau avant l'élevage et l'utilisation d'algues sélectionnées (*Chaetoceros*). L'utilisation de volume réduit permet cependant une meilleure appréhension de ces problèmes et un meilleur suivi des larves.

Des mortalités plus récentes sont dues à la qualité de la ponte. Ce problème, celui de la viabilité des oeufs, semble lié à la maturation des géniteurs en captivité et est discuté par ailleurs (AQUACOP, 1977 d). Ceci indique qu'il est nécessaire de tester des méthodologies différentes sur une même ponte. Il paraît en outre intéressant de traiter les pontes séparément afin de rejeter celles qui se révéleraient mauvaises.

.../...



Les conditions d'environnement polynésiennes ont permis de construire des installations relativement légères et bon marché assurant des conditions d'élevage optimales pratiquement toute l'année. Les bacs en polyester armé, particulièrement robustes et d'un entretien aisé, s'avèrent bien adaptés aux élevages larvaires puisqu'ils sont également utilisés avec succès pour les élevages de *Macrobrachium* (AQUACOP, 1977 e) et d'huîtres (AQUACOP, 1977 f). Dans cette éclosérie d'une capacité de production théorique de 2 millions de post-larves par mois, il faut une personne 8 heures chaque jour de la semaine pour assurer le suivi des élevages. Il est encore difficile de calculer le prix de revient exact d'une post-larve de Pénéidés car il est difficile de dissocier l'éclosérie de l'ensemble des installations du C.O.P. Actuellement, la plus grosse partie des coûts de fonctionnement est représentée par l'entretien d'une salle d'algues climatisée et les salaires du personnel spécialisé. Une première estimation indique un prix de revient de 0,016 FF par post-larve, soit 3 \$ U.S. le mille, dans les conditions polynésiennes et en tenant compte d'un amortissement du matériel sur 5 ans pour une production mensuelle de 1,5 millions de post-larves.

#### CONCLUSION.

Le passage de l'unité expérimentale à l'unité pilote a montré les difficultés que posent la mise en pratique à une échelle économique de procédés considérés comme connus au niveau du laboratoire.

Les traitements de l'eau, la séquence alimentaire et les traitements antibiotiques et antifongiques permettent d'assurer des résultats fiables de l'ordre de 100 Pl par litre, en routine. Le problème de la qualité des pontes, lié au maintien des géniteurs en captivité représente à l'heure actuelle l'obstacle majeur à un développement de la production. Toutes ces données permettent d'ores et déjà de définir une éclosérie de production dont l'extrapolation à d'autres sites de régions tropicales doit pouvoir se faire sans difficulté majeure.

#### BIBLIOGRAPHIE.

- AQUACOP, 1975. Maturation and spawning in captivity of penaeid shrimps : *Penaeus merguensis* de Man, *Penaeus japonicus* Bate, *Penaeus aztecus* Ives, *Metapenaeus ensis* de Haan and *Penaeus semisulcatus* de Haan. Proceedings of the Sixth Annual Meeting World Mariculture Society, 123-132 pp.
- AQUACOP, 1977 a. *Macrobrachium rosenbergii* culture in Polynesia : progress in developing a mass intensive larval rearing in clear water. (In press).
- AQUACOP, 1977 b. *Macrobrachium rosenbergii* culture in Polynesia : water chemodynamism in an intensive larval rearing. (In press).
- AQUACOP, 1977 c. Reproduction and growth of *Penaeus monodon* in Polynesia. (In press).
- AQUACOP, 1977 d. Observations sur la maturation et la reproduction en captivité des crevettes Pénéidés en milieu tropical. 3rd Meeting of the ICES Working Group, Brest, France, May, 10-13. Actes de Colloques du CNEXO : 157-158.



- AQUACOP, 1977 e. Production de masse de post-larves de *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) en milieu tropical : unité pilote. 3rd Meeting of the ICES Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977. Actes de Colloques du CNEXO, 4 : 213-232.
- AQUACOP, 1977 f. Elevage larvaire et production de naissain de *Crassostrea gigas* en milieu tropical. 3rd Meeting of the Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977. Actes de Colloques du CNEXO, 4 : 331-346.
- AQUACOP, 1977 g. Observations on diseases of crustacean cultures in Polynesia. (In press).
- BEARD, T.W., J.F. WICKINS and D.R. ARNSTEIN, 1977. The breeding and growth of *Penaeus merguensis* de Man in laboratory recirculation systems. Aquaculture, 10 (3) : 275-290.
- BLAND, C.E., D.G. RUCH, B.R. SALSER and D.V. LIGHTNER, 1976. Chemical control of *Lagenidium*, a fungal pathogen of marine crustacea. 7th Annual Meeting World Mariculture Society. (In press).
- COHEN, D., A. FINKEL and M. SUSSMAN, 1976. On the role of algae in larviculture of *Macrobrachium rosenbergii*. Aquaculture, 8 : 199-207.
- KURATA, H. and K. SHIGUENO, 1976. Recent progress in the farming of penaeid shrimp. F.A.O. Technical Conference on Aquaculture, Kyoto, R.17 : 24 p.
- MOCK, C.R. and M.A. MURPHY, 1971. Technic for raising penaeid shrimp from eggs to post-larvae. Proceedings 1st Annual Workshop World Mariculture Society, 1 : 143-156.
- MOCK, C.R. and R.A. NEAL, 1974. Penaeid shrimp hatchery systems. F.A.O. Symposium on Aquaculture in Latin America. CARPAS/6/74/SE, 29 : 9 p.
- TABB, D.C., W.T. YANG, Y. HIRONO and J. HEINEN, 1972. A manual for culture of pink shrimp *Penaeus duorarum*, from eggs to post-larvae suitable for stocking. Sea Grant Special Bulletin, n° 7, 59 p.



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4 : 193-202.

## RECENT PROGRESS IN PENAEID SHRIMP CULTURE

by

Jiro KITAKA

School of Fisheries Sciences, Kitasato University, Sanriku-cho, Iwate-ken, Japan.

### ABSTRACT.

Hatching and rearing of white shrimp (*Penaeus setiferus*), brown shrimp (*Penaeus aztecus*), and pink shrimp (*Penaeus duorarum*) were conducted at Panama City, Florida, U.S.A., in a estuary site along the coast of the Gulf of Mexico. Using the large scale production method, 5.04 million white shrimp, 1.19 million brown shrimp, and 1.63 million pink shrimp at advanced post-larval stage were produced per tank of 145 m<sup>3</sup> capacity. Survival rate from nauplius to postlarval shrimp was 78.7 % for white shrimp, 25.2 % for brown shrimp, and 43.1 % for pink shrimp. White shrimp showed better growth rate during the early postlarval stage. These shrimp were released into pens installed in the estuary. White shrimp showed better survival immediately after release compared to brown shrimp and pink shrimp even when released at smaller than 5 mg body weight. Survival rate for white shrimp at pen stage for about 20 days was 68.0 %.

It is concluded that non-grooved shrimp (white shrimp) has much better production efficiency compared to grooved shrimp (brown shrimp, pink shrimp, etc...).

### RESUME.

L'éclosion et l'élevage de *Penaeus setiferus*, *Penaeus aztecus* et *Penaeus duorarum* ont été réalisés à Panama City (Floride, U.S.A.), dans un site d'estuaire, sur la côte du Mexique. Avec une méthode de production à grande échelle, il a été produit 5,04 millions de *P. setiferus*, 1,19 millions de *P. aztecus*, et 1,63 millions de *P. duorarum*, à un stade post-larvaire avancé, par bac de 145 m<sup>3</sup>. Le taux de survie du nauplius à la post-larve s'est établi à 78,7 % pour *P. setiferus*, 25,2 % pour *P. aztecus*, et 43,1 % pour *P. duorarum*. Le meilleur taux de croissance pendant l'élevage post-larvaire a été obtenu avec *P. setiferus*. Les crevettes ont été relâchées dans des enclos installés dans l'estuaire. Comparée aux autres espèces, *P. setiferus* a fourni la meilleure survie après le lâcher, même lorsqu'il était réalisé à un poids inférieur à 5 mg. Le taux de survie de *P. setiferus* après 20 jours d'élevage en enclos s'est établi à 68,0 %.

Il en est conclu que les crevettes non tigrées (*P. setiferus*) ont une efficacité de production bien meilleure que les crevettes tigrées (*P. aztecus*, *P. duorarum*, etc...).

.../...



## INTRODUCTION.

After hatching of the egg, the first larval stage of penaeid shrimp is the non-feeding nauplius. Feeding begins when the first zoea stage is reached (HUDINAGA, 1942). In our early studies, larvae of Kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*, were cultured in indoor tanks (dimensions : 2 m x 2 m x 1 m) (KITAKA, 1972). Marine diatoms (*Skeletonema costatum*, *Nitzschia closterium* and *Chaetoceros simplex*) were cultured separately, and fed to zoea and mysis stage larvae.

Use of the early culture systems and methodology often resulted in degradation of water quality with subsequent poor survival of larvae. This was attributed to accumulation of dead diatoms, feces and other debris on the tank bottom.

Subsequent research has vastly improved the hatchery methodology in the areas of larval feeding, nutrition, and culture system design.

Production of postlarval shrimp was increased with the use of raw sea water and increased illumination (HUDINAGA and KITAKA, 1966). Based on these successes, hatching experiments were conducted using outdoor salt concentration tanks (dimensions : 10 m x 10 m x 2 m) at an abolished salt field at Aio, Japan in 1964. Using fortifications to the sea water (nitrate and phosphate), average postlarval production was increased to 1 million per tank (HUDINAGA and KITAKA, 1967). The culture method employing large outdoor tanks has now been designated "large scale production method".

The large scale method has been used to rear Kuruma shrimp at various sites in Japan since 1965. It has been proven applicable regardless of location or season. However, production was sometimes depressed at hatcheries located near lagoons due to propagation of undesirable protozoa and uni-cellular green algae (HUDINAGA and KITAKA, 1975).

The large scale method has been successfully applied to the production of brown shrimp (*Penaeus aztecus*), white shrimp (*Penaeus setiferus*), and pink shrimp (*Penaeus duorarum*) in the United States. Marifarms, Inc., Panama City, Florida, U.S.A., has used this methodology since 1970. Production of postlarvae at advanced stage was 220 million in 1970, 375 million in 1971, 368 million in 1972, and 294 million in 1973. These postlarvae have been stocked into growing ponds and pens installed in a portion of a shallow bay since 1971 (KITAKA, 1976).

## FACILITIES AND METHODOLOGY.

### Hatching.

145 m<sup>3</sup> concrete tanks (dimensions : 9 m x 9 m x 1.8 m) were used for hatching and larval rearing. The tanks were enclosed within a ventilated solarium. Tank floors slope 3° to the drain. Aeration pipes were located on the floor with 20 air-stones per tank. Sea water was pumped from the estuary (St. Andrews Bay) to a level of 0.4 to 1.2 m through sand filters. Water depth was gradually increased from the second zoea stage.

.../...



Water temperature and salinity were maintained between 25 and 30° C and 24 and 30 ppt, respectively. Temperature was controlled by electric immersion heaters in the cooler months and salinity was increased by addition of rock salt during the rainy season.

Brown shrimp, white shrimp, and pink shrimp (major species in the Gulf of Mexico) gravid females were collected by commercial trawler. Trawl duration was short, especially for white shrimp, in order to prevent excess mortality and/or loss of the spermatophore which is external. About 50 to 100 gravid females (mother shrimp) were placed in a large net inside the rearing tank for spawning. The large net facilitated removal of mother shrimp after spawning.

Daily additions of potassium nitrate and potassium phosphate were not always necessary, because estuarine water usually contained sufficient nutrients, and initial propagation of plankton was usually sufficient to feed larvae at the early zoea stage. In order to promote optimal production, emerging or emerged nauplii of *Artemia salina* were fed to larvae from the second zoea stage to the second or third day of the post-larval stage. The *Artemia* feeding schedule was 0.2 to 1.0 kg per tank for zoea stage, 0.6 to 2.4 kg for mysis stage, and 1.0 to 2.4 kg for post-larval stage. Approximately 2.5 to 5.0 kg of *Artemia* eggs were used for the production of 1 million post-larval shrimp.

Post-larvae were fed with pelletized food broken into fine granules. The pellet was composed of shrimp meal (25-28 %), fish meal (60-65 %), vegetable meal (7-10 %), and a vitamin mixture (2-3 %). The pellet was originally formulated for growing juvenile shrimp, however, experimentation demonstrated its effectiveness as a food for post-larvae (KITAKA, 1976). The daily feeding schedule for post-larvae receiving pellet was 0.2 to 0.3 kg at P2\* stage, 0.5 to 1.5 kg at P3-P6 stages, 0.7 to 2.0 kg at P7-P9 stages, and 1.0 to 3.0 kg at P10 and older stages. Total amount of pellet consumed was 6.0 to 12.0 kg per 1 million post-larvae produced.

#### Collection and transportation.

Post-larvae were drained from the rearing tank to a collection net. After production calculations were made, shrimp were loaded on a truck or boat at high densities for transportation to the growing area. Transportation time was generally 2 to 3 hours. Mortality was usually higher just after release due to stress encountered during the collection and transportation procedure. The survival rate immediately after release was estimated by retaining baby shrimp in a 0.16 cm mesh net box (dimensions : 30 cm x 30 cm x 30 cm) placed in the nursery pens. After three days, the survivors were counted.

.../...

---

\* P<sub>n</sub> means post-larvae of the n-th day after metamorphosis into 1st post-larvae.



Pen grow-out.

After tank-reared post-larvae acquired bottom dwelling characteristics, they were released into circular pens installed in shallow (1.0-1.5 m) areas of the bay. The pens were constructed from a 0.16 cm mesh nylon netting. Bottom area was 800 to 1,000 m<sup>2</sup> per pen. Several million post-larvae were released into each pen.

Prior to the shrimp stocking, predacious fish were eradicated with rotenone treatment. The concentration used was about 0.025 ppm. Pelletized food supplemented natural food in the pens. Juveniles remained in the pen until they reached approximately 30 mg body weight. At this size, they were released into the nursery area (depth : 3 - 4 m). Pen times was usually 2 to 4 weeks.

Survival rate during the pen stage was estimated by the following scoop method : a scoop net (dimensions : 30 cm x 20 cm x 10 cm) with 0.16 cm mesh was used to randomly sample bottom areas inside the pen. The following calculations were made :

$$\text{Survival rate} = \text{Survival rate immediately after release} \times \text{Survival rate at pen stage} \quad [1]$$

$$\text{Survival rate} = \frac{\text{Average No. per scoop (at the end)}}{\text{Expected No. per scoop (initial)}} \quad [2]$$

Where,

$$\begin{aligned} \text{Expected No. per scoop (Initial)} &= \text{Initial density } (/m^2) \\ &\times \text{Width of scoop net (0.3 m)} \times \text{Scooping distance (1.2 m)} \\ &\times \text{Scooping efficiency} \end{aligned} \quad [3]$$

$$\text{Initial density} = \frac{\text{No. of shrimp released in the pen}}{\text{Acreage of the pen (m}^2\text{)}} \quad [4]$$

$$\text{Scooping efficiency} = 0.9$$

From above formula [1] and [2]

$$\begin{aligned} \text{Survival rate at pen stage} &= \quad [5] \\ &\frac{\text{Average No. per scoop (At the end)}}{\text{Expected No. per scoop (Initial)}} \times \frac{\text{Survival rate immediately after release}}{\text{Survival rate immediately after release}} \end{aligned}$$

RESULTS.

Total numbers of brown, white and pink shrimp produced in rearing tanks and their survival rates from nauplius stage are shown in table 1, 2 and 3, respectively. Average number per tank was 1.19 million for brown shrimp, 5.04 millions for white shrimp, and 1.63 million for pink shrimp. Survival rate from nauplius to post-larval shrimp was 25.2 % for brown shrimp, 78,7 % for white shrimp, and 43.1 % for pink shrimp. This data is comparable to that for Kuruma

.../...



shrimp in Japan where the average number of Kuruma shrimp produced per tank was 0.98 million and the average survival rate was 36.1 %.

Date of introduction of mother shrimp	No. of nauplius (x 10 <sup>3</sup> )	No. of zoea (x 10 <sup>3</sup> )	No. of mysis (x 10 <sup>3</sup> )	No. of post-larvae (x 10 <sup>3</sup> )	No. of baby shrimp (x 10 <sup>3</sup> )	Stage of baby shrimp (Pn)	Average body weight (mg)	Survival rate (%)
Feb. 23	4,000	4,000	2,500	2,500	2,000	P19	6.0	50.0
Feb. 24	5,000	3,500	2,500	2,500	1,900	P18	3.0	38.0
Mar. 3	7,000	7,000	2,000	1,500	500	P46	60.0	7.1
Mar. 6	6,000	6,000	3,000	1,500	1,000	P20	18.4	16.7
Mar. 8	6,000	5,000	5,000	2,500	750	P22	8.5	12.5
Mar. 10	2,800	2,500	2,500	2,500	1,000	P21	15.5	35.7
Mar. 30	9,000	9,000	0					
Mar. 30	8,000	8,000	0					
Apr. 13	1,000	1,000	500	500	200	P22	2.5	20.0
Apr. 26	5,000	4,000	2,000	2,000	2,100	P23	12.8	42.0
Apr. 26	3,000	3,000	2,500	2,000	1,000	P18	12.0	33.3
Apr. 26	5,000	5,000	5,000	3,000	1,900	P22	12.8	38.0
Apr. 27	6,000	5,000	5,000	4,000	1,100	P18	9.4	18.3
May 6	4,000	4,000	3,700	3,000	800	P19	22.0	20.0

TABLE 1 : Record of hatching of brown shrimp, *Penaeus aztecus*, in 1973.

Date of introduction of mother shrimp	No. of nauplius (x 10 <sup>3</sup> )	No. of zoea (x 10 <sup>3</sup> )	No. of mysis (x 10 <sup>3</sup> )	No. of post-larvae (x 10 <sup>3</sup> )	No. of baby shrimp (x 10 <sup>3</sup> )	Stage of baby shrimp (Pn)	Average body weight (mg)	Survival rate (%)
May 17	6,000	5,000	5,000	5,000	6,400	P17	8.2	100
May 17	6,000	4,000	3,500	3,500	3,300	P17	7.2	55.0
May 30	500	500	500*					
May 31	3,500	3,000	3,000	3,000	5,600	P 9	2.3	100
June 8	5,000	5,000	5,000	5,000	5,900	P12	2.6	100
June 8	8,000	6,000	6,000	5,000	3,000	P11	2.6	37.5
June 8	5,000	4,000	2,500	2,500	3,700	P 9	2.2	74.0
June 9	6,000	6,000	5,000	5,000	6,000	P16	4.0	100
June 9	7,000	6,000	4,000	4,000	4,000	P15	5.6	57.1
June 16	6,000	6,000	6,000	6,000	4,500	P17	4.0	75.0
June 16	5,000	5,000	5,000	5,000	6,300	P17	4.5	100
June 19	10,000	8,000	5,000	5,000	6,700	P14	4.4	67.0
June 24	4,000	4,000	500	500				
June 28	12,000	3,000	2,000	2,000				

\* The experiment was closed.

TABLE 2 : Record of hatching of white shrimp, *Penaeus setiferus*, in 1973.

Date of introduction of mother shrimp	No. of nauplius (x 10 <sup>3</sup> )	No. of zoea (x 10 <sup>3</sup> )	No. of mysis (x 10 <sup>3</sup> )	No. of post-larvae (x 10 <sup>3</sup> )	No. of baby shrimp (x 10 <sup>3</sup> )	Stage of baby shrimp (Pn)	Average body weight (mg)	Survival rate (%)
July 19	4,000	4,000	4,000	4,000	3,700	P28	11.0	92.5
July 20	3,000	3,000	3,000	1,500	1,300	P26	20.1	43.0
July 21	4,000	4,000	4,000	3,000	2,000	P30	32.0	50.0
July 22	5,000	5,000	5,000	2,000	1,800	P30	28.6	36.0
July 24	3,000	3,000	2,000	1,000	1,000	P27	19.6	33.3
July 27	4,000	4,000	4,000	2,000	700	P30	50.0	17.5
July 27	3,000	3,000	3,000	2,000	900	P26	31.0	30.0
July 28	5,000	5,000	5,000	500				
Aug. 31	3,000	3,000	3,000	3,000				
Aug. 31	3,000	3,000	3,000	3,000				
Sept. 19	2,500	2,500	2,000	1,500				
Sept. 25	4,000	4,000	3,000	1,000				
Sept. 25	4,000	4,000	3,000	1,000				
Sept. 26	3,000	3,000	3,000	1,000				

TABLE 3 : Record of hatching of pink shrimp, *Penaeus duorarum*, in 1973. .../...



In the genus *Penaeus* there are two divisions (BURKENROAD, 1934). Generally, these can be called grooved and non-grooved (referring to the length of the rostral sulcus). Brown shrimp, pink shrimp and Kuruma shrimp belong to the grooved shrimp. White shrimp is the member of the non-grooved shrimp in this discussion. White shrimp showed a significantly higher production rate than those members of the grooved division (table 4). Peaks of spawning season\* are early spring for brown shrimp and summer for pink shrimp in the northern Gulf of Mexico. Because of seasonal and geographical variation in distribution of these species, comparison of productivity is difficult. Production of pink shrimp is considered to be greater than that of brown shrimp. Productivity of Kuruma shrimp may be similar to that of brown shrimp.

Date	Stage	No. of larvae (x 10 <sup>3</sup> )	Depth of water (cm)	Exchange of water (cm)	Nutrients added (g)			Foods given (g)	
					KNO <sub>3</sub>	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Corn steep liquor	Artemia eggs	Meat of trash fish
August 5	Nauplius 1	5,400	30	0	200	20			
" 6	Nauplius 5	5,400	50	0	100	10			
" 7	Zoea 1	5,000	50	0	100	10	100		
" 8	Zoea 1, 2	5,000	80	0	100	10			
" 9	Zoea 2, 3	5,000	80	0	100	10	100		
" 10	Zoea 3	5,000	80	0	100	10	100	200	
" 11	Mysis 1	4,900	80	0	100	10	100	500	
" 12	Mysis 2	4,900	80	0	100	10	100	900	
" 13	Mysis 3	4,900	80	0	100	10	100	2,300	
" 14	Post-larva 1	4,900	100	0	100	10	100	3,000	
" 15	Post-larva 2	4,900	100	0	100	10	100	1,800	1,000
" 16	Post-larva 3	4,900	110	10	100	10	100		1,000
" 17	Post-larva 4	4,900	110	0	100	10	100		1,500
" 18	Post-larva 5	4,500	110	0	100	10	100		3,000
" 19	Post-larva 6	4,900	110	0	100	10			1,000
" 20	Post-larva 7	4,900	110	0	100	10			4,000
" 21	Post-larva 8	4,900	110						

Note : 44 mother shrimp were put in the tank on August 4.

TABLE 4 : Daily record of a hatching experiment of white shrimp, *Penaeus setiferus*, in 1970.

Post-larval growth.

The age (Pn) and growth (mg) relationship of post-larvae is shown in figure 1. White shrimp exhibited better growth during the early post-larval stages (P1-P10) than the other tested. However, during the later post-larval stages, the growth rate of the white shrimp was significantly less. Growth of pink and brown shrimp was better than growth for white shrimp from P13 and P16 stages respectively.

Food requirements for white shrimp were 5.0 kg *Artemia* eggs plus 11.8 kg of pellet per 1 million baby shrimp. Those for pink shrimp were 5.7 kg of *Artemia* eggs plus 6.3 kg of pellet per 1 million baby shrimp. Kuruma shrimp required 5.0 kg of *Artemia* eggs plus 80.0 kg of baby neck clam meat (dry weight = 15.0 kg). There is no significant difference in the amount of *Artemia* required among species. The necessary amount of pellet required for 1 million post-larval white shrimp was two times that of pink shrimp. The retarded growth rate of white shrimp is due to the effect of higher density. The number of post-larval white shrimp produced per tank was 3.1 times larger than that for pink shrimp.

.../...

\* Spawning season of Kuruma shrimp is the period from May to August.



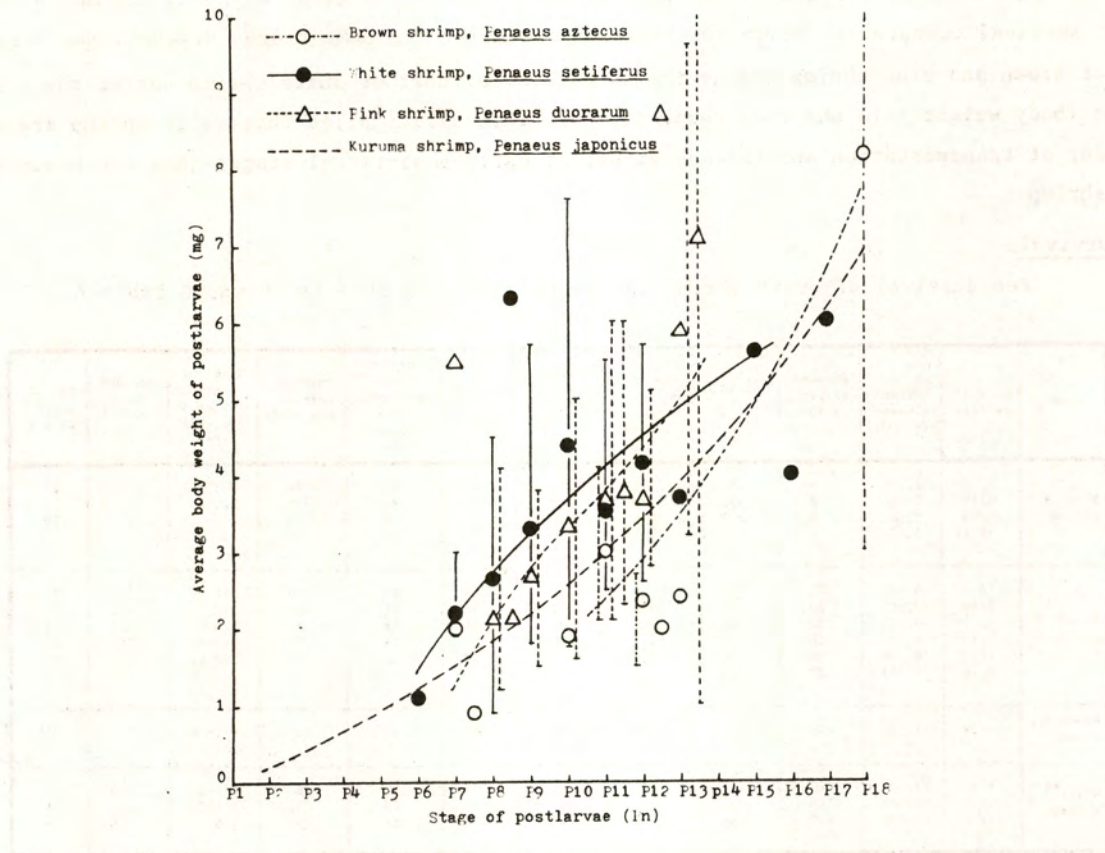


FIGURE 1 : Growth rate of post-larval penaeid shrimp.

Transportation survival.

Survival rate of post-larvae 3 days after release to pens was examined 33 times for brown shrimp, 36 times for white shrimp and 59 times for pink shrimp in 1971 and 1972. The relation between average body weight of post-larvae at release and the survival rate immediately after release (3 days) is shown in table 5.

Body weight (mg)	Brown shrimp		White shrimp		Pink shrimp	
	No. of test	Average (%)	No. of test	Average (%)	No. of test	Average (%)
0-1	1	48				
1-2			7	86.1 (74-99)	12	44.0 (5-82)
2-3	5	27.1 (2-91)	3	91.0 (82-98)	15	51.9 (0-100)
3-4			7	84.7 (72-100)	15	65.9 (1-100)
4-5	4	26.5 (12-47)	5	86.6 (78-100)	6	58.0 (3-88)
5-6			4	88.5 (85-93)	5	66.6 (34-91)
6-7			4	79.5 (68-90)	3	83.7 (79-90)
7-8			3	89.0 (79-100)		
8-9					1	54
9-10			1	100	1	82
10-20	11	78.2 (60-95)	2	88.0 (86-90)	1	84
20-30	5	84.0 (65-97)				
30-40	2	92 (90-94)				
40-50	3	80.7 (76-84)				
50-60						
60-	2	71.5 (55-88)				

Note : Survival rate was tested for 3 days after release.

TABLE 5 : Survival rate of baby shrimp immediately after release.

.../...



It is interesting to note that younger white shrimp (body weight : 0-5 mg) showed better survival compared to brown and pink shrimp during the same stage. However, the survival rate of brown and pink shrimp was at the same level of that of white shrimp during the older stages (body weight : 10 and 6 mg respectively). This data implies that white shrimp are more tolerant of transportation and release stress at early post-larval stages than are brown and pink shrimp.

Pen survival.

Pen survival of brown shrimp and white shrimp in 1973 is shown in table 6.

Kind	Date of release	No. of shrimp released (x 10 <sup>3</sup> )	Acreage of pen (x 10 <sup>3</sup> m <sup>2</sup> )	Initial density (/m <sup>2</sup> )	Expected No. per scoop (Initial)	Average No. per scoop (at the end)	Survival rate (%)	Survival rate immediately after release (%)	Survival rate at pen stage (%)	Stage of baby shrimp at release (Pn)	Average body weight (mg)	No. of days at pen
Brown * shrimp	5/ 2	2,700	6	450	146	133	89	93	96	P43-45	70	25
	5/17	2,200	8	275	89	95	100	95	100	P21-33	20	23
	5/29	5,100	8	637	206	54	25	76	33	P15	6	25
	6/ 4	3,800	8	475	154	83	53	82	65	P20	17	24
White * shrimp	7/ 9	9,800	20	490	159	102	63	86	73	P15	5.9	23
	7/11	10,800	20	540	175	173	96	81	100	P17	4.2	21
	7/11	9,200	20	460	149	94	61	88	69	P13	5.6	21
	7/12	9,100	20	455	147	69	46	79	58	P10-14	5.1	20
	7/13	8,600	20	430	139	47	33	82	40	P10-11	4.6	19
	7/16	2,900	20	145	47	-	-	-	-	-	-	-
Brown * shrimp	5/29	12,500	100	125	41	54	100	93	100	P17-18	11	30
White ** shrimp	6/13	43,500	160	272	88	66	73	73	100	P9-12	3.4	25
	6/21	19,000	140	135	44	33	73	79	92	P8-12	2.0	21
	7/ 4	46,800	100	468	152	145	94	85	100	P18	4.0	28

\* Shrimp were released into the pens installed in the bay.  
\*\* Shrimp were released into the ponds.

TABLE 6 : Survival rate of baby shrimp at pen stage.

Survival rate was 74.5 % for brown shrimp and 69.4 % for white shrimp. Survival was 71.7 % for shrimp released in pens and 98.6 % for those in ponds. The poorer survival rate of shrimp in pens is probably due to escape through holes and spaces formed accidentally on netting enclosures. Furthermore, tidal currents in coastal areas promote escape from pens.

DISCUSSION.

Hatchery production for brown, white and pink shrimp utilized sea water pumped from the estuary, St. Andrews Bay. In such cases, the propagation of desirable diatoms usually is not satisfactory due to dominant propagation of protozoa or uni-cellular green algae. However, the production of brown shrimp, white shrimp and pink shrimp was not retarded compared to Kuruma shrimp production in Japan. From these experiments, it is evident that the large scale method is applicable for the four species of penaeid shrimp tested.

Recently, high mortality\* of post-larval shrimp has been reported in some hatcheries in Japan. The hepatopancreas of post-larvae becomes white-turbid due to infection by

.../...

\* Mortality was often found at the beginning of the rainy season. This suggests that materials of terrestrial origin, such as pesticides may cause the disease.



pathogenic *Vibrio* spp. In order to eliminate pathogenic bacteria, chemical sterilization with sodium hypochlorite solution was applied to tank water by some researchers. This not only eradicates pathogenic bacteria but also useful marine organisms. The greater variety of food organisms propagated in large scale outdoor tanks provides a more balanced diet compared to pure cultured diatoms. Therefore, the application of chemical sterilization is not considered to be a practical control method for infectious *Vibrio* spp.

Antibiotics were proved to be effective in curing diseased shrimp. Good results were obtained by adding 2.5 to 10.0 g of terramycin (effective component : 10 %) in 1 kg of pellet, and feeding the mixture at a daily rate of 20 % of body weight for about a week. A more practical measure of prevention is to move pipe lines for pumping to deeper site.

One advantage of the large scale production method is that larvae are much less dependent on *Artemia* and that post-larvae grow well on formula feed. However, *Artemia* is still an essential food in mass production. One alternative food to *Artemia* is cultured rotifer, *Brachionus plicatilis*. It is necessary to determine experimentally the scale of rotifer culture per unit number of post-larval shrimp production.

Non-grooved shrimp (white shrimp) showed much better production efficiency compared to grooved shrimp. Furthermore, white shrimp showed good survival at pen stage even when released at 1 mg body weight. Pink shrimp showed better production compared to brown shrimp and Kuruma shrimp. These findings are very important for site and species selection in penaeid shrimp culture.

#### ACKNOWLEDGEMENT.

The author wishes to express his sincere thanks to the late Dr. Motosaku FUJINAGA for his valuable advice and encouragement, and Mr. Daniel E. ROBERTS, Jr. and Mr. Toshio MIZUMA for their help with hatching experiments. Thanks are due to Mr. Daniel E. ROBERTS, Jr. who helped me with the English expression of the paper.

#### BIBLIOGRAPHY.

- BURKENROAD, M.D., 1934. The penaeidea of Louisiana with a discussion of their world relationships. Bull. Amer. Mus. Natur. Hist., 68 : 61-143.
- HUDINAGA (FUJINAGA) M., 1942. Reproduction, development and rearing of *Penaeus japonicus* Bate. Jap. J. Zool., 10 : 305-392.
- HUDINAGA (FUJINAGA), M. and J. KITAKA, 1966. Studies on food and growth of larval stage of a prawn, *Penaeus japonicus*, with reference to the application to practical mass culture. Inform. Bull. Plankt. Japan, 13 : 83-94.
- HUDINAGA (FUJINAGA), M. and J. KITAKA, 1967. The large scale production of the young Kuruma prawn, *Penaeus japonicus* Bate. Inform. Bull. Plankt. Japan. Commemoration Number of Dr. Y. Matsue, 35-46. .../...



HUDINAGA (FUJINAGA), M. and J. KITAKA, 1975. Local and seasonal influences on the large scale production method for penaeid shrimp larvae. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 41 : 843-854.

KITAKA, J., 1972. In "Kanzen Senkai Yoshoku (Thorough Mariculture)" (T. Imai, M. Fujinaga *et al.*, ed.), Koseisha-Koseikaku, Tokyo : 344-408.

KITAKA, J., 1976. Food and growth of penaeid shrimp. Proceedings of the First International Conference on Aquaculture Nutrition, College of Marine Studies, Univ. of Delaware. 249-285 pp.



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de colloques du CNEXO, 4 : 203-212.

VARIATIONS DES CARACTERISTIQUES PONDERALES ET DES  
COMPOSITIONS AMINO-ACIDE ET PROTEIQUE PENDANT LE  
DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE DE *PALAEMON SERRATUS*.

par

P. RICHARD et H.J. CECCALDI

Ecole Pratique des Hautes Etudes, Laboratoire de Biochimie et Ecologie des Invertébrés marins,  
Station marine d'Endoume, Rue de la Batterie des Lions, 13007 Marseille, France.

RESUME.

*Les variations des poids humide et sec des oeufs en fonction de la taille des femelles, ainsi que des teneurs en acides aminés libres, protéines et lipoprotéines ont été analysées durant le développement embryonnaire. La composition amino-acide des protéines et des lipoprotéines a également été déterminée.*

*Le poids humide des oeufs augmente fortement durant l'embryogenèse, alors que le poids sec reste pratiquement constant. Le poids des oeufs est directement, et étroitement, corrélé à la taille des femelles.*

*La teneur en acides aminés libres totaux est multipliée par quatre entre la ponte et l'éclosion, reflétant l'augmentation de quelques acides aminés : proline, glycine, alanine, acide glutamique, alors que les proportions des acides aminés dits essentiels diminuent, surtout celle du tryptophane.*

*La légère diminution de la concentration protéique totale au cours du développement rend compte de la formation des protéines de l'embryon aux dépens des lipoprotéines du vitellus. Les compositions en acides aminés des protéines et des lipoprotéines vitellines sont très voisines, seuls quelques acides aminés diffèrent légèrement : lysine, sérine, cystine, isoleucine. Au cours de l'embryogenèse, elles ne varient presque pas.*

ABSTRACT.

*Wet and dry weights variations related to mother shrimps length, as well as free amino acids, proteins and lipoproteins concentrations of the eggs, have been measured during embryonic development.*

*Eggs wet weight strongly increases whereas dry weight remains nearly constant. Both are closely correlated to mother shrimp length.*

*Total free amino acids concentration is fourfold higher at hatching than at laying, due to the increase of some amino acids such as proline, glycine, alanine and glutamic acid, whereas the so-called essential ones decrease in percentage, chiefly the tryptophane ratio.*

*The slight fall of the total protein concentration throughout the development is the result of embryonic proteins synthesis from lipoproteins. Aminoacid composition of proteins is very similar to the lipoproteins one, excepted for a few amino acids : lysine, serine, cystine, isoleucine. Those compositions are almost constant throughout the embryogenesis.*

.../...



## INTRODUCTION.

Le développement de l'aquaculture des crustacés nécessite la production d'un nombre de plus en plus important de larves. Pour cela, il faudra tenir compte de la qualité des géniteurs et chercher à améliorer les conditions d'élevage, notamment au point de vue alimentation.

Pour le choix des géniteurs, il faut au préalable connaître les relations entre la survie des larves et plusieurs paramètres caractéristiques des oeufs (poids, composition biochimique) et des femelles (race, taille, conditions de maturation des ovaires et d'incubation des oeufs). L'alimentation des larves avec des nauplii d'*Artemia salina* pose de nombreux problèmes (BOOKHOUT and COSTLOW, 1970 ; WICKINS, 1972), aussi certains commencent à chercher à fabriquer des aliments composés pour larves. Pour cela, il est nécessaire de connaître la meilleure composition du régime à donner, qui doit être très proche de celle des oeufs pour les premières larves. Une revue générale des travaux réalisés sur la composition biochimique des oeufs de crustacés a été publiée par GREEN en 1965. Si les développements d'*Artemia salina* et de *Balanus* sp. ont été relativement bien étudiés, on a par contre très peu de données sur les crustacés décapodes.

Dans ce travail, nous avons étudié les relations entre le poids des oeufs, leur teneur en eau et la taille des femelles, et les variations de leurs compositions protéique et aminoacide, afin d'avoir quelques informations pour effectuer le choix des meilleurs oeufs et des meilleures femelles, et avoir des bases pour l'établissement d'un régime alimentaire pour les larves de *Palaemon serratus*.

## MATERIEL ET METHODES.

### Provenance des oeufs.

Aussitôt après la pêche, dans les herbiers du golfe de Fos, près de Marseille, des femelles grainées de *Palaemon serratus*, les oeufs sont prélevés après mesure de la longueur standard de la crevette (du milieu de l'extrémité du telson à la base des pédoncules oculaires). Le stade de développement est déterminé selon des caractéristiques définies dans un travail précédent (RICHARD, 1974). Les oeufs sont ensuite comptés, rincés, essorés sur un papier filtre, pesés et lyophilisés.

### Traitement des échantillons.

L'extraction des acides aminés libres est faite par l'acide sulfosalicylique 3 % selon une méthode décrite par ailleurs (RICHARD, 1976). Le culot après centrifugation est remis en suspension dans de l'éthanol 95° pendant 10 minutes à 20° C, pour enlever la plus grande part des lipides. Pour une première série d'échantillons, cela a été réalisé grâce à un désintégrateur à ultrasons, ce qui a mis en solution dans l'alcool les lipoprotéines. Le culot protéique restant après centrifugation représente alors les protéines de l'embryon alors que le surnageant contient les lipoprotéines du vitellus. Pour les autres échantillons une simple mise en suspension du culot par agitation n'a pas solubilisé les protéines vitellines, ainsi que nous l'ont montré des dosages témoins. .../...



Analyses.

Acides aminés libres : Ils ont été dosés sur un analyseur d'acides aminés Beckman Spinco 120 C.

Protéines et lipoprotéines : Leur dosage est réalisé selon la technique de LOWRY *et al.* (1951).

Acides aminés protéiques et lipoprotéiques : La composition en acides aminés a pu être déterminée après trois types d'hydrolyse des protéines et des lipoprotéines. Une hydrolyse normale par HCl 6N pendant 24 h à 110° C sous vide permet de doser presque tous les acides aminés, mais pour la cystine, il faut procéder auparavant à une oxydation performique, et pour le tryptophane, il faut rajouter dans l'acide chlorhydrique 4 % d'acide thioglycolique. Les acides aminés sont ensuite dosés sur l'autoanalyseur Beckman.

RESULTATS.

Poids des oeufs.

La figure 1 montre les variations du poids humide et du poids sec au cours du développement embryonnaire. Le poids humide est multiplié par deux entre la ponte et l'éclosion, essentiellement par augmentation de la teneur en eau (de 47 à 71 %) car le poids sec ne varie pratiquement pas. La teneur en eau s'élève très rapidement au début du développement, jusqu'au stade D.

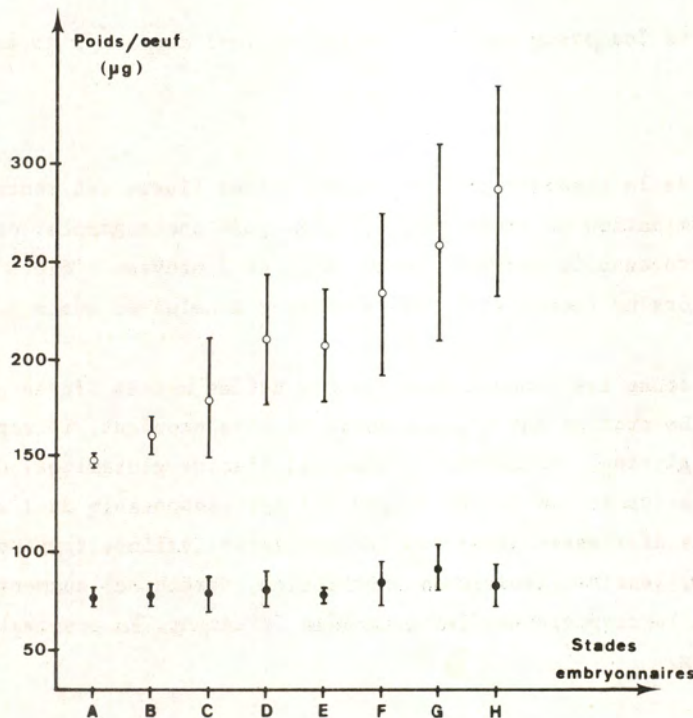


FIGURE 1 : Variations des poids humide (o) et sec (●) des oeufs de *Palaemon serratus* pendant l'embryogenèse.

.../...



Les relations entre les poids humide et sec et la taille des femelles sont indiquées sur la figure 2. Les femelles les plus grandes portent les oeufs les plus gros, non seulement car leur teneur en eau est légèrement plus importante (61 % pour une crevette de 50 mm, 71 % pour une de 80 mm), mais aussi parce que leur poids sec est supérieur.

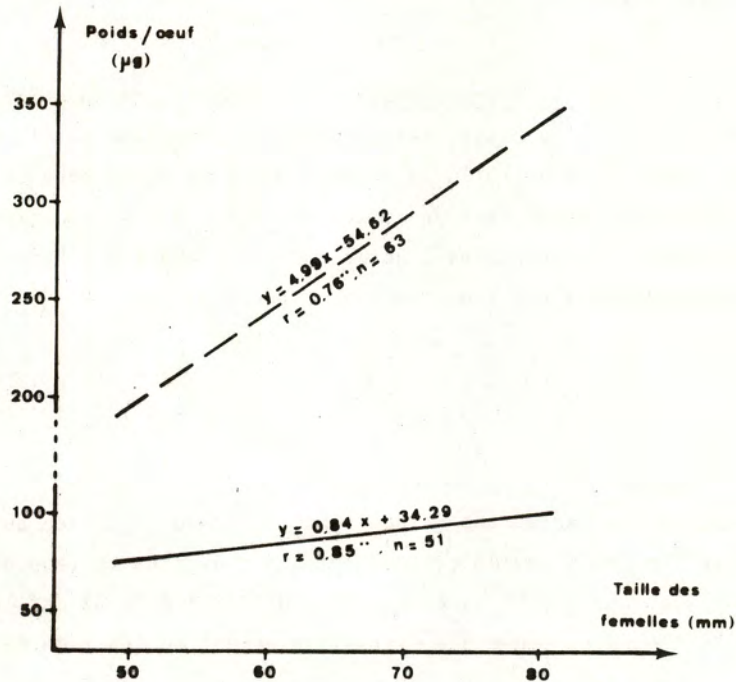


FIGURE 2 : Relations entre les poids humide (- -) et sec (—) des oeufs et la longueur des femelles.

#### Acides aminés libres.

La variation de la teneur totale en acides aminés libres est montrée sur la figure 3. On note une légère diminution du stade A au stade B, puis une augmentation jusqu'en D. La concentration totale reste ensuite au même niveau en E, et à nouveau s'élève rapidement jusqu'en H. Elle atteint alors un taux quatre fois supérieur à celui du stade A.

Le tableau 1 donne les teneurs moyennes des acides aminés libres pendant le développement embryonnaire. La proline est l'acide aminé le plus abondant, il représente 30 % du total. Puis viennent la glycine, la taurine, l'alanine, l'acide glutamique. C'est la forte élévation de la concentration de ces acides aminés qui est responsable de l'augmentation totale. Les acides aminés dits essentiels chez les crustacés (valine, tryptophane, lysine, histidine, phénylalanine, leucine, isoleucine, méthionine, thréonine) augmentent beaucoup moins en valeur absolue, le tryptophane diminuant même fortement. En pourcentage, ils subissent une nette diminution.



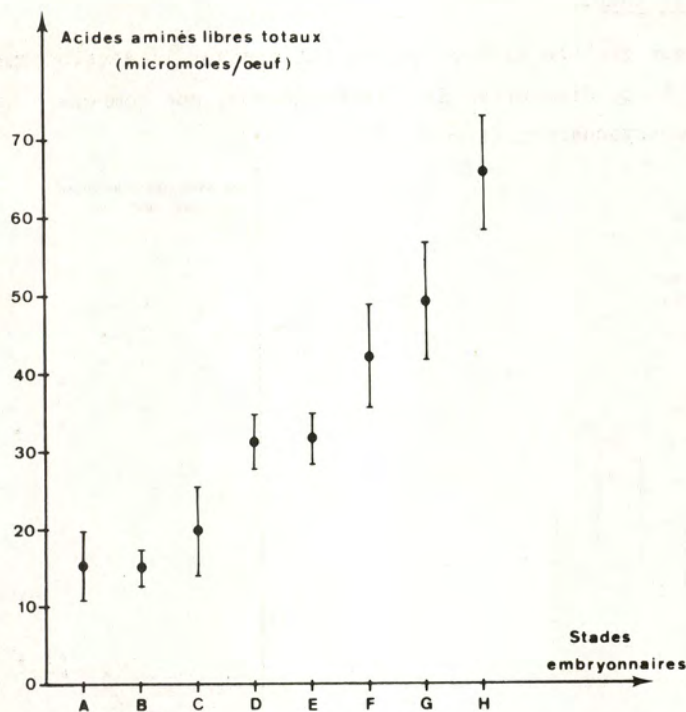


FIGURE 3 : Evolution de la teneur en acides aminés libres totaux au cours du développement embryonnaire de *Palaemon serratus*.

Acides aminés	STADES							
	A (2) <sup>+</sup>	B (5) <sup>+</sup>	C (8) <sup>+</sup>	D (5) <sup>+</sup>	E (4) <sup>+</sup>	F (7) <sup>+</sup>	G (9) <sup>+</sup>	H (15) <sup>+</sup>
GABA	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,3 ± 0,1	0,5 ± 0,2	0,9 ± 0,2
Orn	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,0	1,0 ± 0,4
Lys	3,3 ± 1,0	3,5 ± 0,3	3,0 ± 0,7	3,6 ± 1,3	2,0 ± 0,5	1,5 ± 0,5	1,7 ± 0,2	5,5 ± 0,9
His	0,7 ± 0,0	0,6 ± 0,2	1,0 ± 0,5	1,4 ± 0,2	0,9 ± 0,4	1,2 ± 0,6	1,4 ± 0,9	1,8 ± 0,5
Try	7,2 ± 2,0	6,5 ± 1,2	6,2 ± 1,4	5,9 ± 1,5	3,3 ± 1,3	3,2 ± 0,9	3,4 ± 0,6	1,8 ± 1,0
Arg	3,5 ± 2,0	3,3 ± 0,6	3,9 ± 1,3	5,4 ± 1,7	4,5 ± 1,5	4,5 ± 1,4	4,9 ± 1,6	6,7 ± 1,0
Méthylhis	0,6 ± 0,3	1,2 ± 0,3	1,9 ± 0,4	1,6 ± 0,5	1,6 ± 0,3	1,5 ± 0,6	1,6 ± 0,3	1,1 ± 0,5
Tau	14,5 ± 4,0	15,7 ± 2,3	15,8 ± 1,5	20,5 ± 1,6	20,3 ± 2,5	21,1 ± 3,5	22,0 ± 3,5	21,2 ± 2,2
Urée	21,6 ± 5,0	29,0 ± 3,1	29,1 ± 3,9	30,7 ± 2,3	32,0 ± 4,0	25,9 ± 8,8	25,6 ± 4,9	31,1 ± 6,0
Asp	2,3 ± 1,0	2,3 ± 0,6	3,9 ± 0,9	5,4 ± 1,0	4,5 ± 0,4	4,4 ± 0,7	3,9 ± 0,5	2,5 ± 0,6
Thr	2,5 ± 0,9	2,1 ± 0,5	2,3 ± 0,5	2,8 ± 1,2	2,8 ± 0,9	2,1 ± 0,8	1,9 ± 0,7	3,3 ± 0,8
Ser	5,2 ± 1,7	3,3 ± 0,3	3,8 ± 1,1	4,5 ± 1,2	2,9 ± 0,2	3,7 ± 1,2	3,3 ± 1,9	4,4 ± 1,2
Gln + Aen	2,4 ± 0,8	1,6 ± 0,8	1,9 ± 0,8	3,0 ± 0,5	1,5 ± 0,7	2,9 ± 1,3	2,7 ± 1,3	4,3 ± 1,3
Sar	6,4 ± 1,7	8,3 ± 0,8	10,3 ± 1,2	12,1 ± 1,9	13,7 ± 1,6	13,6 ± 1,9	14,0 ± 2,1	11,7 ± 1,8
Pro	30,0 ± 2,3	27,7 ± 4,8	26,6 ± 3,6	36,6 ± 5,7	46,9 ± 9,6	56,1 ± 9,9	62,2 ± 9,3	82,1 ± 9,4
Glu	5,8 ± 2,2	5,8 ± 1,1	7,1 ± 0,7	10,4 ± 1,4	11,3 ± 1,8	12,7 ± 2,4	12,9 ± 1,9	14,1 ± 2,4
Gly	6,4 ± 0,6	4,1 ± 0,1	8,2 ± 1,7	11,4 ± 2,5	14,4 ± 1,8	20,2 ± 3,7	20,8 ± 2,5	28,4 ± 6,8
Ala	3,1 ± 0,4	2,4 ± 0,4	3,6 ± 0,6	7,5 ± 0,5	6,9 ± 1,4	8,0 ± 2,2	10,9 ± 3,7	18,0 ± 4,9
AABA	Tr.	0,4 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,4 ± 0,2	0,4 ± 0,0	0,5 ± 0,2	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,1
Val	1,3 ± 0,4	1,1 ± 0,3	1,6 ± 0,7	3,1 ± 1,0	2,0 ± 0,5	2,3 ± 0,7	2,5 ± 0,6	4,0 ± 1,1
Met	2,1 ± 1,2	1,3 ± 0,3	1,7 ± 0,4	3,3 ± 1,3	1,3 ± 0,2	1,9 ± 0,7	1,8 ± 0,6	2,7 ± 0,3
Ile	1,5 ± 0,4	1,3 ± 0,4	1,5 ± 0,5	2,7 ± 0,9	2,0 ± 0,6	1,9 ± 0,6	2,4 ± 0,8	3,0 ± 0,7
Leu	2,1 ± 1,1	1,5 ± 0,2	2,0 ± 0,9	3,9 ± 1,6	2,2 ± 0,7	2,2 ± 0,9	2,5 ± 0,9	4,0 ± 1,0
Tyr	1,0 ± 0,7	1,2 ± 0,1	1,7 ± 0,3	3,0 ± 0,6	2,2 ± 0,3	2,4 ± 0,5	2,6 ± 0,5	2,6 ± 0,4
Phe	2,6 ± 1,2	2,3 ± 0,4	1,6 ± 0,6	2,0 ± 1,3	1,4 ± 0,2	1,5 ± 0,5	1,7 ± 0,6	2,4 ± 0,4
β-Ala	Tr.	Tr.	Tr.	0,7 ± 0,3	0,7 ± 0,4	1,3 ± 0,2	1,8 ± 0,3	3,1 ± 0,9

+ Nombre d'échantillons

TABLEAU 1 : Concentrations des acides aminés libres des oeufs de *Palaemon serratus* (en micromoles/g poids humide) au cours du développement embryonnaire.

.../...



Protéines et lipoprotéines.

Leur teneur globale diminue légèrement pendant le développement (figure 4), ce qui est expliqué par la forte diminution des lipoprotéines, non compensée par une faible augmentation des protéines embryonnaires (figure 5).

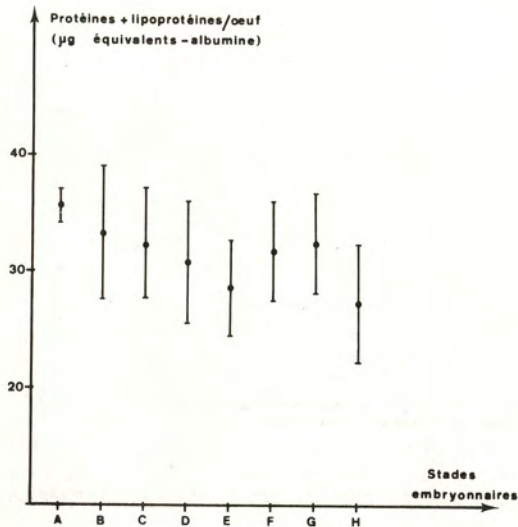


FIGURE 4 : Variation de la teneur protéique totale au cours du développement embryonnaire de Palaemon serratus.

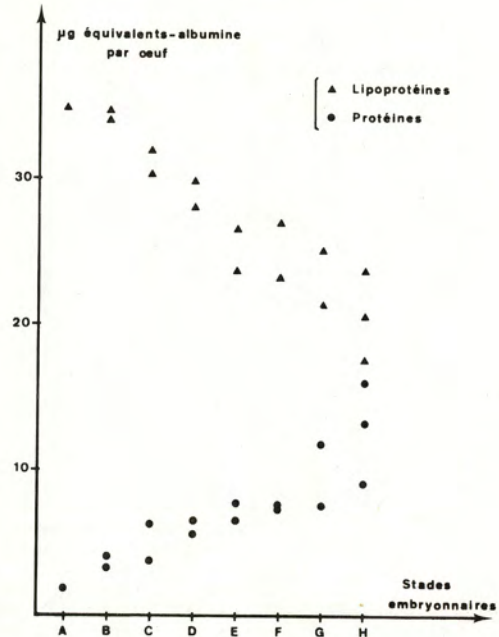


FIGURE 5 : Variations des protéines et des lipoprotéines des oeufs au cours de l'embryogénèse.

Composition aminoacide des protéines et des lipoprotéines.

Les compositions en acides aminés des protéines et des lipoprotéines du vitellus sont données dans les tableaux 2 et 3.

On peut y relever une très grande similarité sauf pour quelques acides aminés : lysine, cystine, isoleucine (plus abondants dans les lipoprotéines), et sérine (plus abondant dans les protéines).

Au cours du développement embryonnaire, les proportions des divers acides aminés ne varient pratiquement pas. Certaines augmentent (lysine, histidine, arginine) ou diminuent (sérine) légèrement, mais ces variations ne sont pas significatives. Seule la cystine semble baisser de manière assez nette dans les protéines.



Acides aminés	A (3)	B (6)	C (6)	D (6)	E (6)	F (6)	G (6)	H (8)
Try	1,2 ± 0,6	2,3 ± 1,1	1,2 ± 0,3	1,4 ± 0,2	1,9 ± 0,8	1,0 ± 0,5	1,5 ± 0,1	2,2 ± 1,1
Lys	5,8 ± 0,8	5,4 ± 1,1	6,6 ± 0,3	6,6 ± 0,4	6,9 ± 0,3	7,1 ± 0,3	7,0 ± 0,4	8,1 ± 2,1
His	1,8 ± 0,2	1,9 ± 0,5	1,9 ± 0,3	2,3 ± 0,5	2,0 ± 0,2	2,0 ± 0,1	2,1 ± 0,1	2,6 ± 0,7
Arg	4,8 ± 0,3	4,9 ± 0,3	4,9 ± 0,2	4,9 ± 1,0	5,2 ± 0,1	5,0 ± 0,3	5,1 ± 0,3	6,0 ± 1,7
Asp	9,8 ± 0,5	10,5 ± 1,0	10,1 ± 0,5	9,8 ± 0,4	10,2 ± 0,6	10,0 ± 0,5	10,5 ± 0,3	10,8 ± 1,7
Thr	6,6 ± 1,5	6,0 ± 0,7	4,9 ± 0,2	4,9 ± 0,1	5,2 ± 0,3	5,2 ± 0,1	4,8 ± 0,9	5,2 ± 0,3
Ser	9,3 ± 1,4	9,0 ± 0,8	7,4 ± 0,1	7,2 ± 0,1	7,4 ± 0,2	7,4 ± 0,3	7,3 ± 0,9	6,6 ± 0,5
Glu	11,4 ± 1,5	11,7 ± 2,2	13,3 ± 0,3	13,0 ± 0,4	12,9 ± 0,6	13,4 ± 0,7	12,8 ± 0,2	12,3 ± 0,6
Pro	4,5 ± 0,2	5,0 ± 0,3	5,1 ± 0,6	4,4 ± 0,8	5,5 ± 0,7	4,7 ± 0,7	4,9 ± 0,2	4,4 ± 0,5
Gly	7,4 ± 1,0	7,7 ± 1,2	7,7 ± 1,1	7,7 ± 1,2	7,7 ± 0,7	7,7 ± 0,5	7,7 ± 0,6	7,2 ± 0,5
Ala	6,5 ± 0,0	6,7 ± 0,2	7,2 ± 0,4	7,3 ± 0,6	7,4 ± 0,3	7,6 ± 0,3	7,4 ± 0,2	7,2 ± 0,7
Val	6,9 ± 0,1	6,6 ± 0,1	6,5 ± 0,2	6,7 ± 0,2	6,6 ± 0,2	6,2 ± 0,3	6,3 ± 0,4	6,1 ± 0,3
Cys	1,5 ± 0,2	1,3 ± 0,5	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,7 ± 0,4	0,4 ± 0,3
Met	2,8 ± 1,0	3,0 ± 1,1	3,3 ± 0,5	3,3 ± 0,5	3,2 ± 0,4	3,3 ± 0,3	3,2 ± 0,2	2,7 ± 0,2
Ile	4,8 ± 0,4	4,7 ± 0,3	4,8 ± 0,2	4,9 ± 0,3	4,8 ± 0,1	4,7 ± 0,3	4,7 ± 0,3	4,7 ± 0,4
Leu	8,2 ± 0,1	8,1 ± 0,1	8,3 ± 0,1	8,3 ± 0,9	8,3 ± 0,2	8,4 ± 0,1	8,3 ± 0,1	7,9 ± 0,6
Tyr	2,7 ± 0,3	2,9 ± 0,1	3,3 ± 0,2	3,0 ± 0,2	2,8 ± 0,2	3,2 ± 0,1	3,3 ± 0,3	3,1 ± 0,4
Phe	3,4 ± 0,1	3,8 ± 0,3	3,5 ± 0,0	3,9 ± 0,2	3,7 ± 0,2	4,1 ± 0,3	3,7 ± 0,3	3,8 ± 0,3

TABLEAU 2 : Composition aminoacide (en pourcentage molaire) des protéines embryonnaires de *Palaemon serratus* au cours du développement des oeufs.

Acides aminés	A (1)	B (2)	C (2)	D (2)	E (2)	F (2)	G (2)	H (2)
Try	1,5	1,7 ± 0,6	1,1 ± 0,5	1,4 ± 0,8	1,4 ± 0,4	1,8 ± 0,7	1,5 ± 0,7	2,0 ± 0,8
Lys	7,9	7,7 ± 0,9	7,9 ± 0,8	9,4 ± 1,4	8,0 ± 0,8	8,2 ± 0,1	7,8 ± 0,4	10,9 ± 3,7
His	2,2	2,4 ± 0,4	2,3 ± 0,4	2,7 ± 0,1	2,9 ± 0,5	2,5 ± 0,3	2,3 ± 0,3	3,3 ± 0,9
Arg	5,3	5,5 ± 0,8	5,4 ± 0,6	5,9 ± 0,0	5,9 ± 0,3	5,7 ± 0,7	5,4 ± 0,3	7,5 ± 1,8
Asp	8,7	8,4 ± 1,1	9,5 ± 0,1	9,6 ± 0,4	9,8 ± 0,5	9,8 ± 0,8	10,1 ± 0,9	9,2 ± 1,1
Thr	4,6	5,0 ± 0,1	4,9 ± 0,0	5,3 ± 0,8	5,0 ± 0,6	5,2 ± 0,5	4,9 ± 0,5	4,7 ± 0,6
Ser	6,4	7,2 ± 0,2	6,5 ± 0,1	5,6 ± 0,8	6,2 ± 0,4	6,1 ± 0,4	5,5 ± 0,3	5,0 ± 0,1
Glu	13,6	13,7 ± 0,2	13,7 ± 0,1	11,8 ± 1,8	13,2 ± 0,8	13,1 ± 0,9	12,6 ± 0,9	11,9 ± 1,6
Pro	4,4	4,7 ± 0,2	4,4 ± 0,0	4,5 ± 0,3	4,5 ± 0,4	5,0 ± 1,3	4,0 ± 1,0	5,3 ± 1,3
Gly	6,2	5,6 ± 1,5	6,6 ± 0,0	6,5 ± 0,4	7,0 ± 0,6	7,5 ± 0,3	7,7 ± 0,8	6,9 ± 0,9
Ala	7,2	7,4 ± 0,1	7,4 ± 0,0	6,9 ± 0,1	5,8 ± 0,3	7,9 ± 0,4	8,0 ± 0,4	7,3 ± 1,5
Val	7,2	7,5 ± 0,2	7,4 ± 0,1	6,9 ± 0,3	7,4 ± 0,5	7,1 ± 0,3	6,9 ± 0,3	6,4 ± 1,2
Cys	1,4	1,8 ± 0,1	1,3 ± 0,2	1,1 ± 0,1	1,6 ± 0,4	1,7 ± 0,2	1,3 ± 0,3	2,1 ± 0,8
Met	4,5	2,8 ± 1,0	2,7 ± 0,3	4,0 ± 0,3	2,6 ± 0,9	2,9 ± 0,8	3,2 ± 0,8	1,5 ± 0,7
Ile	5,7	5,8 ± 0,1	6,8 ± 1,5	5,6 ± 0,2	6,1 ± 0,5	5,6 ± 0,4	5,4 ± 0,4	5,1 ± 0,7
Leu	8,4	8,5 ± 0,2	9,0 ± 0,1	8,4 ± 0,2	9,0 ± 0,6	8,6 ± 0,6	8,4 ± 0,7	7,9 ± 1,3
Tyr	2,7	2,8 ± 0,3	2,8 ± 0,0	2,8 ± 0,0	2,9 ± 0,3	2,9 ± 0,2	2,9 ± 0,2	2,6 ± 0,3
Phe	3,6	4,3 ± 0,9	3,7 ± 0,0	3,7 ± 0,0	3,9 ± 0,3	3,7 ± 0,3	3,7 ± 0,5	3,6 ± 0,4

TABLEAU 3 : Composition aminoacide (en pourcentage molaire) des lipoprotéines des oeufs de *Palaemon serratus* au cours du développement embryonnaire.

.../...



#### DISCUSSION ET CONCLUSIONS.

L'augmentation du volume des oeufs pendant le développement embryonnaire est due essentiellement à une absorption d'eau. Mais, dans la mesure où une certaine fraction des réserves de l'oeuf est utilisée comme source d'énergie, il devrait y avoir une diminution du poids sec, comme on l'observe chez les espèces dulçaquicoles (GREEN, 1965). Ceci n'apparaît pas chez *Palaemon serratus* et chez d'autres crustacés marins (DUTRIEU, 1960) car il y a, en même temps que l'augmentation de la teneur en eau, une absorption de sels et de produits secrétés par la mère (GREEN, 1965).

Comme chez *Balanus balanoides* et *B. balanus* (BARNES, 1965) la teneur en eau est multipliée par environ 1,7 entre la ponte et l'éclosion, avec une augmentation rapide surtout au début du développement, du stade B au stade D.

Les femelles les plus grandes portent les oeufs les plus gros, dont le poids sec est également plus élevé ce qui indique que leurs réserves sont plus importantes. Ceci pourrait avoir une influence sur les chances de survie et la résistance des larves. En effet, les réserves vitellines permettent à la jeune larve de vivre sans s'alimenter au moins jusqu'à la première mue, et une petite quantité de réserves en plus peut suffire à favoriser grandement leur résistance.

L'augmentation de la teneur en acides aminés libres reflète à la fois les synthèses d'acides aminés qui peuvent se produire, et le remaniement des protéines. Les principaux acides aminés libres de *Palaemon serratus* sont différents de ceux d'*Artemia salina* (DUTRIEU, 1960), mais comme chez cette espèce, l'éclosion se traduit par d'importants changements dans leurs proportions : dans les oeufs par exemple la proline représente 30 % des acides aminés libres totaux, la glycine 6 à 12 %, l'alanine 3 à 7 %, alors que chez la larve venant d'éclore, la proline compte pour 8 %, la glycine 28 % et l'alanine 8 % du total (RICHARD, 1976). Ceci est peut être dû au fait que la larve n'est plus protégée, par l'enveloppe de l'oeuf, du milieu extérieur et doit assurer d'autres équilibres osmotiques.

Au cours du développement embryonnaire, les changements des teneurs des acides aminés libres correspondent aux remaniements des protéines mais il est difficile de lier les deux phénomènes dans la mesure où tout n'est pas dosé lors des analyses (petits peptides, sucres aminés, etc...).

La diminution de la concentration protéique totale est faible chez *Palaemon serratus* comme chez *Balanus balanoides* et *B. balanus* (BARNES, 1965). Chez *Artemia* cette teneur reste constante. Pour GREEN (1965) et BARNES (1965) les protéines ne constituent pas un substrat respiratoire pendant le développement embryonnaire, ce qui est confirmé par le faible niveau d'activité des enzymes du métabolisme protéique (CECCALDI et TRELLU, 1975).

La composition aminoacide des protéines des oeufs de *Palaemon serratus* est très voisine de celle de *Palinurus japonicus* (SUYAMA, 1959) : les principaux acides aminés sont l'acide glutamique (environ 12 %), l'acide aspartique (10 %), et la leucine (8 %).

.../...



La composition des protéines embryonnaires est similaire à celle des lipoprotéines ; seules la lysine, la sérine, la cystine et l'isoleucine diffèrent légèrement. Les valeurs trouvées par CECCALDI *et al.* (1967) pour les caroténo-lipoprotéines d'ovaires de crustacés sont tout à fait comparables aux nôtres.

Les variations des proportions des acides aminés protéiques sont très limitées. Elles semblent être plus prononcées au passage du stade G au stade H dans les lipoprotéines, mais la grande variabilité des résultats à ce moment-là fait qu'elles ne sont pas plus significatives que pendant le reste du développement.

Ces résultats peuvent servir de base pour l'établissement éventuel d'un aliment composé pour larves de *Palaemon serratus* en ce qui concerne sa partie protéique et aminoacide. Les oeufs de *Palaemon* constituent en effet la meilleure nourriture pour les larves de *P. serratus* : la métamorphose est obtenue plus tôt et la survie est meilleure qu'avec des nauplii d'*Artemia* (CAMPILLO, 1975). Il paraît donc plus logique de s'appuyer sur la composition des oeufs de *Palaemon* plutôt que sur celle des nauplii d'*Artemia* pour rechercher le meilleur aliment composé, et nous espérons que ces résultats pourront y contribuer.

#### BIBLIOGRAPHIE.

- BARNES, H., 1965. Studies in the biochemistry of Cirripede eggs. I. Changes in the biochemical composition during development of *Balanus balanoides* and *B. balanus*. J. mar. biol. Ass. U.K., 45 : 321-339.
- BOOKHOUT, C.G. and J.D. COSTLOW, Jr., 1970. Nutritional effects of *Artemia* from different locations on larval development of crabs. Helgoländer wiss. Meeresunters., 20 : 435-442.
- CAMPILLO, A., 1975. Données pratiques sur l'élevage au laboratoire des larves de *Palaemon serratus* (Pennant). Rev. Trav. Inst. Pêches marit., 39 : 395-405.
- CECCALDI, H.J. et J. TRELLO, 1975. Apparition des activités enzymatiques digestives dans les oeufs de *Palaemon serratus* Pennant (Crustacé Décapode) au cours de l'embryogénèse. C.R. Soc. Biol., 161, 1249.
- CECCALDI, H.J., R. DAUMAS et P.F. ZAGALSKY, 1967. Comparaison des compositions en acides aminés des caroténo-lipoprotéines provenant d'ovaires de trois crustacés et d'un mollusque marins. C.R. Soc. Biol., 161, 1111.
- DUTRIEU, J., 1960. Observations biochimiques et physiologiques sur le développement d'*Artemia salina* Leach. Archs Zool. exp. gén., 99 : 1-134.
- GREEN, J., 1965. Chemical embryology of the Crustacea. Biol. Rev., 40 : 580-600.
- LOWRY, O.H., N.J. ROSEBROUGH, A.L. FARR et R.J. RANDALL, 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193 : 265-275.

.../...



- RICHARD, P., 1974. Contribution à l'étude du développement larvaire et de l'organogenèse chez *Palaemon serratus*, et du métabolisme des acides aminés libres chez cette espèce et *Penaeus kerathurus*. Thèse 3ème cycle. Université Aix-Marseille II.
- RICHARD, P., 1976. Variations des acides aminés libres au cours du développement larvaire de *Palaemon serratus* (Crustacea : Natantia). Ann. Inst. océanogr., Paris, 52 : 79-87.
- SUYAMA, M., 1959. Biochemical studies on the eggs of aquatic animals. Bull. Jap. Soc. sci. Fish., 25 : 48-51.
- WICKINS, J.F., 1972. The food value of brine shrimp *Artemia salina* L. to larvae of the prawn *Palaemon serratus* Pennant. J. exp. mar. Biol. Ecol., 10 : 151-170.



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4 : 213-232.

PRODUCTION DE MASSE DE POST-LARVES DE  
*MACROBRACHIUM ROSENBERGII* (DE MAN)  
EN MILIEU TROPICAL : UNITE PILOTE.

par  
AQUACOP<sup>+</sup>

Centre Océanologique du Pacifique, B.P. 7004, Taravao, Tahiti.

RESUME.

Depuis 1973, dans le cadre d'un contrat avec le Territoire de Polynésie Française, le Centre Océanologique du Pacifique (Vairao - Tahiti) du CNEXO a mis au point une technique originale de production de masse de post-larves de *Macrobrachium rosenbergii* à l'échelle expérimentale : haute densité (plus de 100 larves/litre), eau claire stagnante, préalablement traitée, renouvelée chaque jour ; contrôle quotidien et rigoureux des conditions du milieu et des larves ; production moyenne 50 post-larves/litre.

Une écloserie pilote a été réalisée fin 1976. Les installations et le premier cycle de production, qui a abouti à la mise en grossissement d'un demi-million de post-larves, sont décrits et analysés. Les résultats obtenus confirment la fiabilité de la technique et la possibilité de passer des volumes d'élevage unitaires expérimentaux de 800 litres à ceux de production de 2 m<sup>3</sup>.

Le coût de production (en frais de fonctionnement) a été de 81 FF/1 000 P.L. (16 US \$) et il semble possible de l'abaisser facilement à 35 FF/1 000 P.L. (7 US \$).

La simplicité des installations, allant de pair avec un contrôle rigoureux de l'élevage, doit permettre d'adapter rapidement cette technique dans des contextes d'environnement différents.

ABSTRACT.

Since 1973, in a common venture with the Territory of French Polynesia, the CNEXO, Centre Océanologique du Pacifique (Vairao - Tahiti), has set up a new technique for mass production of *Macrobrachium rosenbergii* post-larvae, at an experimental scale : high density (more than 100 larvae/liter), clear water, preliminarily treated, daily changed, with daily close controls of the water conditions and of larvae, average production 50 post-larvae/liter.

A pilot hatchery was set up in the third quarter of 1976. The facilities and the first production, which ended with the stocking of half a million post-larvae in ponds, are described and analysed. The results confirm that the technique is reliable and that the production tanks of 2 m<sup>3</sup> give as good results as the experimental 800 liters ones.

The production cost was 16 US \$/1 000 P.L. (81 FF) and it looks like it could be easily lowered to 7 US \$.

The plainness of the installation and the close controls of the rearing may enable easy fitting in various conditions.

.../...



+ AQUACOP, équipe d'aquaculture du C.O.P.

- Algues et mollusques : J.L. Martin, O. Millous, Y. Normant, J. Moriceau, D. Carlson, D. Gillet.
- Nutrition : G. Cuzon, A. Febvre, J. Melard, L. Mu, C. de la Pomelie, G. Fagnoni, J. Gatesoupe, P. Vilmorin.
- Contrôle et traitement de l'eau : J. Calvas, H. Bouchard, B. Coudeaux.
- Pathologie : J.F. Le Bitoux, J. Robin.
- Elevage de crustacés et poissons : J.M. Griessinger, P. Hatt, M. Jarillo, F. Fallourd, T. Orth, J.P. Landret, O. Avalle, D. Amaru, A. Bennett, V. Vanaa, J. Mazurié, G. Poullaouec, D. Lacroix, B. Aufavre, X. Sandrin, J. Goguenheim, S. Robert.
- Technologie : J.F. Virmaux.
- Responsable de l'équipe : A. Michel.



INTRODUCTION.

De 1973 à 1976, dans le cadre d'un contrat liant le Territoire de Polynésie Française et le CNEXO, une technique d'élevage larvaire de *Macrobrachium rosenbergii* et de production de masse de post-larves a été mise au point au Centre Océanologique du Pacifique (Vairao, Tahiti), à l'échelle de l'écloserie expérimentale (AQUACOP, 1977 a). Cet élevage a lieu à forte densité et en eau claire. Les résultats obtenus ont conduit à la réalisation d'une écloserie pilote. La présente publication décrit et analyse le premier essai de production effectué d'octobre à décembre 1976, avec pour objectif de produire 500 000 post-larves.

MATERIEL ET METHODES.

L'élevage est effectué à 28° C en eau claire stagnante, fortement brassée, de salinité variant de 8 à 12‰, renouvelée une fois par jour en totalité.

L'écloserie (figure 1).

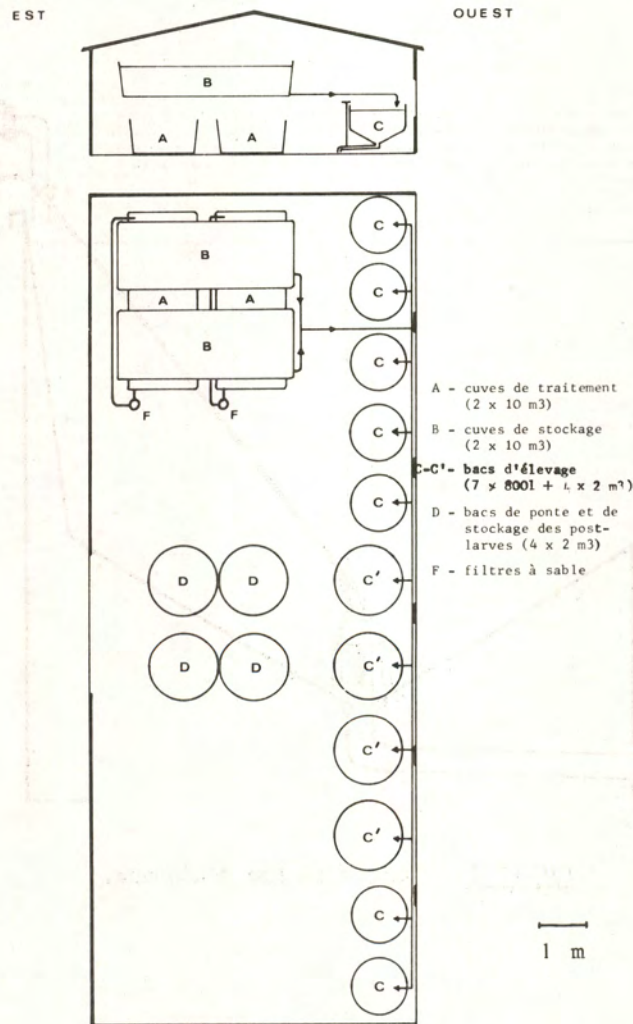


FIGURE 1 : Plan général de l'écloserie.



Le bâtiment de 300 m<sup>2</sup>, axé N-S, est complètement fermé ; onze bacs d'élevage sont disposés le long du mur ouest et éclairés par de grandes baies vitrées. La réserve d'eau saumâtre est composée de quatre cuves de 10 m<sup>3</sup> ; deux servent au mélange et au traitement préliminaire de l'eau et deux surélevées servent au stockage. En outre, quatre bacs de 2 m<sup>3</sup> à fond plat servent pour la ponte, puis pour le stockage des post-larves avant leur expédition vers les bassins de grossissement.

Bacs d'élevage (figures 2 et 3).

De 800 litres ou 2 m<sup>3</sup>, ils ont une forme cylindro-conique, avec une évacuation (Ø 63 mm) au fond du cône, avec joint à lèvres ; cette évacuation est commandée par une vanne située à l'extérieur. Un tuyau vertical amovible est placé dans l'évacuation en marche normale et lors des changements d'eau, un filtre remplace ce tuyau. L'intérieur des bacs est peint de couleur sombre : ceci semble faciliter la vision des particules alimentaires (AQUACOP, 1977 a). Chaque bac est muni d'un bulleur constitué de quatre "sucres à air", placé au fond du cône et fournissant un débit de 1,5 à 2,5 m<sup>3</sup>/h/bac. La stabilité à la température désirée est assurée par la fermeture de l'ensemble du bâtiment.

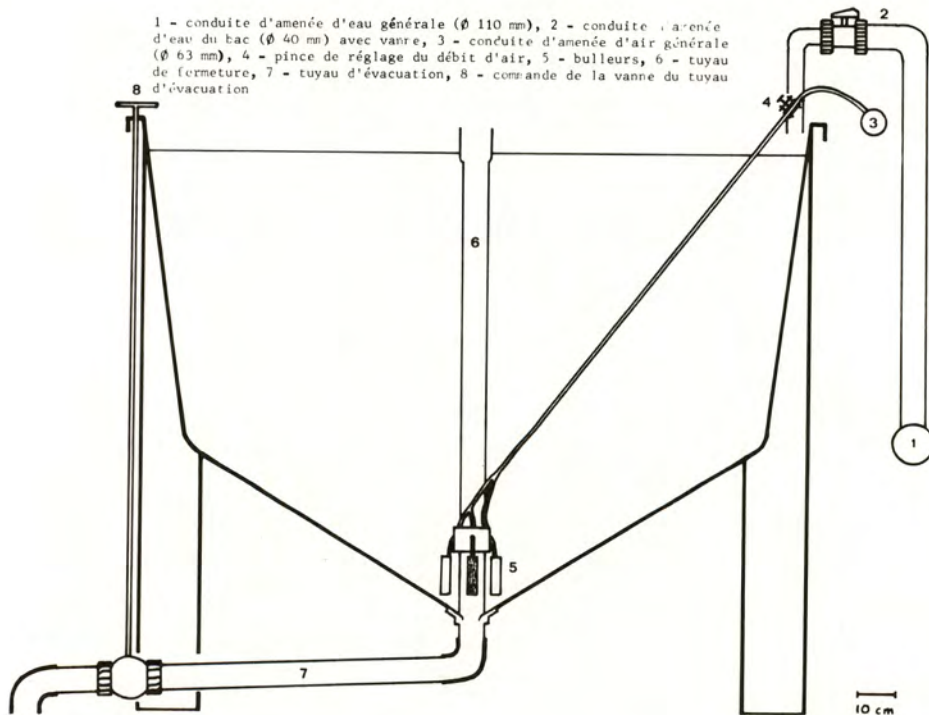


FIGURE 2 : Coupe d'un bac d'élevage.



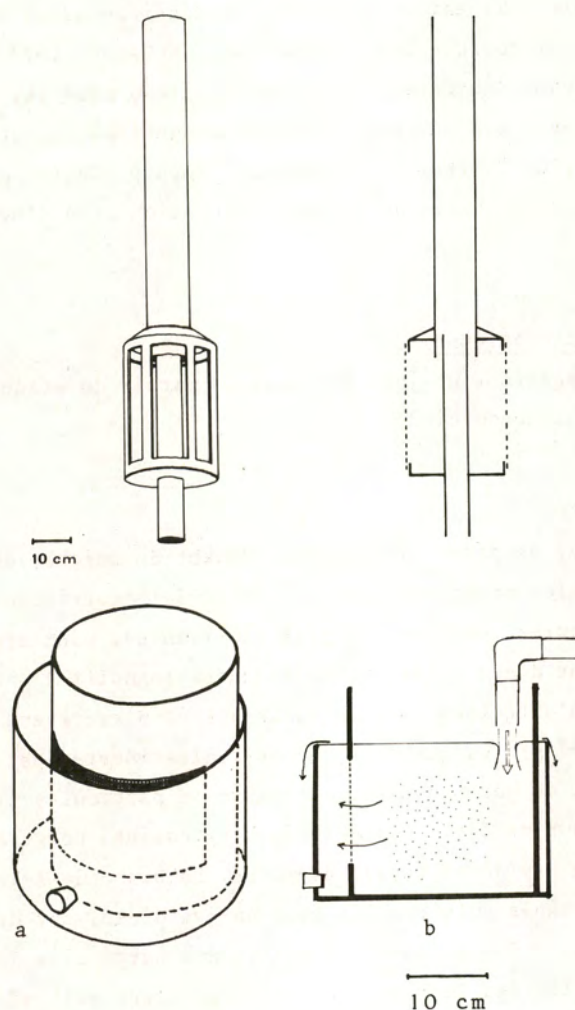


FIGURE 3 : *Filtre et concentrateur.*

L'eau : traitement, circulation.

L'eau douce et l'eau de mer sont mélangées pour obtenir la salinité désirée (8 à 12‰) dans les deux premières cuves de 10 m<sup>3</sup>. L'eau douce provient d'un captage simple sur un torrent, fréquemment chargé en particules terrigènes et en bactéries surtout en période de pluie. L'eau de mer est pompée directement dans le lagon. Lors des essais préliminaires, il s'est révélé nécessaire de traiter l'eau avant son admission dans les bacs d'élevage. Une chloration est faite par de l'eau de javel ; la concentration en chlore actif est de 1 à 1,5 ppm ; un fort bullage assure le brassage de l'eau, puis quatre heures après, l'eau est mise à circuler sur un filtre à sable, pendant 20 heures, temps nécessaire à la rétention des particules en suspension et à la déchloration du mélange. Le stockage, de dix heures au plus, a lieu dans deux cuves de 10 m<sup>3</sup> surélevées de 2 m ; la distribution dans les bacs d'élevage est ainsi assurée par gravité au moyen d'une conduite de diamètre 110 mm, sur laquelle sont piqués, pour chaque bac, des tuyaux de diamètre 40 mm, munis de vanne. Tout le circuit comporte le minimum de tés et de coudes ; il peut être aisément purgé, pour éviter toute zone morte où pourraient se développer des salissures, et rapidement démonté. .../...



#### Renouvellement de l'eau.

Quotidien et total, il est effectué en fin d'après-midi ; la qualité de l'eau doit être optimale pendant la nuit lorsque les larves muent (AQUACOP, 1977 a). Le filtre est adapté sur l'évacuation et la vanne ouverte ; le niveau de l'eau dans les bacs est abaissé jusqu'en haut du cône, l'eau est mise en renouvellement pendant dix minutes ; le tuyau de fermeture étant remis à la place du filtre, le niveau est remonté. Toutes ces manipulations sont faites avec un concentrateur à la sortie du tuyau d'évacuation afin d'éviter toute perte de larves.

#### Traitement des bacs aux antibiotiques.

Certains bacs reçoivent un jour sur deux, à partir du stade 5, une dose de  $1,2 \text{ g/m}^3$  de bipénicilline-streptomycine.

#### Alimentation.

Elle est composée de particules inertes (blanc de seiche, chair de bonite, *Artemia* adultes congelés) et de proies vivantes (nauplii d'*Artemia*) distribuées en cinq à six repas dans la journée. Les particules inertes, les plus salissantes, sont distribuées de 8 heures du matin jusqu'au changement d'eau ; les proies vivantes (nauplii d'*Artemia*) sont utilisées pendant la nuit car elles n'entraînent pas de salissure et n'excrètent pas d'ammoniac de façon significative (AQUACOP, 1977 b). La quantité de particules inertes est ajustée au vu du nombre de larves n'ayant pas saisi de particules et du nombre de particules libres. Les nauplii d'*Artemia* sont distribués au taux de 5/ml. Les *Artemia* prégrossies, congelées, sont distribuées entières après décongélation rapide et lavage sommaire. Le blanc de seiche et la chair de bonite, passés à l'étuve, sont râpés puis tamisés sous un jet d'eau, sur des tamis superposés de maille 207, 335, 500, 750 et 1 000 microns. La taille des particules distribuées est fonction de la taille des larves ; elle est la même que celle du filtre utilisé lors des changements d'eau. Les nauplii d'*Artemia* sont obtenus par l'éclosion d'oeufs enkystés (San Francisco Bay Brand).

#### Mesures - Comptages - Contrôles (tableau 1).

Des mesures de pH (au pH mètre potentiométrique), d'ammoniac (par la méthode colorimétrique de Berthelot) et de température sont faites deux fois par jour (8 heures et 14 heures avant le changement d'eau). La salinité est contrôlée dans les cuves au réfractomètre portatif, après mélange de l'eau de mer et de l'eau douce. La salinité de 4‰ lors de la ponte et de l'éclosion est montée jusqu'à 12‰ au stade 3 après un palier de quelques jours à 8‰ (stades 1 et 2). Elle est maintenue à 12‰ jusqu'à l'apparition de la première post-larve et repassée alors à 4‰ après un palier, d'une semaine à dix jours, à 8‰. Les post-larves sont passées de 4‰ à 0‰ en 24 à 48 heures (tableau 1 c). L'absence de chlore est contrôlée dans les cuves de traitement 24 heures après l'addition de l'eau de javel, par colorimétrie (orthotoluidine) ou titrimétrie (iodure - thiosulfate - thiodène).

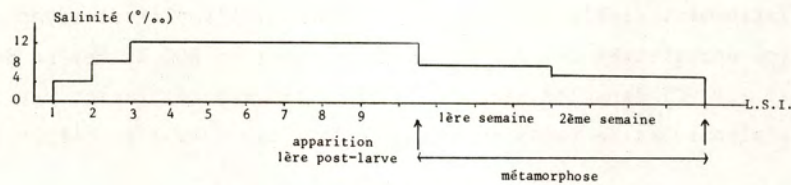


N° bac	Température à 8 h			Température à 17 h			Variations de 8 h à 17 h			Variations de 17 h à 8 h		
	Moy.	Min.	Max.	Moy.	Min.	Max.	Moy.	Min.	Max.	Moy.	Min.	Max.
1 (800 l)	27,5	26,3	28,7	27,9	26,2	29,2	+ 0,6	- 0,4	+ 1,8	- 0,5	0	- 1,5
6 (2 000 l)	27,8	26,5	28,9	28,0	26,5	30,0	+ 0,4	- 0,4	+ 1,2	- 0,3	0	- 1,3

a. Variations de la température en fonction du temps.

N° bac	pH à 8 h			pH à 15 h			Variations entre 8 h et 15 h		
	Moy.	Min.	Max.	Moy.	Min.	Max.	Moy.	Min.	Max.
1 (800 l)	8,0	7,95	8,1	8,0	7,90	8,1	0	- 0,2	+ 0,1
6 (2 000 l)	7,9	7,8	8,0	7,95	7,5	8,2	- 0,05	- 0,25	+ 0,25

b. Variations du pH en fonction du temps.



c. Valeurs de la salinité en fonction du L.S.I.

TABLEAU 1 : Paramètres physico-chimiques.

Après récupération des larves, écloses dans les bacs de ponte, un comptage est effectué dans des récipients de 50 litres avec un fort bullage sur 3 à 6 prélèvements de 1 litre, avant de placer les larves dans le bac d'élevage. Les post-larves sont comptées dans des récipients de 50 litres, soit une par une, soit sur 6 à 10 prélèvements de 1 litre, après un fort brassage de l'eau ; cette dernière méthode d'estimation peut donner des résultats différents de 30 % du comptage exact, mais si le brassage est suffisant, elle est fiable à 10 %. En cours d'élevage, un comptage sur cinq prélèvements par bac se fait chaque matin, après avoir mis le bullage maximum, pour obtenir une dispersion uniforme des larves.

Le stade larvaire est mesuré par le L.S.I. (Larval Stage Index) défini par MANZI *et al.* (1976) = somme des facteurs (nombre de larves d'un stade x valeur du stade de 1 à 11) divisée par le nombre de larves observées. Le poids moyen est obtenu en pesant de 100 à 20 larves, suivant le stade, avant égouttage (poids frais) et après dessiccation à l'étuve (poids sec).

L'état sanitaire des larves est vérifié par observation microscopique de quelques individus, dans des zones où peuvent être visibles des nécroses (appendices, branchies, yeux,

.../...



carapace, etc...). L'état de réplétion est contrôlé une à deux fois sous la loupe binoculaire pour plus de dix larves.

Des comptages de germes totaux ont été faits à la demande dans les cuves de stockage (contrôle de l'efficacité du traitement), à l'arrivée d'eau dans les bacs d'élevage (contrôle de la propreté des amenées d'eau), dans les bacs d'élevage larvaire après changement d'eau et avant changement (contrôle du milieu d'élevage).

#### Pêche des post-larves.

Le bullage est stoppé et la masse d'eau mise en rotation à la main : les larves entraînées par le courant sont pêchées avec des épuisettes à maille fine et les post-larves qui restent agrippées aux parois du bac sont récupérées dans un concentrateur en vidant le bac.

#### RESULTATS.

##### Paramètres physico-chimiques.

##### Température (tableau 1).

Relativement stable au cours de la journée, l'amplitude moyenne sur 24 heures a été de 1° C (extrema enregistrés 0 - 2,2° C) dans les bacs de 800 litres et de 0,6° C (extrema enregistrés 0 - 1,9° C) dans les bacs de 2 000 litres. La régulation par la fermeture du bâtiment est satisfaisante et le temps de stockage de l'eau dans l'écloserie suffisant.

##### pH (tableau 1).

Les variations les plus fortes ont été observées dans les bacs de 2 m<sup>3</sup> ; les valeurs minima sont plus faibles : les excès de nourriture qui abaissent le pH sont en effet plus fréquents, car l'ajustement de la quantité d'aliment est plus délicat que dans les bacs de 800 litres.

##### Ammoniac (figure 4).

Du fait du changement d'eau total dans l'après-midi, la teneur en ammoniac est nulle au début de la nuit, elle est faible au matin ; par contre, elle augmente très rapidement dans la journée. D'un jour sur l'autre, les teneurs en ammoniac varient beaucoup, mais la pente générale des valeurs à 8 heures et 14 heures est ascendante jusqu'à un plateau qui commence au début de la métamorphose. Jusqu'au stade 5, les concentrations restent faibles et leur augmentation est très forte à partir de ce stade. Les teneurs maximales enregistrées en ammoniac total ont été de 2,5 mg/l en azote avant changement d'eau ; mais du fait du pH relativement faible, au même moment, la teneur en ammoniac non ionisé, seul toxique, est resté faible (moins de 0,25 mg/l en azote) (AQUACOP, 1977 b).



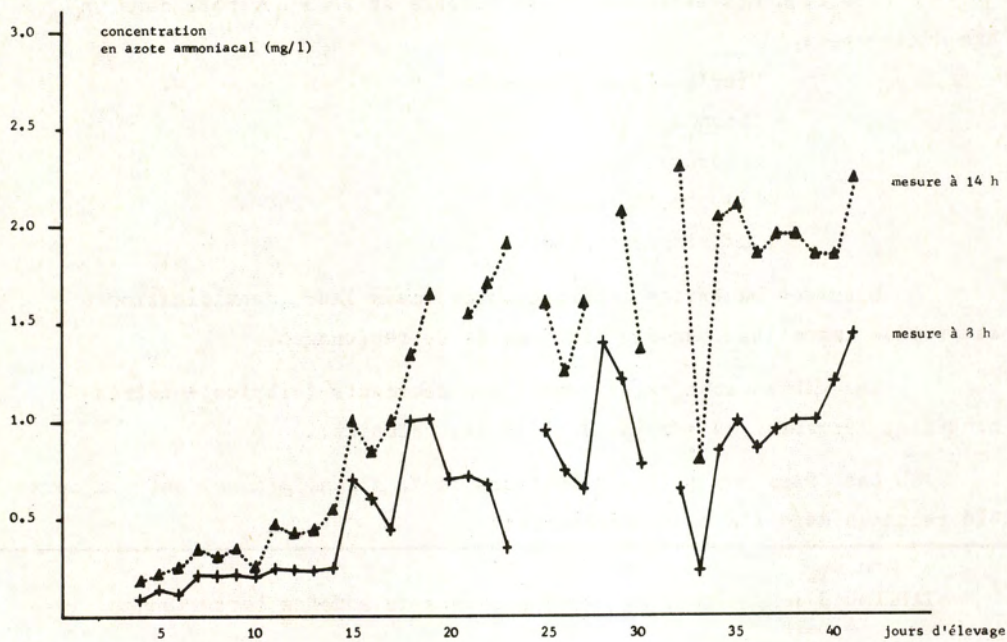


FIGURE 4 : Evolution des concentrations en azote ammoniacal dans le bac 6.

Comptages bactériens (tableaux 2 et 3).

Heure	Manipulation	Comptage (nombre de germes/ml)
9.00	Remplissage réserves	Eau douce : $4.10^3$ Eau de mer : $0,2.10^3$ Mélange : $18.10^3$
9.30	Traitement au chlore	
11.00	Passage sur filtre	0
16.30		
7.30	Montée cuves de stockage	0
9.00		0
15.00	Utilisation de l'eau	(Arrivée d'eau au bac) $0,1$ à $0,4.10^3$

Efficacité de la chloration de l'eau d'élevage à 1,5 ppm de chlore actif, par comptage de germes bactériens totaux sur milieu gélosé.

Antibiotique	Heure	Manipulation	Comptage (nombre de germes/ml)	
			Bac 800 l	Bac 2 m <sup>3</sup>
0	15.30	Fin changement d'eau	$7.10^3$	4 à $8.10^3$
	8.30	Après 1er repas	$400.10^3$	$80.10^3$
	15.00	Avant changement d'eau	250 à $500.10^3$	50 à $200.10^3$
+	15.30	Fin changement d'eau	2,5 à $5.10^3$	$7.10^3$
	8.30	Après 1er repas	$400.10^3$	-
	15.00	Avant changement d'eau	300 à $700.10^3$	100 à $250.10^3$

Evolution du nombre de germes totaux dans l'eau d'élevage.

TABLEAU 2 : Comptages bactériens totaux en différents points du circuit d'eau et dans les bacs d'élevage. .../...



Prélèvements effectués le 28 octobre et le 3 novembre dans un bac d'élevage :

*Vibrio alginolyticus*

*Cytophaga* sp 7

*Cytophaga* sp

*Flavobacterium* sp

*Acinetobacter* sp

D'autres bactéries sont présentes, mais leur identification a été rendue impossible par des difficultés de repiquages.

Les vibrios sont relativement peu abondants (vibrios + autres bactéries fermentaires = moins de 1/10 des colonies).

Les *Cytophaga* sp 7, inhibiteurs de *V. alginolyticus*, ont toujours été reconnus dans d'autres prélèvements.

TABLEAU 3 : Résultats de déterminations de souches bactériennes.

Après chloration, aucun germe n'est décelable dans les réserves et 12 heures après la disparition du chlore, les teneurs en germes restent inférieures à 500/ml ; mais elles augmentent brutalement jusqu'à plusieurs milliers/ml dès la fin du remplissage du bac. Les teneurs sont de l'ordre de plusieurs dizaines ou centaines de milliers de germes/ml avant le changement d'eau et elles semblent d'autant plus fortes que le volume est plus petit.

Les déterminations de bactéries qui ont été faites, et la coloration et la forme des colonies sur milieu gélosé indiquent qu'un nombre réduit de souches a eu un caractère dominant au cours de cet essai. On ne note aucune différence quantitative entre les comptages faits après traitement à la bipénicilline-streptomycine et sans traitement.

Densité et survie larvaire (tableau 4 et figure 5).

Les densités initiales étaient en moyenne de 100 larves/litre, avec un bac de 2 m<sup>3</sup> chargé à 157/litre. Les meilleurs taux de survie (85 - 90 %) ont été obtenus dans les bacs de 2 m<sup>3</sup>. Dans deux bacs (2 et 6) des pertes brutales ont été enregistrées : pour le premier, au 5ème jour, 43 000 larves ont été retrouvées mortes au fond, sans cause nette apparente, pour le deuxième, au 7ème jour, une erreur de manipulation lors du changement d'eau a entraîné la perte de 60 000 larves. Les trois bacs les moins bien éclairés (présence d'un arbre devant les baies) ont eu des survies plus faibles (70 - 78 %), si on ne tient pas compte des mortalités accidentelles citées ci-dessus.

Densité et survie à la métamorphose (tableau 4).

La survie à la métamorphose est très variable (36 à 66 %). Elle est paradoxalement d'autant plus forte que la densité en larves avant la métamorphose est plus élevée. Dans deux bacs où aucune pêche partielle n'a été faite, les post-larves s'attaquaient les unes aux autres (antennes et appendices absents) et des mortes ont été observées, à partir d'une densité de 3/cm<sup>2</sup> sur le fond du bac.

.../...



Bac	Volume (m <sup>3</sup> )	Antibiotique	Lumière	Nombre (en milliers)			Densité (larves/litre)		Taux de survie (%)		
				Larves		Post-larves	Initial	Métamorphose	Larvaire	Métamorphose	Total
				Initial	Métamorphose						
1	0,8	+	+	100	72	46	125	90	72	64	46
2	0,8	-	+	75	32	15	94	40	43 (100)	46	20 (46)
3	0,8	-	-	100	70	46	125	87	70	66	46
4	2	+	+	220	190	103	110	95	86	54	47
5	2	+	+	200	178	95	100	89	89	54	48
6	2	+	+	315	225	149	157	112	71 (88)	66	47 (58)
7	0,8	+	-	100	70	43	125	87	70	62	43
8	0,8	+	-	77	60	22	96	75	78	36	28
Total	10			1 187	987	519	119	90	76	58	43,5

Antibiotiques : + = adjonction un jour sur deux de 1,2 g/m<sup>3</sup> de bipénicilline-streptomycine.  
 - = aucune adjonction d'antibiotiques.

Lumière : - = bacs situés dans l'ombre d'un arbre.  
 + = bac en dehors de cette zone d'ombre.

Nombre de larves à la métamorphose : nombre de larves à l'apparition de la première post-larve.

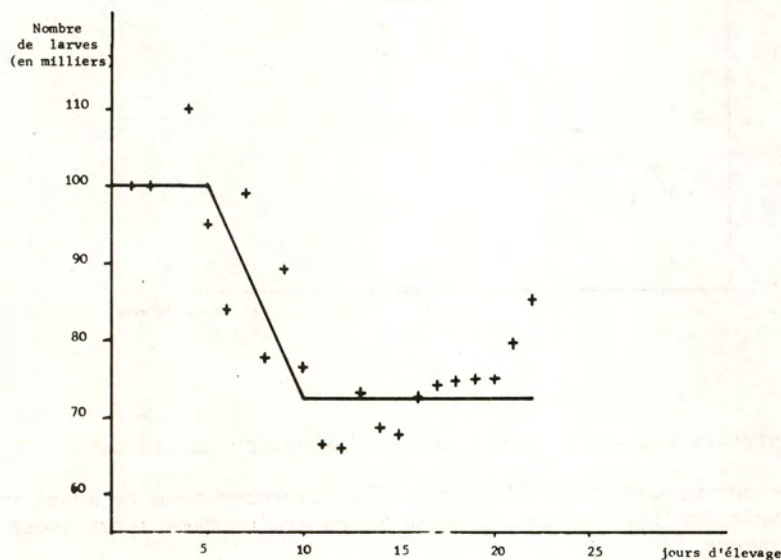
Taux de survie larvaire = nombre de larves à l'apparition de la première post-larve/nombre de larve initialement mis en élevage.

Taux de survie à la métamorphose = nombre de post-larves produites/nombre de larves à la métamorphose.

Taux de survie totale = nombre de post-larves/nombre de larves mises initialement en élevage.

Dans les bacs 2 et 6, des pertes accidentelles massives (43 000 pour le 2 - 60 000 pour le 6) ont été observées respectivement au 5ème et au 7ème jour, les chiffres de survie indiqués entre parenthèses sont calculés en retranchant ces pertes au nombre de larves initialement

**TABLEAU 4** : *Survie larvaire et à la métamorphose. Conditions d'éclairément et traitement aux antibiotiques.*



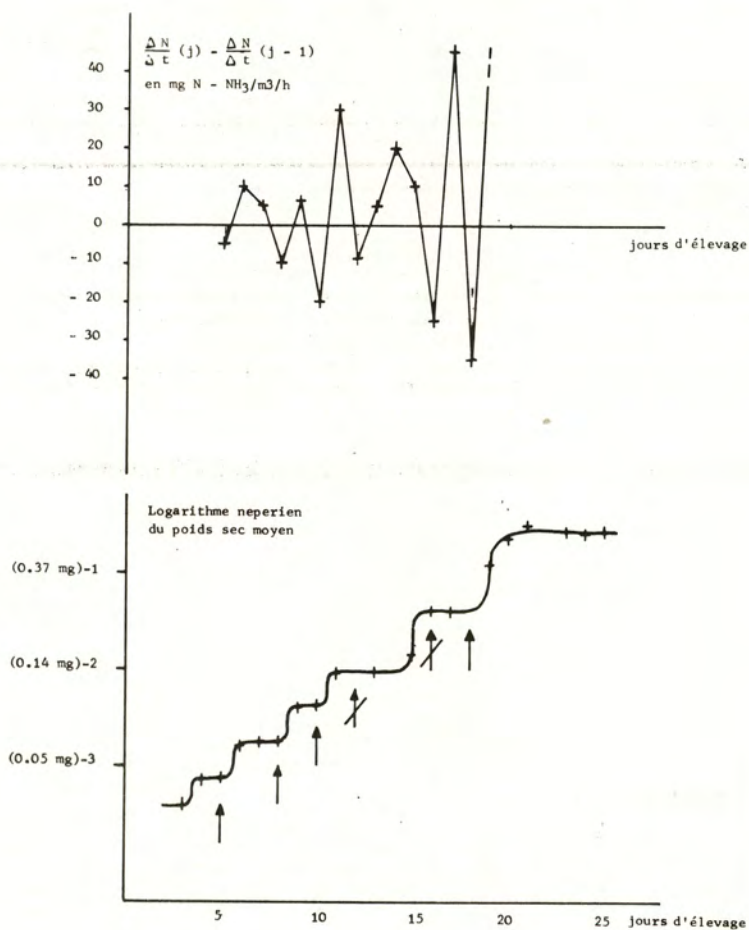
Les croix correspondent aux valeurs obtenues au comptage ; la courbe segmentée est un ajustement tracé manuellement

**FIGURE 5** : *Evolution du nombre de larves dans le bac 1.*



Croissance pondérale.

La forte variabilité des résultats, due à la difficulté de la pesée et aux changements fréquents de manipulateurs, a rendu cette mesure peu fiable comme indicateur de la croissance. Elle est toutefois utilisée pour l'analyse de l'excrétion (figure 6), car elle donne des figures plus nettes que les courbes de L.S.I. en fonction du temps.



**FIGURE 6** : Relation entre la mue et la variation de l'excrétion azotée dans le bac 6.

L'excrétion est mesurée par l'évolution des concentrations en azote ammoniacal, la croissance est mesurée par l'évolution du poids moyen et les mues déterminées graphiquement sur la courbe de croissance.

$$\frac{\Delta N}{\Delta t}(j) = (\text{concentration à } 14 \text{ h} - \text{concentration à } 8 \text{ h})/6, \text{ au jour } j.$$

$$\frac{\Delta N}{\Delta t}(j - 1) = \text{idem au jour } j - 1.$$

Les flèches verticales marquent les jours où les mues correspondent aux chutes relatives de l'excrétion ; les flèches barrées marquent les jours où cette corrélation n'existe pas.

.../...



Evolution du stade larvaire (figure 7).

L'évolution est donnée pour trois bacs les plus représentatifs. Jusqu'au stade 5 les croissances ont été très proches, mais par la suite elles ont divergé : le rattrapage observé sur le bac 6 a été dû à une suralimentation volontaire deux jours de suite ; le bac 8, malgré une "suralimentation", n'a pas rattrapé la courbe obtenue sur le bac 1.

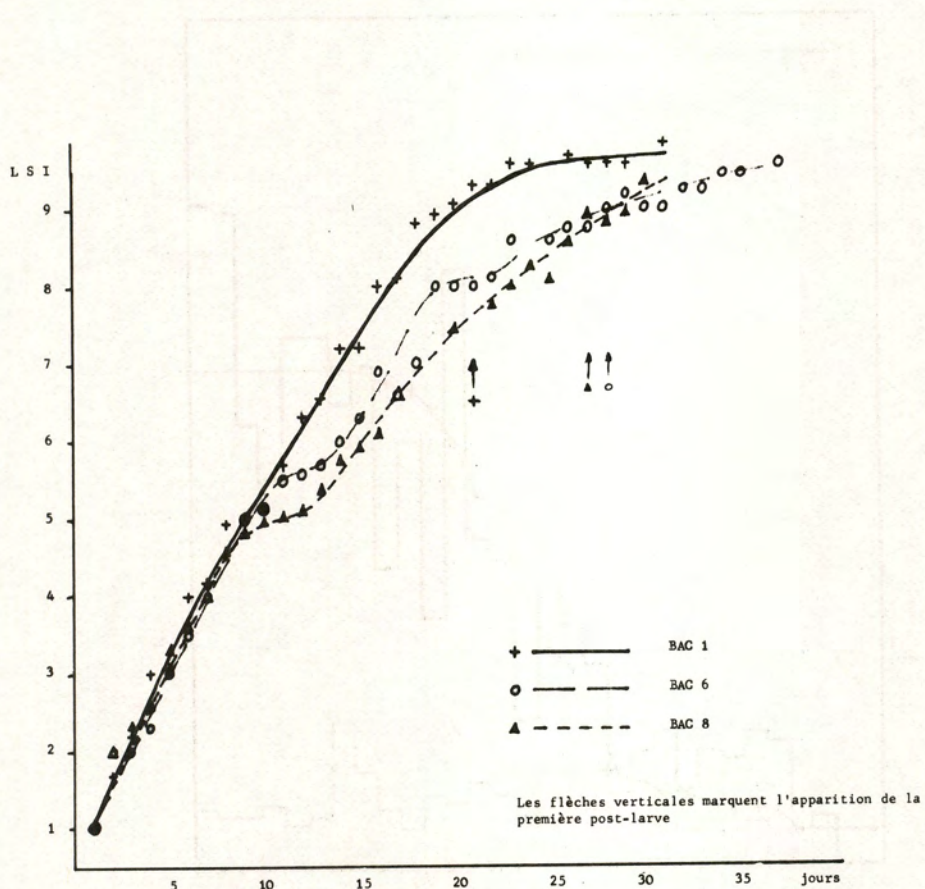
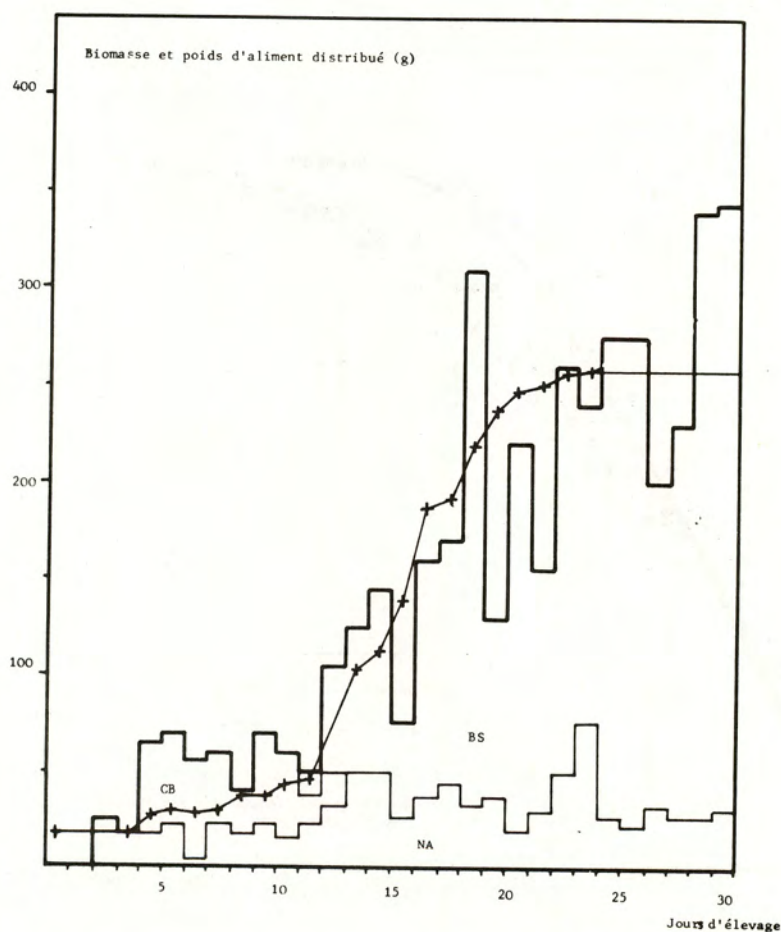


FIGURE 7 : Evolution du L.S.I. dans trois bacs (1, 6, 8) en fonction du nombre de jours d'élevage.



Alimentation (figures 8 et 9).

Les trois premiers jours, la larve vit sur ses réserves vitellines et sa consommation est faible (AQUACOP, 1977 a). Par la suite, la quantité moyenne journalière d'alimentation en poids frais à distribuer par larve a pu être estimée à 3 fois son propre poids frais au stade 3 et 1 fois au stade 10. Cette estimation n'est valable que dans le système d'alimentation utilisé.



**FIGURE 8** : Evolution de la biomasse et de la quantité d'aliment distribuée dans le bac 1.

La quantité d'aliment est marquée par la courbe en marches d'escalier, en cumulant les différents aliments.

En poids frais

- } N.A. = nauplii d'Artemia
- } C.B. = chair de bonite
- } B.S. = blanc de seiche

L'évolution de la biomasse est indiquée par la courbe continue reliant les croix elle est exprimée en poids frais.



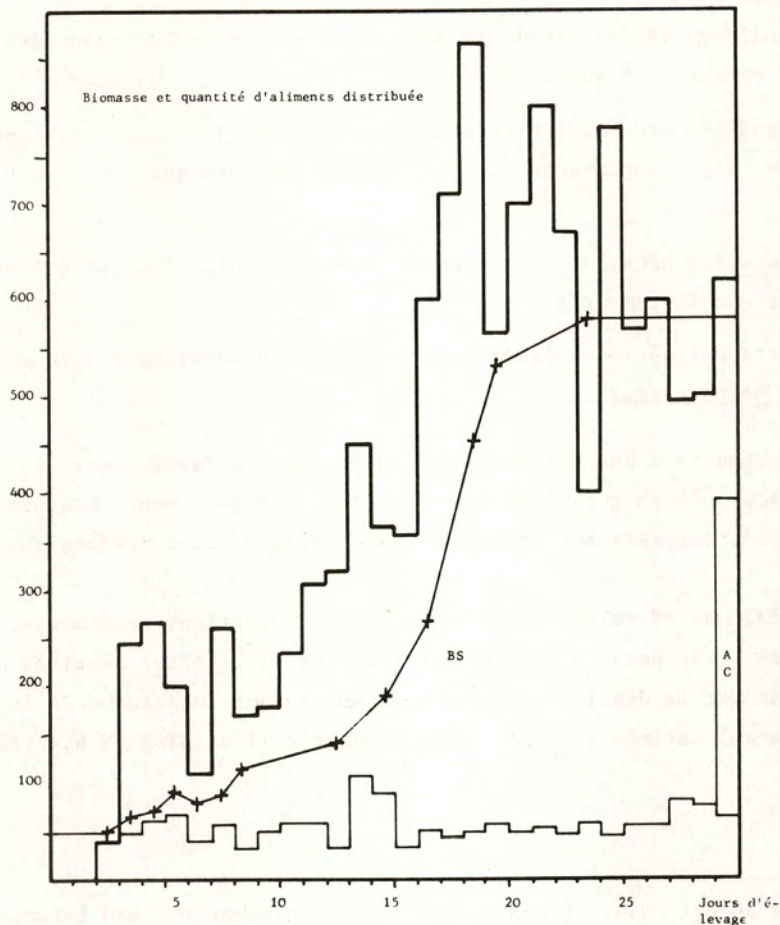


FIGURE 9 : Evolution de la biomasse et de la quantité d'aliment distribuée dans le bac 6. Voir détail de la légende figure 8.

#### DISCUSSION.

##### Rôle de l'éclairage sur la survie et la croissance (tableau 4, figure 7).

Des essais précédents (AQUACOP, 1977 a) avaient démontré qu'en absence d'éclairage, les larves ne dépassent pas le stade 5. Au cours du présent essai, il y a une nette différence entre les bacs placés dans la zone la mieux éclairée (bacs 1, 2, 4, 5, 6) et ceux placés dans l'ombre d'un arbre (bacs 3, 7, 8) tant pour la croissance que pour la survie. Les observations quotidiennes montraient que les bacs à l'ombre avaient une consommation moindre que les autres ; dans ceux-ci, il n'a jamais été possible de rattraper des retards dans la croissance par une suralimentation volontaire de quelques jours, comme dans d'autres bacs bien éclairés.

##### Rôle des antibiotiques sur la survie et la croissance (tableau 4).

Les deux bacs qui n'ont reçu aucun antibiotique ont eu une croissance et une survie non significativement différentes des autres. L'adjonction d'antibiotiques à faible dose (1,2 g/m<sup>3</sup> de bipénicilline-streptomycine tous les deux jours) n'a pas apparemment influé sur l'élevage. Mais les antibiotiques restent le moyen efficace de contrôler les attaques bactériennes (AQUACOP, 1977 a).

.../...



#### Ammoniac (figures 4 et 6).

L'analyse des mesures de l'azote ammoniacal effectuée pour des essais antérieurs (AQUACOP, 1977 b) a montré que :

- dans les bacs où l'état sanitaire est bon, les concentrations sont moyennes ; par contre, une baisse importante des teneurs est observée quelques jours avant des mortalités massives ;

- dans les bacs à l'obscurité et durant la nuit, les concentrations sont moindres et n'augmentent que lentement ;

- lors des périodes de mues groupées, l'augmentation des teneurs en ammoniac dans la journée est moins forte.

Ces résultats ont été retrouvés au cours du présent essai. Il est donc confirmé que l'azote ammoniacal est un paramètre très important à suivre pour déterminer l'état général des élevages. Mais l'interprétation immédiate des dosages reste toutefois délicate.

Du fait du pH relativement bas, les concentrations en ammoniac, non ionisé, seul tonique, restent inférieures à 0,25 ppm d'azote aux plus fortes densités maintenues. Il semble possible d'augmenter la densité larvaire tout en restant en-dessous de la zone létale (au bout de 144 heures) estimée à 10 ppm d'azote ammoniacal total à pH 8,4 (ARMSTRONG *et al.*, 1977).

#### Bactéries.

Lors de cet essai, à des teneurs avant changement d'eau inférieures à 1 million de germes/ml, aucune infection n'a été observée.

L'augmentation brutale du nombre de germes dans l'eau après le changement d'eau, indique que les bactéries sont inféodées aux larves, puisque les parois du bac sont brossées et rincées, et l'eau changée intégralement. La comparaison entre bacs traités à la bipénicilline-streptomycine un jour sur deux et bacs non traités semble montrer que le traitement n'a pas d'effet sur les concentrations en germes totaux. Ils ont peut-être une influence qualitative en éliminant les germes pathogènes. Les antibiotiques restent une sécurité et continueront à être utilisés. La stérilisation préalable est l'élément essentiel de cette absence d'infections.

La différence observée entre bacs de 800 litres et de 2 m<sup>3</sup> avant changement d'eau, est probablement due à un rapport surface/volume plus grand pour les premiers.

#### Alimentation.

C'est pour sa facilité d'utilisation et sa bonne tenue à l'eau que le blanc de seiche a été sélectionné pour cet essai. Les croissances et les survies obtenues sont semblables à celles obtenues au cours d'essais antérieurs où la chair de bonite constituait quantitativement l'essentiel de l'alimentation. A l'avenir, ce dernier aliment sera utilisé de préférence

.../...



pour son prix plus bas (tableau 5). Par contre, les nauplii d'*Artemia* restent essentiels pour un bon développement des larves ; quelques essais ultérieurs ont montré qu'en leur absence, les larves ne dépassent pas le stade 5.

Poste de dépense	Coût unitaire	1er exercice de l'écloserie pilote			Optimum de prévision		
		Quantité	Valeur	% coût total	Quantité	Valeur	% coût total
<b>Personnel :</b>							
Technicien	120 000/mois	2 mois	240 000		1,5 mois	180 000	
Aide technicien	45 000/mois	2 mois	270 000		1,5 mois	135 000	
Total personnel			510 000	66		315 000	49
<b>Nourriture :</b>							
Blanc de seiche	465/kg	231 kg	107 415		240 kg	111 600	
oeufs d' <i>Artemia</i>	9 333/boîte	13 boîtes	121 329		20 boîtes	186 660	
Bonite	80/kg				240 kg	19 200	
<i>Artemia</i> congelé	2 000/kg	8 kg	16 000				
Total nourriture			244 744	32		317 460	49
<b>Energie :</b>							
Pompes des filtres	6,44/kWh	1 524 kWh	9 814		1 143 kWh	7 361	
Lampes éclosoir	"	576 kWh	3 709		432 kWh	2 782	
<i>Artemia</i>							
Divers	"	180 kWh	1 160		135 kWh	869	
			14 683	2		11 012	2
Nombre de milliers de post-larves produites		520			1 000		
Total des postes			769 427	100		643 472	100
Prix de revient de 1 000 post-larves			1 480			643	

Dans la partie gauche du tableau sont indiqués les coûts réels de l'essai décrit ici et dans la partie droite, les coûts qu'il aurait été possible d'obtenir dans les hypothèses citées dans le texte.

**TABLEAU 5 :** Calcul du coût en frais de fonctionnement.

Les prix sont exprimés en francs CFP

(1 FCP = 0,055 franc français = 0,011 U.S. \$)

L'ajustement de la ration se fait au jour le jour et à chaque repas de la journée, d'après la consommation apparente. D'après les courbes des figures 8 et 9, il semble que dans les bacs de 800 litres, la quantité de nourriture distribuée ait été relativement moins forte que dans les bacs de 2 m<sup>3</sup> ; d'une part, l'ajustement de la ration est plus facile dans des bacs plus petits et d'autre part, les bacs de 800 litres sont peints d'une teinte plus sombre que les 2 m<sup>3</sup> et les larves doivent mieux voir les particules (AQUACOP, 1977 a) ; de plus, dans les bacs de 2 m<sup>3</sup>, les inconsommés étaient souvent plus importants. Ce fait et l'analyse de la croissance montrent que dans les bacs de 2 m<sup>3</sup>, une sous-alimentation, puis une suralimentation souvent involontaires, ont eu lieu. Les comptages bactériens n'ont pas mis en évidence des proliférations bactériennes plus fortes après ces suralimentations ; les dosages de l'ammoniac ne montrent pas de valeurs anormalement fortes ; ceci confirme que l'ammoniac apporté par la décomposition de l'aliment est négligeable (AQUACOP, 1977 b) ; le bon état général des larves (pigmentation, activité, croissance) et l'absence d'infections visibles indiquent que ces suralimentations n'ont pas perturbé l'élevage. Il semble donc préférable de distribuer légèrement plus que la quantité consommée pour éviter de retarder le développement larvaire.

#### Survie à la métamorphose.

Il y a un net contraste entre l'évolution généralement très bonne des élevages larvaires et la survie à la métamorphose généralement inférieure à 60 %. Dans deux bacs de  
.../...



2 m<sup>3</sup>, le cannibalisme observé a été probablement dû à une surdensité sur le fond (plus de 3 post-larves/cm<sup>2</sup>) ; par contre, dans des bacs où des pêches partielles ont été faites avant d'atteindre ces densités, aucun cannibalisme n'a été observé et la survie a été meilleure ; il est donc jugé préférable à l'avenir de pêcher régulièrement les post-larves au cours de la période de la métamorphose en attendant qu'une solution permettant d'offrir aux post-larves une surface plus grande ait été trouvée.

Très peu de stades 11 ont été observés dans tous les bacs ; la grande majorité des larves passent du stade 10 à l'état de post-larve. Une proportion importante de stades 11 indiquerait de mauvaises conditions d'élevage : les larves de Caridae sont capables de retarder leur métamorphose tout en continuant à muer (WICKINS, 1976).

Les meilleures survies à la métamorphose (65 %, bacs 1, 3 et 6) indiquent qu'il est possible d'améliorer la valeur moyenne (55 %) sur l'ensemble des bacs.

#### Comparaison avec la méthode d'élevage en "eau verte".

Cette méthode initialement mise au point par FUJIMURA (1966), FUJIMURA et OKAMOTO (1970), FUJIMURA (1974) fonctionne en routine dans plusieurs écloséries. Elle diffère de celle en "eau claire" décrite ici sur trois points essentiels :

- la densité plus faible (10 à 40 post-larves/litre),
- la présence de phytoplancton dans le milieu d'élevage,
- l'utilisation de plus grands volumes (10 à 20 m<sup>3</sup>).

Le rôle du phytoplancton a été étudié par MANZI *et al.* (1976) et COHEN *et al.* (1976) ; il semble limité à la fixation de l'ammoniac et son absence ne gêne pas le développement des larves.

Les avantages de la méthode en "eau claire" sont :

- l'indépendance vis-à-vis des conditions locales (espèces phytoplanctoniques dominantes, variations climatiques, qualité de l'eau), ce qui rend cette technique facilement reproductible ;
- l'élimination des causes de variations dues au maintien d'une culture phytoplanc-tonique et à son utilisation dans les bacs d'élevage ;
- la formation du personnel plus simple et plus courte car les ajustements du milieu d'élevage aux variations temporelles ou géographiques sont réduits et le contrôle quotidien des larves (consommation, état sanitaire, densité) assez simple ;
- la facilité et l'efficacité des interventions en cas d'infection du fait du volume d'eau réduit.

#### Estimation du prix de revient (tableau 5).

Au cours de cet essai, le prix de revient de la post-larve en frais de fonctionnement a été de 1,48 FCP/PL (81 FF/1000 PL ; 16 \$ U.S./1000 PL). Le détail en est donné dans le

.../...



tableau 5. Il est possible d'envisager d'abaisser ce prix de revient sans modification de la technique car :

- 8 bacs de 2 m<sup>3</sup> auraient pu être utilisés, sans augmenter le volume de stockage des réserves (40 m<sup>3</sup>), ni le personnel, et ainsi la production multipliée par 1,6 ;
- la densité initiale aurait pu être dans tous les bacs de 150/litre, sans que la survie finale soit modifiée, et la production multipliée par 1,25 ;
- des économies peuvent être faites en remplaçant le blanc de seiche par la chair de bonite et en optimisant le nombre d'oeufs d'*Artemia* utilisés.

Sous ces trois hypothèses, le prix de revient tombe à 0,61 FCP/PL (35 FF soit 7 \$ U.S./1 000 PL). Les frais d'amortissement du bâtiment et du matériel ont été calculés pour une écloserie produisant 9 millions de post-larves par an ; ils seraient de 0,2 FCP/PL (1,2 \$ U.S./1 000 PL). Ces estimations indiquent donc que la technique permettrait d'obtenir un prix de revient voisin du prix de vente pratiqué à Hawaii par l'écloserie de Fujimura (7 \$ U.S./1 000 PL), mais supérieur à celui calculé par HAGOOD et WILLIS (1976) à 1,87 \$ U.S./1 000 PL.

#### Améliorations ultérieures.

Le prix de revient reste à confirmer et les principaux points d'améliorations possibles sont actuellement les suivants :

- diminution de la durée de la vie larvaire ;
- augmentation de la survie, surtout à la métamorphose ;
- remplacement total ou partiel de nauplii d'*Artemia* vivants, car l'approvisionnement est aléatoire et le prix de revient très élevé ; les travaux de SICK (1975) montrent la possibilité d'élever des larves de *Macrobrachium rosenbergii* sur aliments composés ;
- augmentation de la densité qui devrait permettre un abaissement de prix de revient.

#### CONCLUSION.

L'essai décrit ici confirme donc que la technique mise au point au COP est fiable : l'objectif initialement fixé (0,5 million de post-larves) a été atteint et le passage de l'écloserie expérimentale à l'écloserie pilote a été fait sans problème majeur.

De par sa faible dépendance des conditions du milieu, les contrôles et interventions efficaces qu'elle permet, de par sa rapidité de mise en oeuvre dorénavant, et la facilité de formation du personnel, elle est facilement transposable à d'autres contextes géographiques et à d'autres espèces dont la vie larvaire est similaire.



BIBLIOGRAPHIE.

- AQUACOP, 1977 a. *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) culture in Polynesia : progress in developing a mass intensive larval rearing in clear water. Eighth Workshop of World Mariculture Society, Costa Rica, 10-13 janvier 1977.
- AQUACOP, 1977 b. *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) culture in Polynesia : water chemodynamism in an intensive larval rearing. Eighth Workshop of World Mariculture Society, Costa Rica, 10-13 janvier 1977.
- ARMSTRONG, D.A., D.J. CHIPPENDALE and A.W. KNIGHT, 1977. Influence of pH on the toxicity of ammonia to larvae of the giant prawn *Macrobrachium rosenbergii*. Eighth Workshop of World Mariculture Society, Costa Rica, 10-13 janvier 1977.
- COHEN, D., E. FINKEL and M. SUSSMAN, 1976. On the role of algae in larviculture of *Macrobrachium rosenbergii*. Aquaculture, 8 : 199-207.
- FUJIMURA, T., 1966. Notes on the development of a practical mass culturing technique of giant prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. Indo-Pacific Fisheries Council (FAO). 12th session. Hawaii.
- FUJIMURA, T. and M. OKAMOTO, 1970. Notes on progress made in developing a mass culture technique for *Macrobrachium rosenbergii* in Hawaii. In, Coastal Aquaculture in the Indo-Pacific Region. T.V.R. Pillay Ed., Fishing News Books, Ltd. London.
- FUJIMURA, T., 1974. Development of a prawn culture industry in Hawaii. Job Completion Report. National Marine Fisheries Service (NOAA) and Hawaii State Division Fish and Game.
- HAGOOD, R.W. and S.A. WILLIS, 1976. Cost comparisons of rearing larvae of fresh water shrimp, *Macrobrachium acanthurus* and *Macrobrachium rosenbergii*, to juveniles. Aquaculture, 7 : 59-74.
- MANZI, J.J., M.B. MADDIX and P.A. SANDIFER. Algal supplement enhancement of *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) larviculture. Proceedings of the 7th Annual Workshop World Mariculture Society (in press).
- SICK, L.V., 1975. Selected studies of protein and amino acid requirements for *Macrobrachium rosenbergii* larvae fed neutral density formula diets. Proceedings of the First International Conference on Aquaculture Nutrition. October 14-15, 1975, pp. 215-228. Price, K.S. Jr., Shaw, M.W., Danberg, K.S., editors. College of Marine Studies, University of Delaware, Newark, 1976.
- WICKINS, J.F., 1976. Prawn biology and culture. Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev., 14 : 435-507. Harold & Barner, ed.



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4 : 233-245.

MAINTENANCE OF BROOD STOCK,  
LARVAL REARING AND NURSERY TECHNIQUES  
USED TO GROW *MACROBRACHIUM ROSENBERGII*  
IN WASTE-HEAT DISCHARGE WATERS OF AN  
ELECTRIC GENERATING STATION IN NEW JERSEY (U.S.A.)

by

Albert F. EBLE, Mark C. EVANS, Noel DEBLOIS and Nils E. STOLPE

Trenton State College, Department of Biology, Trenton, N.J. 08625, U.S.A.

ABSTRACT.

*Macrobrachium rosenbergii* brood stock can be maintained in a fecund condition using semi-closed recirculating systems ; animals display no seasonal variation if temperature is maintained at 28°C. Prawn larvae are grown in two phases, both using semi-closed systems ; stages 1-5 are reared in 400 l tanks using *Artemia* nauplii as food ; stages 6-11 are transferred to 1000 l tanks and are fed synthetic food fortified with minced fish. In both systems 5 % of water is replaced daily, hence entire water mass is replaced every 20 days. Postlarvae are grown in indoor heated (27°C) nurseries at initial density of 200/m<sup>2</sup>. Surface area of water column is augmented through use of draped netting. Prediction curves has been generated to relate juvenile size to stocking density. Juveniles are stocked in outdoor ponds at sizes ranging from 50-60 mm (eye stalk to telson). Use of nursery techniques allows for better survival of juveniles in ponds and permits harvest of commercial-size prawns (130-140 mm) in five-month growing season.

The use of waste-heat discharge waters from power stations effectively moves aquaculture laboratories 7-12° latitude towards the equator depending upon the  $\Delta T$  generated. This together with nursery techniques allows for commercial production of tropical animals such as *Macrobrachium rosenbergii* in northern and southern temperate zones.

RESUME.

Des lots de *Macrobrachium rosenbergii* adultes peuvent être maintenus en état de maturité sexuelle, sans variation saisonnière, dans des unités partiellement recyclées, à une température de 28°C. Les larves sont élevées en deux phases, dans des circuits partiellement recyclés. Les stades 1 à 5 sont produits dans des bacs de 400 l, et nourris de nauplius d'*Artemia*. Les stades 6 à 11 sont transférés dans des bacs de 1000 l, et nourris d'un aliment composé fortifié avec du poisson haché. Dans les 2 installations, l'eau est renouvelée à raison de 5 % par jour. Les post-larves sont élevées à l'intérieur, dans des nurseries chauffées (27°C) à une densité initiale de 200/m<sup>2</sup>. La surface disponible dans la colonne d'eau est augmentée par des structures grillagées. Des abaques de concentration en fonction de la taille des juvéniles ont été calculées. Les juvéniles sont placés dans des bassins extérieurs à des tailles de 50 à 60 mm (pédoncule oculaire au telson). L'emploi de la nurserie permet d'obtenir une meilleure survie dans les bassins, et une récolte de crevettes commercialisables (130-140 mm) après 5 mois.

L'utilisation d'effluents thermiques de centrales électriques provoque un transfert des conditions correspondant à 7-12° de latitude à des concentrations équatoriales. En combinaison avec des techniques de nurserie adéquates, cela permet de produire des espèces tropicales comme *Macrobrachium rosenbergii* en zones tempérées.

.../...



INTRODUCTION.

Fossil-fuel electric generating stations release most of the energy they derive from burning coal or oil back into the environment (GODFRIAUX *et al.*, 1975) (figure 1).

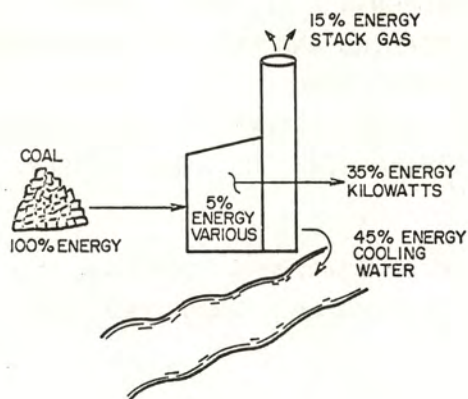


FIGURE 1 : Schematic showing approximate energy balance in a fossil type power plant.

Of this, the loss in discharge waters represents the greatest proportion and contributes to so-called "thermal pollution" of the environment. Waste-heat aquaculture not only offers a method of using this wasted energy but also serves to convert thermal pollution into "thermal enrichment".

The outdoor growth season in Trenton, New Jersey (latitude 40° N) of a tropical animal such as *Macrobrachium rosenbergii* would be far too short (June - August) to grow out marketable adults. The increase in temperature ( $\Delta T$ ) of the waste-heat discharge waters above those of Delaware River ambient (6 - 8° C) make it possible to extend the growing season to five months (May 15 - October 15). In order to grow prawns to marketable size (11 - 13 cm) in a five-month outdoor growing season, traditional methods of stocking ponds with postlarvae (FUJIMURA, 1971, 1972) had to be abandoned and indoor nursery rearing techniques had to be developed (EVANS, 1975, 1976). Ponds had to be stocked with juveniles (6 - 7 cm) in mid-May to insure harvest of adults by mid-October. Nursery grow out of juveniles also has other advantages which are discussed later in this paper.

Brood stock must be maintained in laboratory tanks in order to obtain berried females on demand. Larvae must be grown in closed systems since natural waters are too distant to employ "draw-fill" methods.

Methods of care and maintenance of brood stock and larval rearing will be described. Organization of indoor prawn nurseries will be discussed and stocking densities of early juveniles will be reported.

.../...



MATERIALS AND METHODS.

Brood stock.

Brood stock were maintained in concrete tanks (burial vaults) painted with epoxy paint and fitted with gravel filters and immersion heaters. One type (figure 2) used baffled filters of dolomitic limestone ; the other employed an undergravel filter (figure 3) of the same material. Tanks measured 0.7 x 2.3 m and were 0.6 m deep. Five males and 15-18 females were placed in each tank which was also provided with pieces of polyvinyl chloride piping (6 cm I.D.) and draped netting to increase further the surface area for prawn habitat.

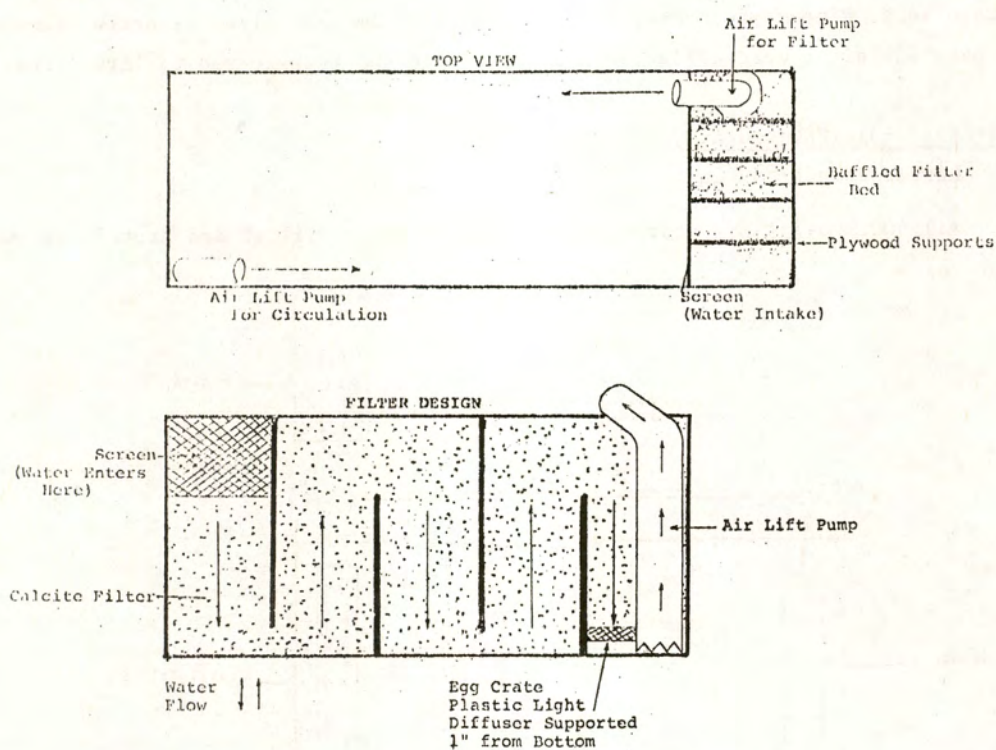


FIGURE 2 : Brood-stock tank with baffled filter.

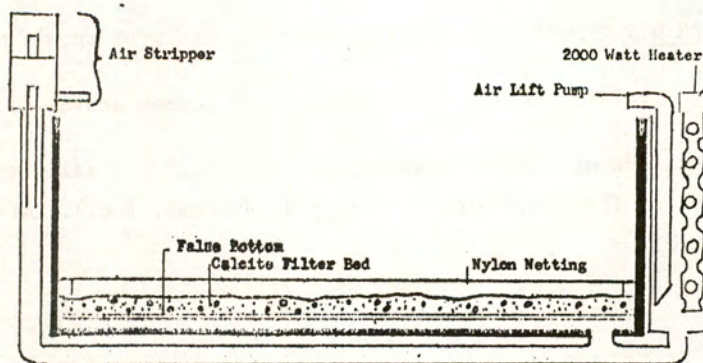


FIGURE 3 : Brood-stock tank with undergravel filter.

.../...



Immersion heaters maintained tanks at  $28 \pm 2^\circ$  C. Air-lift methods provided simultaneously for movement and aeration of water.

Animals were fed Purina Marine Mix, ration 25 at 8 % food per body weight per day ; small pieces of fish (3 - 5 g) were distributed in tank twice a week as dietary supplements.

Berried females were left in tanks until eggs began to turn grey indicating advanced embryonic development with concomitant loss of yolk. Females were then transferred to 400 liter all-glass aquaria maintained at  $28^\circ$  C containing brackish water ( $10^\circ/\text{‰}$ ). Aquaria had gravel filters at one end of the tank ; water was air lifted to far end of tank where females were kept. Fine-meshed screening (Nitex, 40-50  $\mu\text{m}$  mesh size) separated females from filter ; hatched larvae were collected near screening and transferred to larval-rearing tanks.

Larvae (stages 1-5) (UNO and SOO, 1969).

Larvae were grown in :

- (1) 400 l all-glass aquaria fitted with a gravel filter and protein skimmer at one end (figure 4).

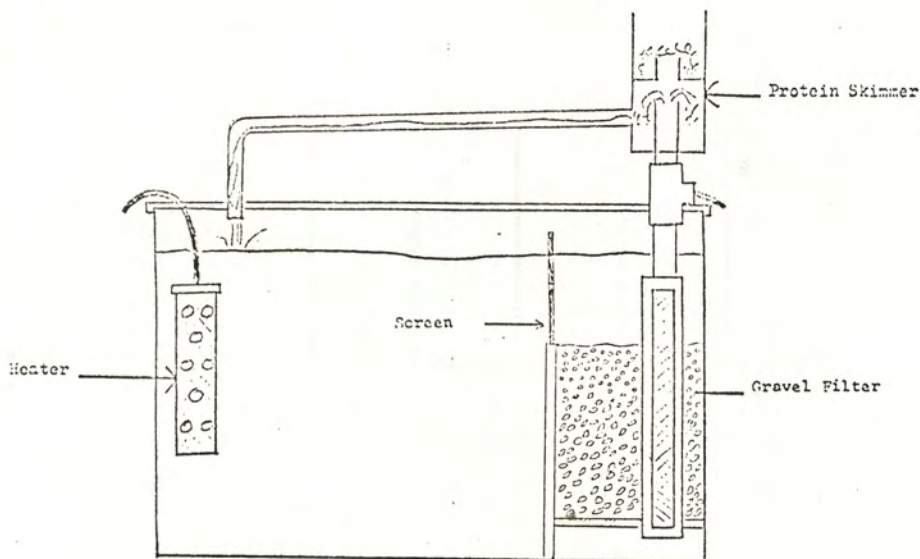


FIGURE 4 : Larval tank using green water and protein skimmer.

- (2) 100 l conical fiberglass tanks fitted with common gravel filters (figure 5).

Immersion heaters maintained temperature at  $28 \pm 1^\circ$  C ; salinity was adjusted to 12 - 14 $^\circ/\text{‰}$  with sea salts ("Instant Ocean" - Aquarium Systems, Inc.). Larvae were fed *Artemia* nauplii (freshly hatched).



- A-100 l Tank
- B- Calcite Filter
- C-PVC Manifold
- D-Magnetic Drive Pump
- E-2 kilowatt Elec Immersion Heater
- F-75 l Sump

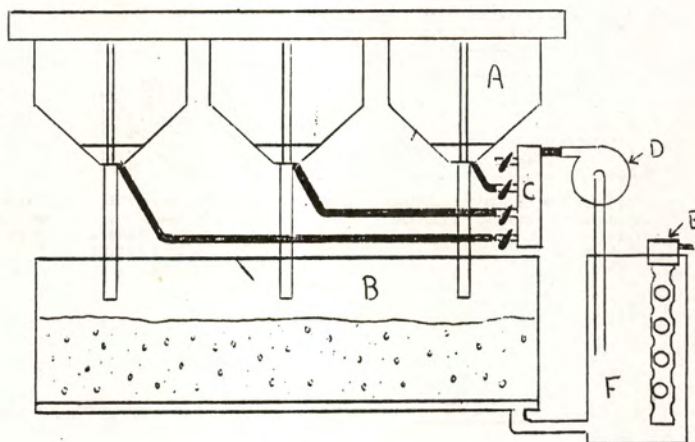


FIGURE 5 : Early larval tanks.

Larvae (stages 6-11).

Larvae were transferred to 100l concrete vaults (0.7 x 2.3 m and 0.7 m deep) coated with epoxy paint. Tanks were provided with gravel filters, protein skimmers and immersion heaters similar to figure 4. Animals were fed synthetic food and finely minced fish (60-90  $\mu$ m). Temperature and salinity were maintained as above (larval stages 1-5).

Postlarvae.

Newly metamorphosed postlarvae were acclimated at 5‰ salinity for three days before being transferred to fresh water. Postlarvae were grown in concrete tanks (0.7 m x 2.3 m and 0.6 m deep) fitted with vertically hanging plastic light diffusers organized into cubes 1 x 1 x 1 cm. Generating station waste-heat discharge water was pumped through tank to turn over water column 2-3 times per hour ; during winter months generating station discharge waters were heated to 28° C by a heat exchanger using natural gas as an energy source. Water was not recirculated.

Juveniles.

Juveniles were grown in same concrete vaults as postlarvae ; generating station discharge water in a once-through system flowed at same rate of exchange.

In order to test for effects of density on juvenile growth concrete vaults were subdivided by a longitudinal partition ; each subvault had its own water supply. In three tanks, each subvault received one of three substrate designs (figure 6) arranged so that each subvault was an exact replica of its counterpart. The subvaults in the fourth tank received no substrates and acted as a control. Each subvault measured 0.31 m<sup>3</sup> with 0.7 m<sup>2</sup> of bottom surface area ; those with substrates received an additional 1.1 m<sup>2</sup> of effective surface area for a total of 1.8 m<sup>2</sup>. Horizontal shelves (figure 6) were composed of a netting ranging in mesh size from 0.95 cm at the top to 0.3 cm at the bottom to provide more even dispersal of food.

.../...



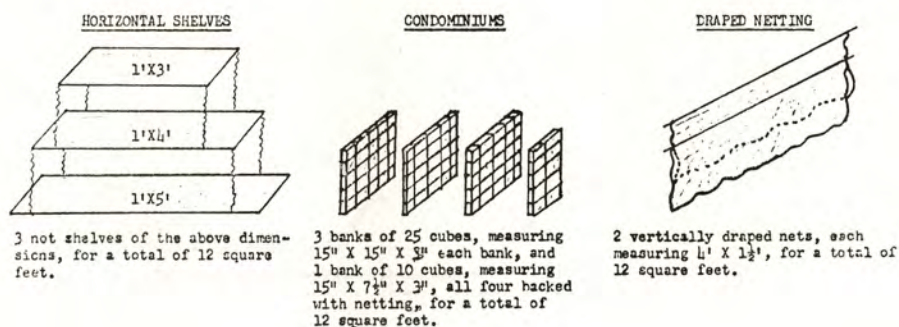


FIGURE 6 : Three fabricated substrate designs.

## RESULTS.

### Brood stock.

Incidence of berried females was variable but averaged 3-4 per week per tank for all seasons of the year.

### Larvae - Postlarvae.

Larvae were grown to metamorphosis in 30-35 days. Tanks with green water (*Chlorella* sp.) showed no advantages over those without the algae. Apparently, unless very high densities of algae are used (MADDOX and MANZI, 1976) no beneficial effects on *Macrobrachium* larvae are realized. Larval densities as high as 50/l were used although the usual density was approximately 25/l. No disease symptoms were noted with the exception of a blue-green epiphytic infestation of the medial surface of the lateral carapace ; to date only unilateral infestations have been observed. The initial attachment of the alga appeared during stages 6-7 ; by stage 11 and into the postlarval stages the alga had grown so large it protruded out from the carapace as a discreet greenish mass whose bulk caused abnormal swimming behavior in infested animals. The algae has been tentatively identified as *Anabaena* sp.

Some mortalities of postlarvae have been observed during the transition from brackish to fresh water ; improper acclimatization has been ascribed as the cause.

### Juveniles.

Experiments on juvenile stocking densities were begun July 24, 1975 with stocking of 100 prawns, 4-6 cm, in each subvault. This resulted in densities of 314.3/m<sup>3</sup> in all subvaults or 143.2 prawns/m<sup>3</sup> and 54.9 prawns/m<sup>2</sup> in the control and substrate subvaults respectively. All experiments were terminated December 20, 1975 ; results are listed in table 1. Growth, survival and density per cubic meter of water are all greater in vaults with additional substrate as compared to the control. In order to compare prawn size with survival, a plot of survival vs. prawn length was made (figure 7). A strong linear relationship between

.../...



these points was indicated by a Correlation Coefficient ( $r$ ) of  $-0.9$  and the resultant Coefficient of Determination ( $r^2$ ) of  $0.81$ . In short,  $81\%$  of prawn survival was directly explainable by prawn size (EVANS, 1975 a, b). A regression line fitted to this data has the equation (EVANS, 1976) :  $Y = 13.46 - 0.15 x$  (1) (figure 8).

Substrate	Replica	Initial length	Final length	$\Delta$ Length	Initial length	Final length	$\Delta$ Weight	% Survival	$N^{\circ}./m^2$	$N^{\circ}./m^3$
Horizontal shelves	1	54.7 mm	77.2 mm	22.5 mm	3.00 g	10.60 g	7.60 g	40	22.6	127.1
	2	54.5	77.8	23.3	3.05	11.59	8.54	37	20.5	116.5
Condominiums	1	54.3	77.0	22.7	3.23	11.02	7.79	34	18.3	105.9
	2	55.0	74.2	19.2	3.84	9.98	6.14	51	28.0	158.9
Draped netting	1	56.0	76.3	20.3	3.66	11.02	7.36	32	17.2	98.9
	2	54.0	83.3	29.3	3.70	14.46	10.76	19	10.8	60.0
	X	54.8	77.6	22.9	3.41	11.45	8.03	36	19.4	113.0
Control	1	54.2	74.5	20.3	3.53	9.74	6.21	35	50.6	109.5
	2	54.8	74.8	20.0	3.36	10.08	6.72	21	30.1	67.0
	X	54.5	74.7	20.2	3.45	9.91	6.47	28	39.8	88.3

TABLE 1 : Summary of substrate comparison data.

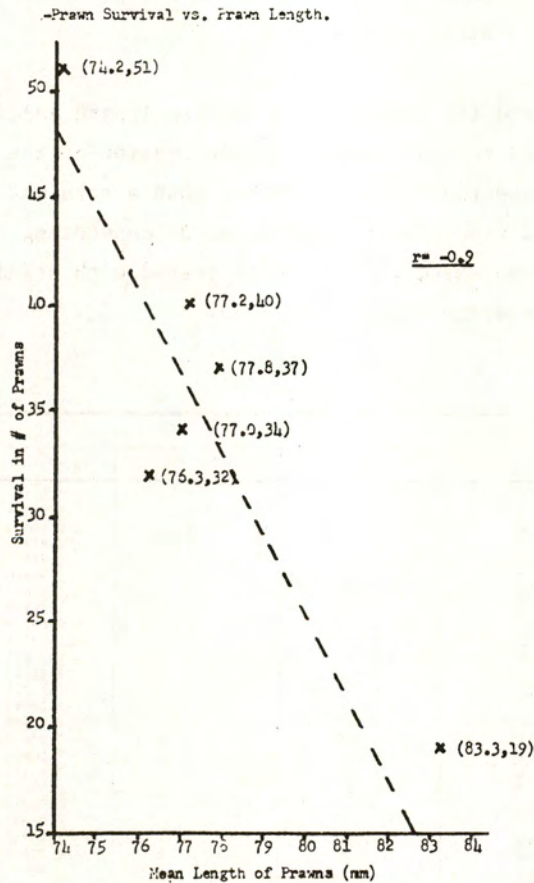


FIGURE 7 : Prawn survival vs. prawn length.

.../...



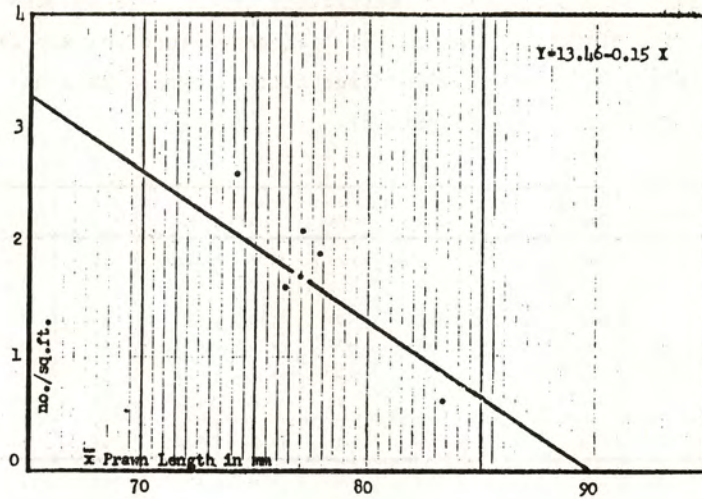


FIGURE 8 : Prawn length-density relationship from substrate experiments.

It would be a mistake, however, to assume that, while the data describes a straight line over its limited range; this straight-line relationship will extend over the entire range of prawn sizes. First, few if any biological relationships manifest themselves in straight lines, and, secondly, neither length nor density could realistically reach zero, as indicated by the X and Y intercepts of a straight line.

To better understand the relationship between length and density, additional length-density data were added to that used in the derivation of the above equation. Assuming the combined data (table 2) describes a curve rather than a straight line, plotting the points on a logarithmic scale should render a straight line. By converting the points to their common logarithms (table 2), the above assumption could be tested with standard linear regression analysis techniques and an equation could be derived.

X axis		Y axis	
$\bar{x}$ Length	log $\bar{x}$ Length	no./sq.ft.	log no./sq.ft.
49.6 mm	1.69548	4.7	0.67210
52.2	1.71767	4.1	0.60278
46.8	1.67025	4.9	0.69020
46.9	1.67117	6.6	0.81954
44.9	1.65225	6.7	0.82607
45.2	1.65514	8.8	0.94448
83.2	1.92012	1.5	0.17609
86.1	1.93500	1.1	0.04139
93.1	1.96895	1.0	0.00000
77.2	1.88762	2.1	0.32222
77.8	1.89098	1.9	0.27875
74.5	1.87216	4.7	0.67210
74.8	1.87390	2.8	0.44716
77.0	1.88649	1.7	0.23045
74.2	1.87040	2.6	0.41497
76.3	1.88252	1.6	0.20412
83.3	1.92065	1.0	0.00000
64.6	1.81023	2.7	0.43136
58.0	1.76343	5.6	0.74819
55.4	1.74351	5.7	0.75587
58.0	1.76343	5.7	0.75587
59.5	1.77452	5.1	0.70757
55.0	1.74036	3.8	0.57820
58.0	1.76343	4.2	0.62325
59.2	1.77232	5.2	0.71600

TABLE 2 : Data used for derivation of prawn density vs. mean prawn length prediction curve. .../...



Analysis of variance shows significant influence on density vs. length at the 99 % probability level and the resulting regression line (EVANS, 1976) :  $\text{Log } Y = 5.17480 - 2.58769 \log x$  (2) has a Correlation Coefficient of  $-0.9$  and a Coefficient of Determination of  $0.81$ , again indication that  $81\%$  of the variation in density is directly attributable to prawn length.

Numerical values of X (length) are converted to common logarithms and equation (2) is solved for log values of Y (density) ; antilogs determine the numerical values of Y to form a series of coordinates which describe the straight line in figure 9. This straight line on logarithmic scales is actually a curve on numerical scales ; figure 10 depicts the transposition of the line and points from figure 9 on to numerical scales.

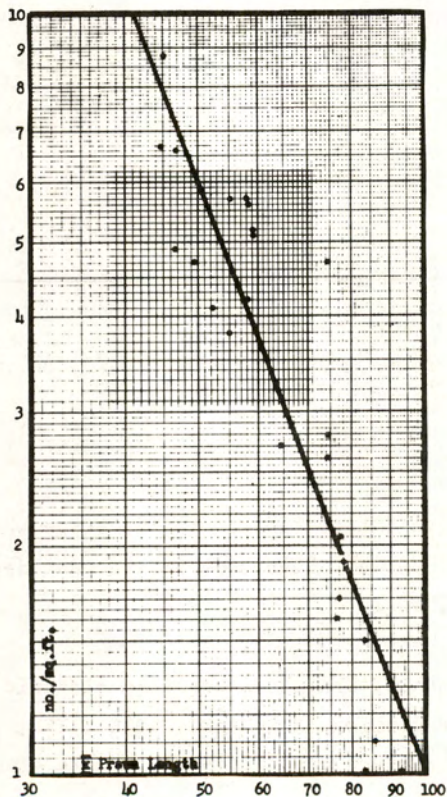


FIGURE 9 : Prawn length-density relationship on logarithmic scale.



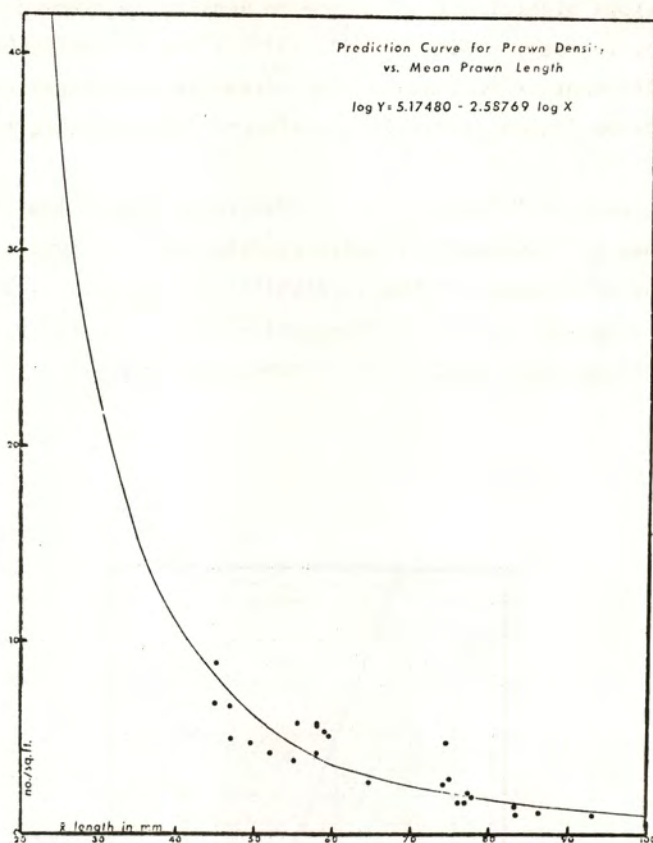


FIGURE 10 : Prediction curve for prawn density vs. mean prawn length.

DISCUSSION.

Aquaculture is in its infancy and is at the stage where agriculture was 10,000 years ago. However, giant strides have been made in the past decade on a world-wide basis (BARDACH, RYTHER and McLARNEY, 1972).

The use of waste-heat discharge waters from electric generating stations have been the subject of theoretical speculations (COUNTANT, 1970 ; YEE, 1971 ; YAROSH *et al.*, 1972) as well as practical applications (GUERRA *et al.*, 1975 ; GUERRA *et al.*, 1975). The use of waste-heat discharge waters of electric generating stations effectively moves the aquaculture site 13° - 20° latitude towards the equator depending upon the  $\Delta T$  of the station. This makes it possible to raise sub-tropical and tropical species in northern and southern temperate zones.

*Macrobrachium* aquaculture has gained widespread popularity (GOODWIN and HANSON, 1975) and although originally cultured only in tropical countries, it has now spread well into the northern temperate zone (GUERRA *et al.*, 1975 ; SANDIFER and SMITH, 1975, 1977). However, even with the use of waste-heat discharge waters from electric generating stations, outdoor growing seasons are less than six months. Thus, new techniques of rearing postlarvae and juveniles in indoor heated nurseries preliminary to pond stocking have evolved (EBLE, 1975, 1976 ;

.../...



EVANS, 1975, 1976 ; SANDIFER and SMITH, 1977). Juveniles are stocked in outdoor ponds at sizes ranging from 4-7 cm and harvested as adults (11-13 cm) five months later. Elaborate designs to increase effective surface area of tank volumes have been worked out (EVANS, 1975, 1976 ; SMITH and SANDIFER, 1975) and prediction curves for maximum postlarval and juvenile stocking have been derived (EVANS, 1976 ; SANDIFER and SMITH, 1977).

It is predicted that *Macrobrachium* aquaculture industries throughout the world (even in the tropics) will use nursery grow-out techniques within five years ; the reasons for this are manifold :

- 1- juveniles have an increased chance of survival in outdoor ponds ;
- 2- slow growing postlarvae can be artificially selected against, thus only fastest growing animals are stocked in ponds ;
- 3- juvenile nurseries can be managed better than ponds ;
- 4- outdoor growing seasons can be shortened by 40-50 %.

#### CONCLUSIONS.

*Macrobrachium rosenbergii* brood stock can be maintained in small concrete vaults using closed cycle techniques. Animals thrive and breed normally ; average fecundity if 3-4 berried females per week per tank for all seasons of the year.

Larvae are raised in small (100 l and 400 l) tanks from stages 1-5 using closed cycle techniques and *Artemia* nauplii as food. Stages 6-11 are grown in large (1000l) tanks using closed cycle techniques with synthetic food fortified with minced fish.

Juveniles must be grown in indoor heated nurseries preliminary to pond stocking. Surface area of water column is augmented through use of fabricated substrates, prediction curves have been generated to relate juvenile size to stocking density.

The use of waste-heat discharge waters from power stations effectively moves aquaculture laboratories 7-12° latitude towards the equator depending upon the  $\Delta T$  generated. This together with nursery grow out techniques, allows for commercial production of tropical animals such as *Macrobrachium rosenbergii* in northern and southern temperate zones.

#### BIBLIOGRAPHY.

- BARDACH, J.F., J.H. RYTHER and W.O. Mc LARNEY, 1972. Aquaculture. The farming and husbandry of freshwater and marine organisms. Wiley-Interscience, N.Y., 868 pp.
- COUTANT, C.C., 1970. Biological limitations on the use of waste heat in aquaculture. *In*, Proceedings of the Conference on Beneficial Uses of Thermal Discharges, N.Y. State Dept. Environ. Conser., Ecol. Sci. Div., Reprint n° 368.

.../...



- EBLE, A., 1975. Integration of thermal and food processing residuals into a system for commercial culture of freshwater shrimp. First Annual Report, June 30, 1975. Appendix VII. (NSF/RANN Grant N° AEN 74-14079 A01).
- EBLE, A., 1976. Integration of thermal and food processing residuals into a system for commercial culture of freshwater shrimp. Second Annual Report, June 30, 1976. Appendix VII. (NSF/RANN Grant N° AEN 74-14079 A01).
- EVANS, M.C., 1975. Fabricated substrates in the intensive culture of *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). In, Integration of thermal and food processing residuals into a system for commercial culture of freshwater shrimp. Second Semi-Annual Report, December 31, 1975. Appendix IX. (NSF/RANN Grant N° AEN 74-14079 A01).
- EVANS, M.C., 1976. A prediction curve for density vs. size in *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). In, Integration of thermal and food processing residuals into a system for commercial culture of freshwater shrimp. Second Annual Report, June 30, 1976. Appendix XI. (NSF/RANN Grant N° AEN 74-14079 A01).
- FUJIMURA, T., 1971. Development of a prawn culture industry. Statement of project accomplishments. Hawaii Sub-Project H-14-D-1. Annual Rep. to Bur. Comm. Fish., U.S. Dept. Int., 6 pp.
- FUJIMURA, T., 1972. Development of a prawn culture industry. Statement of project accomplishments. Hawaii sub-project H-14-D-1. Annual Rep. to Bur. Comm. Fish., U.S. Dept. Int., 6 pp.
- GODFRIAUX, B.L., H.L. VALKENBURG, A. VAN RIPER, G.R. GUERRA, A.F. EBLE and N.E. STOLPE, 1975. Power plant heated water use in aquaculture. In, Proceedings of the third annual pollution control conference of the water and wastewater equipment manufacturers Associations., V. Langworthy (ed.), pp. 233-250.
- GOODWIN, H. and J. HANSON, 1975. Aquaculture of the freshwater prawn (*Macrobrachium* Species). Summary of Workshop on the Culture of Freshwater Prawns, Marine Research Laboratory, Florida Dept. Nat. Resources, St. Petersburg, Florida.
- GUERRA, C.R., B.L. GODFRIAUX and A.F. EBLE, 1976. Power plant waste heat utilization in aquaculture. Workshop I Papers. Held at Trenton State College, Trenton, N.J. Nov. 6-7, 1975. 238 pp. Sponsored by Public Service Electric and Gas Co., Newark, N.J. (U.S.A.).
- GUERRA, C.R., B.L. GODFRIAUX, A.F. EBLE and N.E. STOLPE, 1976. Aquaculture in thermal effluents from power plants, pp. 189-205. In, Proceedings of the 10th European Symposium on Marine Biology, Vol. I. Research in Mariculture at Laboratory and Pilot Scale. G. Persoone and E. Jaspers (eds.). Universa Press, Wetteren, Belgium.
- MADDOX, M.B. and J.J. MANZI, 1976. The effects of algal supplements on static system culture of *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) larvae. In, Proceedings of the Seventh Annual Meeting World Mariculture Society (in press).
- SANDIFER, P.A. and T.I.J. SMITH, 1977. Intensive rearing of postlarval malaysian prawns, *Macrobrachium rosenbergii*, in a closed cycle nursery system. In, Proceedings Eighth Annual Meeting World Mariculture Society (in press).



- SMITH, T.I.J. and P.A. SANDIFER, 1975. Increased production of tank - Reared *Macrobrachium rosenbergii* through use of artificial substrates. In, Proceedings Sixth Annual Meeting World Mariculture Society, pp. 55-61.
- UNO, Y. and K. SOO, 1969. Larval development of *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) reared in the laboratory. J. Tokyo Univ. Fish., 55 (2) : 179-190.
- YEE, W.C., 1971. Food values from heated waters - an overview. In, Proceedings of the 32nd Annual Meeting of the Chemurgic Council, Washington, D.C.
- YAROSH, M.M., B.L. NICHLOS, E.A. HIRST, J.W. MICHEL and W.C. YEE, 1972. Agricultural and aquacultural uses of waste heat. Pub. n° ORNL-4749, Oak Ridge National Laboratories, Oak Ridge, Tenn. (U.S.A.).



**HOMARDS ET CRABES**

*LOBSTERS AND CRABS*



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4 : 247-259.

**CROISSANCE ET SURVIE DU HOMARD (*HOMARUS VULGARIS*)  
PENDANT LES QUINZE PREMIERS STADES EN ELEVAGE ET  
SOUS ALIMENTATION COMPOSEE**

par

Jean-Yves LE GALL, Jean-Charles MAUVIOT, Robert METAILLER et Patrick BERTHOU  
Centre Océanologique de Bretagne, B.P. 337, 29273 Brest Cédex, France.

ABSTRACT.

*Juvenile lobsters were reared for 8 months individually in separate tanks in order to obtain separate estimates of growth. Five batches were studied separately according to the type of diet : deep-frozen krill, paste, dry pellets and moist pellets. Growth data were collected over 15 first molt stages for each type of prepared diet. Observations deal with size and weight increments at moult and with weight/length relationships. Regression of total lengths over carapace lengths were fitted in each case.*

RESUME.

*Des homards juvéniles ont été élevés pendant huit mois en logettes individuelles, permettant ainsi de suivre la croissance par individu. Les animaux ont été répartis en 5 lots, chaque lot recevant une nourriture différente : aliment frais ou aliment composé présenté sous 4 formes différentes. L'expérience a permis de collecter des résultats originaux sur la croissance des juvéniles en élevage pendant les 15 premiers stades, la qualité de l'aliment composé spécialement défini pour cette étude. Les observations portent sur l'accroissement en taille et en poids à chaque mue, la relation taille/poids et la relation longueur totale/longueur céphalothoracique.*

.../...



## INTRODUCTION.

Lors de la dernière réunion du Groupe de Travail C.I.E.M. (Nantes, 1975) sur l'évaluation des stocks de homards, l'accent fut particulièrement porté sur l'absence presque complète de données sur la biologie de la phase prérecrutée chez le homard. En France cette lacune est particulièrement ressentie en raison de l'action menée dans deux directions en vue d'une conservation et d'un aménagement des stocks de homard *Homarus vulgaris* exploités : réalisation de cantonnements et immersion de femelles ovigères d'une part, et, plus récemment, production et immersion de homards juvéniles (stades IV et V) produits en écloserie. Afin de mieux cerner l'incidence éventuelle de ces actions, et suite aux recommandations du Groupe de Travail C.I.E.M., dès l'été 1975, un élevage de juvéniles de homards était mis en place au Centre Océanologique de Bretagne à Brest (France), expérience poursuivie en 1976 et 1977. Cet élevage avait pour but en 1976 particulièrement la mise au point d'un aliment composé sous différentes présentations et modes de conservation, et des observations sur les composantes de la croissance linéaire et pondérale des individus : périodicité des mues, accroissement à la mue, indices biochimiques de l'état physiologique des individus, et incidence éventuelle du mode de présentation de l'aliment composé. Dans le cadre de cette note, seuls les résultats préliminaires sur la croissance en taille, et les relations taille-poids sont exposés et discutés.

## MATERIEL ET METHODES.

### Durée de l'expérience.

L'expérience décrite s'est déroulée entre les mois de juillet 1976 et mars 1977 mais profitait d'enseignements acquis sur l'élevage similaire réalisé en 1975/1976. Cette expérience montrait notamment que le transfert des juvéniles (stades IV et V) de l'écloserie de production au lieu d'expérimentation entraîne une mortalité immédiate importante de 20 à 30 %, et que les effectifs se stabilisent durant les semaines suivantes. Afin de tester l'influence du mode de présentation de la nourriture composée, il paraissait préférable d'utiliser des homards juvéniles ayant atteint leur huitième stade environ, puis de constituer sur ce matériel 5 lots expérimentaux destinés à recevoir une nourriture différente. L'expérience a donc comporté deux phases de chacune 4 mois : la première allant de la réception des juvéniles produits par l'écloserie (20 juillet 1976) à la réalisation des 5 lots expérimentaux (20 novembre 1976) et la seconde proprement expérimentale du 20 novembre 1976 au 20 mars 1977 durant laquelle chaque lot a reçu une nourriture différente.

### Conditions d'élevage (habitat et température).

Pendant l'ensemble des deux phases (8 mois) les homards juvéniles ont été élevés en logettes séparées (logettes cylindriques de 10 cm de diamètre et 5 cm de hauteur à fond de textile synthétique de maille carrée de 1 mm de côté) afin d'éviter le cannibalisme et de permettre de suivre individuellement chaque animal. Durant la première phase (juillet à novembre) l'eau n'a pas été réchauffée, la température a diminué graduellement de 18° C (juillet) à 13,5° C (fin novembre). Au cours de la seconde phase l'eau a été maintenue à 14° C jusqu'au 20 décembre puis à 18° C pendant les trois derniers mois (20.12.76 au 20.03.77). Pendant la

.../...



première phase, jusqu'à la constitution des 5 lots expérimentaux, les animaux furent nourris exclusivement de krill (*Meganyctiphanes norvegica*, Euphausiacées), conservé en congélation depuis le mois de juin 1976. Cette nourriture avait donné des résultats satisfaisants durant l'expérience préliminaire de 1975/1976.

#### Constitution des lots.

Le début de l'expérience proprement dite a donc été la constitution de 5 lots homogènes comportant chacun 50 homards juvéniles âgés de 4 mois ; l'homogénéisation a été obtenue en utilisant la taille du céphalothorax diminué du rostre (Lc) et le poids humide (W).

Les caractéristiques des 5 lots au début de l'expérience peuvent être résumées ainsi :

Lot n°	1	2	3	4	5
Lc (mm) moyenne	8,69	8,70	8,70	8,76	8,71
Ecart-type	0,82	0,83	0,82	0,82	0,75
W (mg) moyenne	365	353	357	360	353
Ecart-type	91	90	80	87	83

#### Mensurations, observations.

Tout au long de l'expérience (phases 1 et 2) les animaux ont été nourris 2 fois par semaine (soit à 3 ou 4 jours d'intervalle). A chaque manipulation, les animaux furent nourris, les exuvies collectées, fixées, puis mesurées, les traces de mues notées. De temps à autre (intervalle de 4 à 6 semaines) un bilan est réalisé afin de déterminer sur l'ensemble des animaux vivants la taille et le poids. La précision des mensurations : longueur céphalothoracique (du bord post-orbitaire au bord postérieur de céphalothorax) et longueur totale (du rostre au telson inclus) est de  $\pm 0,02$  mm. La précision des pesées (poids humide) est de  $\pm 5$  mg. Les valeurs (mensurations et pesées) furent arrondies au dixième de millimètre et au milligramme inférieurs.

#### Alimentation (composition).

Le krill (*Meganyctiphanes norvegica*, Euphausiacées), après décongélation, constituait durant la première phase (juillet-novembre) la nourriture exclusive des juvéniles des stades V à VIII. En raison des qualités de cette espèce comme aliment de base, et de sa disponibilité, cette euphausiacée a constitué la base de l'aliment composé retenu pour l'expérience. Compte-tenu des expériences récentes et des résultats acquis par CASTELL (1974), SCHLESER (1974), MAUVIOT (1976), STEWART (1976), nous avons créé un aliment composé dont les éléments constitutifs sont indiqués dans le tableau 1.

.../...



Aliments	A	B	C	D	E
Krill congelé	100	20	20		
Krill lyophilisé				20	20
Moules fraîches		5	5	5	5
Concentré protéique soluble de poissons		5	5	5	5
Autolysat de poisson		5	5	5	5
Farine de maïs		5	5	5	5
Farine de soja		15	15	15	15
Farine de blé dur		10	10	10	10
Levure de bière		4	4	4	4
Gluten		5	5	5	5
Dextrine		3	3	3	3
Amidon		5	5	5	5
Cellulose		3,2	3,2	3,5	7,5
Huile de foie de morue		5	5	5	5
Prémélange vitaminique et minéral		4	4	4	4
Choline		1	1	1	1
Cholestérol		0,5	0,5	0,5	0,5
Alginate HV		4	4		
Alginate BV				4	
SO <sub>4</sub> Ca (accélérateur de gélification)		0,3	0,3		
Composition (% poids sec)					
Présentation	Tel quel après décongélation	Pâte humide extrudée	Granulé sec (séchage 24 h 34° C)	Granulé humide	Granulé sec (cuisson 200° C 7 min.)
Mode de conservation	Congélation	Congélation	sans	Congélation	sans

TABEAU 1 : Composition et caractéristiques des aliments employés.

Présentation de l'aliment.

Les qualités initiales recherchées pour cet aliment étaient son appétence et sa tenue. L'aliment recherché doit conserver sa forme et ses qualités durant 36 à 48 heures. Cette tenue a été obtenue après essais de différents liants (guaranate, gélatine et alginate), en utilisant l'alginate, qui permet la réalisation d'aliment facile à distribuer dans les logettes en vue d'une éventuelle automatisation de la distribution. Une troisième caractéristique recherchée est la facilité de stockage et d'utilisation afin d'éviter le recours à la chaîne du froid (congélation/réfrigération). Les contraintes classiques : qualité, appétence, tenue, facilité de stockage et de manipulation ont donc déterminé l'expérimentation conduite sur les 5 lots de juvéniles. Quatre aliments ont été élaborés. Leurs caractéristiques sont résumées dans le tableau 1.

RESULTATS.

Qualités immédiates des différentes formes (appétence et tenue).

Les principales caractéristiques et qualités immédiates des aliments sont schématiquement résumées dans le tableau 2.

.../...



Aliment	Appétence	Tenue	Effritement disparition	Apparition mycelium	Facilité d'usage
A	+++	++	+++	non	+
B	++++	+	+	oui rapide	+
C	+++	++++	+++	non	++++
D	+++	+++	++	oui rapide	+++
E	+	++	+++	oui	++++

TABLEAU 2 : Critères d'utilisation des différents aliments.

Incidence sur la mortalité (figure 1).

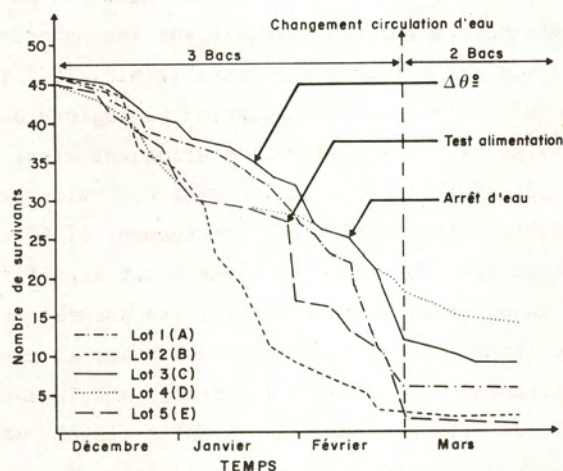


FIGURE 1 : Evolution du nombre de survivants.

Durant les trois premiers mois (décembre, janvier, février), les taux de survie pour les 5 lots ne sont pas satisfaisants en raison du confinement des animaux dans des logettes individuelles trop petites au moment de la mue, et du trop faible renouvellement de l'eau dans les logettes. Pendant le quatrième mois (mars) le taux de survie s'est amélioré en raison d'une augmentation du débit et renouvellement de l'eau. On constate que les courbes de mortalité sont proches l'une de l'autre quel que soit le mode d'alimentation subi par le lot, avec cependant un avantage certain pour le lot 4 (granulé humide). On peut différencier très nettement deux types de mortalité : mortalité "accidentelle" atteignant plusieurs individus simultanément dans un même lot et ayant une répartition spatiale de type contagieuse. Il s'agit essentiellement d'une diminution ou d'un arrêt complet du renouvellement de l'eau de mer. Le second type de mortalité rencontrée est la mortalité régulière intervenant de façon isolée, et le plus souvent au cours de la mue ou juste après. Cette mortalité qui affecte tous les lots est probablement due aux conditions d'élevage. Si l'on élimine les mortalités brutales instantanées et réellement accidentelles, on constate que seul le lot 2 nourri par la pâte

.../...



(tableau 1) se distingue nettement des 4 autres lots. La raison de cette mortalité forte et continue est due à des causes pathologiques, et particulièrement à un champignon dont le mycélium couvrirait rapidement la pâte et à un développement bactérien très rapide notable sur les débris de nourriture sédimentée sous les logettes.

A la simple analyse des courbes de survie et des critères immédiats, il faut écarter d'emblée la pâte simple, le krill pour raison de difficulté de stockage et d'emploi, puis le granulé "cuit" (E) en raison de sa faible appétence, pour choisir entre le granulé sec (aliment C) et le granulé humide (D) qui présente l'intérêt d'une alimentation "humide" et les inconvénients d'un stockage indispensable en congélation.

#### Accroissement à la mue.

L'une des deux composantes essentielles de la croissance est l'accroissement en taille et en poids à chaque mue. L'accroissement en taille peut être apprécié en mesurant chaque exuvie afin d'éviter la manipulation du juvénile lui-même. CONAN *et al.* (1976) ont réalisé une bonne revue synthétique des résultats acquis sur les homards adultes sur ce point précis de l'accroissement à la mue par différents auteurs (ENNIS, 1972 ; GUNDERSEN, 1975 ; HEPPER, 1967) et particulièrement analysé la signification biologique de cet accroissement à chaque mue. CONAN *et al.* (1976) suivant KURATA (1962) distinguent ainsi la croissance arithmétique des mâles adultes telle que dans la relation linéaire qui relie la taille  $L_{n+1}$  après mue à la taille  $L_n$  avant mue, la pente  $b$  n'est pas significativement différente de 1, et la croissance de type régressive des femelles adultes où la pente  $b$  est significativement inférieure à 1. Il est donc intéressant de calculer de façon identique les paramètres de la relation (linéaire) qui relie la taille (longueur céphalothoracique) avant et après la mue et de comparer les valeurs de ces paramètres entre lots. Afin d'éviter, dans le cadre de cette note, toute intrusion dans le domaine de l'allométrie au sens de TEISSIER (1948), MAYRAT (1964) et RICKER (1973), nous avons appliqué la technique de régression prédictive aux données d'accroissement à la mue. Nous avons utilisé la même technique de régression en appliquant une transformation logarithmique afin d'établir la relation longueur totale/longueur céphalothoracique, et la relation taille/poids afin de permettre une comparaison des coefficients de régression à l'aide des techniques statistiques classiques. Les résultats de cette analyse régressive  $L_{n+1}/L_n$  par lot sont rassemblés dans le tableau 3, qui comporte également les éléments nécessaires à la comparaison des droites de régression obtenues pour chaque lot.

Les valeurs des paramètres de régression  $Lc_{n+1}/Lc$  mettent en évidence de grandes différences de comportement statistique entre les différents lots. Les valeurs de la régression ( $a$  et  $b$ ) des lots 3, 4 et 5, sont proches ainsi que leurs coefficients de corrélation. Par contre, le lot 1 possède un coefficient de corrélation faible, mais une variance résiduelle proche de celle du lot 4 (0,0027 - 0,0028). Il s'agit là des deux lots (1 et 4) nourris en alimentation humide conservés en congélation. A l'opposé les lots nourris au granulé sec (3 et 5) ont également une variance résiduelle proche et forte (0,0045 - 0,0048), qui s'oppose nettement à la variance résiduelle très faible des individus du lot 2 nourris à la pâte. On sait que ce lot (figure 2) a subi une très forte mortalité qui a pu conduire à une certaine

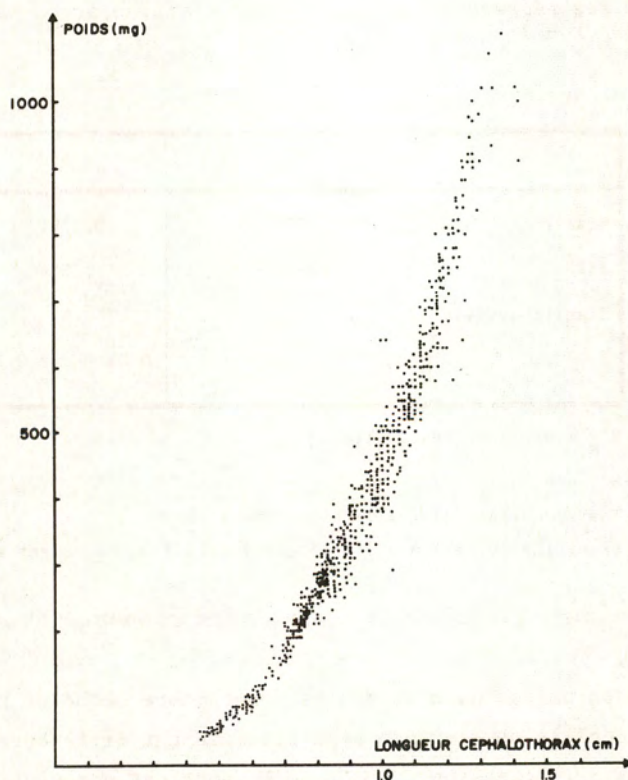
.../...



Paramètres	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 4	Lot 5
a	0,404	0,202	0,123	0,128	0,128
b	0,519	0,825	1,025	1,020	1,020
R	0,547	0,942	0,954	0,923	0,937
$S^2_R$	0,0027	0,00039	0,0046	0,0028	0,0048
$S^2_a$	0,105	0,0057	0,0145	0,0074	0,0071
$S^2_b$	0,00033	0,00002	0,00035	0,00014	0,00023
N	8	17	9	20	22
$EL_n$	4,3440	9,3999	5,6099	11,4299	13,7119
$EL_n^2$	2,3801	5,2663	3,8138	6,9223	9,2267
$EL_n L_{n+1}$	2,9916	6,2496	4,6009	8,5373	11,2200
$EL_{n+1}$	5,4899	11,1999	6,8559	14,2399	16,8899
$EL_{n+1}^2$	3,7906	7,4315	5,5941	10,5985	13,7668

R : coefficient de corrélation  
 $S^2_R$  : variance résiduelle  
 $S^2_a$  : variance de a  
 $S^2_b$  : variance de b  
N : nombre d'observations

**TABLEAU 3** : Paramètres des régressions longueur céphalothoracique  $L_{n+1}$  après la mue sur longueur céphalothoracique  $L_n$  avant la mue :  $L_{n+1} = a + b L_n$ .



**FIGURE 2** : Relation taille/poids chez le homard juvénile.

.../...



homogénéisation des tailles par sélection des individus les plus résistants aux proliférations bactériennes et fongiques qui caractérisent cette forme d'aliment. Ecartant le lot 2, on est donc conduit à comparer les individus des lots 1 et 4 (nourriture humide) aux individus des lots 3 et 5 (nourriture sèche) sur la base des accroissements à la mue. Le même processus de calcul de régression  $L_{n+1}/L_n$  est donc repris pour ces deux ensembles et une comparaison statistique des droites de régression tentée (tableaux 4 et 5).

Paramètres	Alimentation humide	Alimentation sèche
a	0,151	0,127
b	0,984	1,024
R	0,916	0,943
$S^2_R$	0,00289	0,00441
$S^2_a$	0,00707	0,00449
$S^2_b$	0,00010	0,00010
N	28	31
$ELc_n$	15,5999	19,3299
$EL^2_{c_n}$	9,1009	13,0406
$ELc_n Lc_{n+1}$	0,1131	15,8210
$ELc_{n+1}$	19,5799	23,7499
$EL^2_{c_{n+1}}$	14,1639	19,3610

TABLEAU 4 : Paramètres des régression  $Lc_{n+1}/Lc_n$  pour l'alimentation humide (A = lots 1 + 4) et l'alimentation sèche (B = lots 3 + 5).

	$S^2_R$	b
Test F	1,532 <sup>++</sup>	0,1281 <sup>+</sup>
ddl	29/26	1.55
Significativité	N.S.	N.S.
$\alpha$	>.05	0.05 < $\alpha$ > 0.75

$S^2_R$  : variance résiduelle

b : pente

Test F unilatéral (+) ou bilatéral (++)

Significativité : non significatif (N.S.) ou hautement significatif (+++)

TABLEAU 5 : Comparaison des régressions  $Lc_{n+1}/Lc_n$  entre alimentation sèche et humide.

La comparaison de ces deux ensembles (nourriture sèche et nourriture humide) montre que les variances résiduelles ne sont pas significativement différentes au seuil des 5 %, les pentes des deux droites de régression  $L_{n+1}/L_n$  ne le sont pas non plus, comme il apparaît sur les tableaux 3 et 5 (lots 3, 4 et 5). Ces conclusions permettent de retenir comme

.../...



représentative de l'ensemble des lots 1, 2, 3, 4 et 5, l'équation de régression :

$$L_{n+1} = 0,134 + 1,012 L_n$$

$$(R = 0,93, \text{ddf} = 57, S^2_R = 0,0035)$$

Relation taille/poids (figure 2) :  $W = aL_c^n$  (ou  $\text{Log } W = \text{Log } a + n\text{Log } L_c$ )

Cette relation n'a pas encore été donnée pour les stades juvéniles du homard européen. Nous avons regroupé l'ensemble des observations disponibles ( $W/L_c$ ) durant les 2 phases (juillet 1976-mars 1977) sans tenir compte de l'appartenance des individus à tel ou tel lot. La relation allométrique reliant le poids ( $W$ )<sub>mg</sub> à la taille ( $L_c$ )<sub>mm</sub> est :

$$W = 4,64053.10^2 L_c^{2,46}$$

intervalle de confiance de n : 2,401 -2,522  
nombre d'observations : 475.

Il faut remarquer que nous n'avons pas déterminé le stade d'intermue atteint par l'animal au moment de la mesure. Cela signifie que l'intervalle de confiance de l'exposant  $n$  couvre l'ensemble des variations de poids dû au cycle d'intermue.

Mais en dehors de l'intérêt général de cette relation pour la connaissance de la biologie de l'espèce, elle peut être utilisée comme outil pour la comparaison des différents lots. Les valeurs des paramètres de la régression pour les 5 lots (durant la seconde phase décembre à mars 77), regroupées dans le tableau 6, montrent une très bonne homogénéité des cinq lots sur ce critère de la relation taille-poids. Les valeurs de l'exposant  $n$  varient de 2,74 à 2,94, et , les bornes extrêmes des intervalles de confiance sont de 3,11 à 2,58.

Il n'y a donc pas de différence entre les 5 lots soumis à une alimentation différentielle sur le plan de la relation taille-poids.

Paramètres	Lot 1+2+3+4+5	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 4	Lot 5
Log a	6,09	6,07	6,10	6,10	6,08	6,08
n	2,85	2,94	2,74	2,88	2,85	2,89
Ecart-type de n	0,042	0,085	0,078	0,089	0,104	0,125
Intervalle confiance	2,934 2,766	3,110 2,77	2,896 2,584	3,058 2,702	2,954 2,746	3,015 2,765
Nombre d'observations	420	88	72	98	89	72
R	0,95	0,96	0,97	0,95	0,94	0,93
Variance résiduelle	0,0071	0,0062	0,0055	0,0058	0,0070	0,0117

Remarque : données collectées les 4 mois de la phase 2 (après alimentation différentielle - décembre/mars).

**TABEAU 6** : Valeurs des paramètres de la relation (régression) poids ( $W$ ) sur taille ( $L_c$ ) :  
 $W = aL_c^n$   $\text{Log}_e W_{mg} = \text{Log}_e a + n \text{Log}_e L_c$ .

.../...



Relation  $L_t$  longueur totale/longueur céphalothoracique  $L_c$ .

Sans entrer dans le vaste problème de l'allométrie de croissance chez les crustacés (MAYRAT, 1964), on peut être néanmoins tenté de comparer les droites de régression longueur totale  $L_t$  sur longueur céphalothoracique  $L_c$  obtenues sur les différents lots durant les 4 mois d'alimentation différentielle. Les valeurs des paramètres de ces régressions pour chaque lot, rassemblées dans le tableau 7, sont très proches et ne montrent aucune différence statistiquement significative. Sur ce point, il n'y a donc pas en 4 mois d'alimentation différentielle, de différences notables entre lots sur ce simple critère morphométrique.

Paramètres	Lot 1+2+3+4+5	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 4	Lot 5
a	2,745	2,745	2,801	2,944	2,718	3,034
b	0,954	0,916	0,932	0,963	0,964	0,999
Ecart-type de b	0,018	0,033	0,041	0,041	0,036	0,056
Nombre d'observations	203	47	26	52	49	29
R	0,96	0,97	0,97	0,95	0,96	0,95
Variance résiduelle	0,0053	0,0042	0,0055	0,0053	0,0044	0,0053

Remarque : données collectées les 4 mois de la phase 2 (après alimentation différentielle - décembre 1976/mars 1977).

TABLEAU 7 : Valeur des paramètres de la relation (régression) longueur totale ( $L_t$ ) sur longueur céphalothoracique ( $L_c$ ) :  $\text{Log}_e L_t = \text{Log}_e a + b \text{Log}_e L_c$ .

La relation de même type obtenue sur tous les individus des 5 lots durant les 8 mois d'élevage donne une relation générale  $\text{Log}_e L_t = \text{Log}_e a + b \text{Log}_e L_c$  avec pour valeurs particulières :

$$\text{Log}_e L_t = \text{Log}_e 2,593 + 1,06 \text{Log}_e L_c$$

$$s_b^2 = 0,018, N = 206, R = 0,96$$

et qui peut traduire la relation générale durant les 8 premiers mois de la vie de l'animal.

DISCUSSION.

Le but recherché au long de l'expérience est double : d'abord une meilleure connaissance de la biologie des premiers stades du homard et ensuite la mise au point d'un aliment composé pour ces juvéniles. Nous n'avons dans un premier temps abordé que l'étude de l'accroissement linéaire et pondéral à la mue, devant analyser ultérieurement la deuxième composante de croissance qui est la périodicité de la mue. D'autre part, des résultats immédiats sont obtenus sur les qualités immédiates des différentes formes de présentation de l'aliment.

Conditions d'élevage et survie.

L'allure linéaire décroissante des courbes de survie (figure 1) démontre à l'évidence que les conditions d'élevage n'étaient pas satisfaisantes et qu'une cause externe

.../...



entraînait jusqu'à fin février la mort d'une quantité constante d'animaux sans relation avec les effectifs des lots. Cette cause externe est l'insuffisance du renouvellement d'eau dans les logettes individuelles, comme le montre le remède porté à la fin du mois de février.

Tenue et appétence des aliments.

L'aliment B (pâte) doit être absolument écarté et l'allure des courbes de survie comme la facilité d'utilisation conduit à retenir comme meilleure formule l'aliment 4 (granulé humide).

Il faut remarquer que l'aliment B (pâte), le plus défavorable au plan de l'effectif des survivants, a cependant conduit à une sélection des individus les plus résistants, à une homogénéisation du lot que traduit la très faible variance résiduelle observée sur ce lot (tableau 3).

Accroissement à la mue.

Aucune différence statistiquement significative entre lots n'a été trouvée à l'issue des 4 mois d'alimentation différentielle, sur ce critère d'accroissement linéaire à la mue. On gardera présent à l'esprit qu'il s'agit d'un même aliment de base (krill), complémenté puis présenté sous quatre formes différentes, soit en 2 formes sèches et 2 formes humides. Le fait qu'aucune différence n'ait été obtenue peut provenir du fait que la durée d'expérience (4 mois) est trop faible, ou signifier que ces aliments sont équivalents, contrairement à ce que démontrent REGNAULT *et al.* (1975) sur l'intérêt de l'alimentation humide pour la crevette *Palaemon serratus*.

En comparant les résultats acquis au cours de cette étude avec ceux de CONAN *et al.* (1976) sur le homard adulte on constate que les valeurs de la pente de l'équation de régression  $L_{n+1}/L_n$  sont très proches : 1,012 (présente étude), 1,046 (pour les mâles en aquarium, CONAN) et que les ordonnées à l'origine sont logiquement plus faibles (0,134) pour les juvéniles que pour les mâles adultes (0,358) (tableau 8).

Sources	Males <i>Homarus gammarus</i>
(Présente étude)	<u>Aquarium</u>
	Juveniles : $Lc_{n+1} = 0,134 + 1,012 Lc_n$ (R = 0,93, ddf = 206, $S^2_R = 0,0035$ )
CONAN (1976)	Adultes : $Lc_{n+1} = 0,358 + 1,046 Lc_n$ (R = 0,98, ddf = 206, $S^2_R = 0,0547$ )
CONAN (1976)	<u>Milieu naturel</u>
	Juveniles : ? Adultes : $Lc_{n+1} = 0,733 + 1,034 Lc_n$ (R = 0,97, ddf = 102, $S^2_R = 0,0418$ )

TABLEAU 8 : Comparaison des régressions  $Lc_{n+1}/Lc_n$  sur les juvéniles et les mâles adultes en élevage et dans le milieu naturel. .../...



L'interprétation biologique que l'on peut faire de ces résultats est que le schéma de croissance de cette espèce, au sens de la morphogénèse des stades de croissance successifs, est particulièrement robuste pour varier peu soit aux mêmes stades en fonction de la nourriture, soit au cours des grandes étapes de vie de l'animal : phase juvénile ou phase adulte. Cependant, comme le font remarquer justement CONAN *et al.* (1976), il reste à conduire une étude plus large de l'influence de la distribution géographique des populations sur l'allure de ce schéma spécifique de croissance.

#### CONCLUSION.

L'une des formulations d'aliment composé (forme D : granulé humide) paraît pouvoir être retenue en fonction de ses critères diététiques, de son utilisation pratique, et des résultats satisfaisants au plan de la survie des homards juvéniles en élevage. Sur le plan fondamental l'allure de la croissance des juvéniles (accroissement linéaire relatif à la mue) complète les observations faites sur les animaux adultes et s'intègre très exactement dans le schéma de croissance général de cette espèce.

#### REMERCIEMENTS.

L'aide et les conseils de G. CONAN et A. LAUREC ont été extrêmement précieux tant pour l'analyse statistique des données que pour l'interprétation biologique des phénomènes.

#### BIBLIOGRAPHIE.

- C.I.E.M., 1975. Report on the Working Group on *Homarus* stocks. ICES Shellfish and Benthos Committee, C.M. 1975/K : 38, 18 p.
- CASTELL, J.D. and S.D. BUDSON, 1974. Lobster nutrition : the effect on *Homarus americanus* of dietary protein levels. J. Fish. Res. Bd Canada, 31 : 1363-1370.
- CONAN, G. and K.R. GUNDERSEN, 1976. Growth curve of tagged lobsters (*Homarus vulgaris*) in the sea in Norway as inferred from relative increase in size at moulting and frequency of moult. ICES Special Meeting on Population Assessments of Shellfish stocks. Contribution n° 5, 12 p.
- DANIELSSEN, D.S. and S.A. IVERSEN, 1975. Temperature effect on mortality and growth of lobster (*Homarus gammarus*) in its first year of life. ICES Shellfish and Benthos Committee, C.M. 1975/K : 46, 6 p.
- ENNIS, G.P., 1972. Growth per moult of tagged lobsters (*Homarus americanus*) in Bonavista Bay, Newfoundland. J. Fish. Res. Bd Canada, 29 : 143-148.
- GUNDERSEN, K.R., 1975. Some results of increase in length at moulting in aquaria and in the sea, and moult frequencies in the sea of tagged lobsters (*Homarus vulgaris*) in Norway. ICES Shellfish and Benthos Committee, C.M. 1975/K : 54, 4 p.



- HEPPER, B.T., 1967. On the growth at moulting of lobsters (*Homarus vulgaris*) in Cornwall and Yorkshire. J. Mar. Biol. Ass. U.K., 47 : 629-643.
- HOWARD, A.E. and D.B. BENNET, 1976. The substrate preference and burrowing behaviour of juvenile lobsters (*Homarus gammarus*). ICES Shellfish and Benthos Committee, C.M. 1976/K : 10, 7 p.
- KURATA, H., 1962. Studies on the age and growth of Crustacea. Bull. Hokkaido reg. Fish. Res. Lab., 24 : 1-115.
- MAUVIOT, J.C. and J.D. CASTELL, 1976. The molt and enhancing effects of bilateral eyestalk ablation on juvenile and adult lobsters (*Homarus americanus*). J. Fish. Res. Bd. Canada, 33, 9 : 1922-1929.
- MAYRAT, A., 1964. Croissance et développement chez les crustacés. Leur étude biométrique (avec quelques remarques sur les insectes). Mémoires IFAN n° 77. Réunion de spécialistes C.S.A. sur les Crustacés, Zanzibar, 500-648.
- REGNAULT, M., A. CAMPILLO et P. LUQUET, 1975. Croissance des crevettes *Crangon crangon* et *Palaemon serratus* soumises à un régime artificiel : influence du mode de présentation et du mode de séchage de l'aliment. Cahiers Biol. Marine, XVI, 1-20.
- RICKER, W.E., 1973. Linear regressions in fishery research. J. Fish. Res. Bd. Canada, 30 : 409-434.
- SCHLESER, R. and M. GALLACHER, 1974. Formulations of rations for the American lobster, *Homarus americanus*. Proc. 5th Annual Meeting World Mariculture Society, January 21-25, 1974.
- SNEDECOR, G.W. and W.G. COCHRAN, 1967. Statistical methods. Iowa State Univ. Press, Ames Iowa, 593 p.
- STEWART, J.E. and J.D. CASTELL, 1976. Various aspects of culturing the American lobster, *Homarus americanus*. FAO Technical Conference on Aquaculture, Kyoto, Japan, May 26-June 2, 1976. FIR : 17Q/Conf/76/E.N, 9 p.
- TEISSIER, G., 1968. La relation d'allométrie. Sa signification statistique et biologique. Biometrics, 4 : 14-53.



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4 : 261-275.

## METHODS FOR CULTURING THE AMERICAN LOBSTER (*HOMARUS AMERICANUS*)

by

James M. CARLBERG and Jon C. VAN OLST

Department of Biology, San Diego State University, San Diego, California 92182, U.S.A.

### ABSTRACT.

*The objectives of this research are to evaluate the usefulness of waste heat from steam electric generating stations as an inexpensive and suitable source of warmed seawater for use in aquaculture of American lobsters and to develop the techniques and systems necessary for the commercially viable culture of this species. Growth rates of larval and juvenile stage lobsters are significantly greater in effluent of elevated temperature than at ambient ocean temperature. Water quality analyses suggest that concentrations of heavy metals and chlorinated hydrocarbons are similar in each water source.*

*Culture techniques have been developed for the larval and juvenile stages and current research efforts are directed toward controlling reproduction, reducing cannibalism, refinement of artificial diets, developing methods of disease prevention, and in engineering culture systems to rear large numbers juveniles to market size.*

*Criteria essential to the development of culture systems for the intensive rearing of lobsters and other cannibalistic crustacean species in individual holding compartments are considered. Latest cost projections indicate that lobster culture utilizing these systems may be economically feasible.*

### RESUME.

*Cette recherche a pour objectif l'évaluation des possibilités d'utilisation de la chaleur perdue dans des centrales électriques thermiques, comme source d'eau réchauffée convenable et économique, dans l'aquaculture du homard américain, et de développer des techniques et des systèmes permettant des élevages commercialement viables de cette espèce. Les taux de croissance des stades larvaires et juvéniles des homards sont significativement plus élevés dans les effluents à température élevée que dans une eau océanique normale. Les analyses de qualité de l'eau suggèrent que les concentrations de métaux lourds et d'hydrocarbures halogénés sont similaires dans chacune de ces sources.*

*Des méthodes d'élevage ont été développées pour les stades larvaires et juvéniles, et l'effort de recherche actuel est dirigé vers le contrôle de la reproduction, la prévention des maladies, la limitation du cannibalisme, le perfectionnement des aliments composés, et la conception de systèmes de production à grande échelle d'animaux commercialisables.*

*Les critères de base du développement de systèmes de culture adaptés à l'élevage intensif du homard et d'autres espèces cannibales dans des compartiments individuels sont envisagés. Les plus récentes études de coût indiquent que l'élevage du homard dans de tels systèmes pourrait être économiquement rentable.*

.../...



## INTRODUCTION.

The American lobster (*Homarus americanus*) has been identified as one of the priority species for commercial cultivation in the United States (BLACK, 1973). There is considerable justification for selecting this species as a candidate with high aquaculture potential. The American lobster has broad physiological tolerances, is capable of accelerated growth, reproduces in captivity, has an abbreviated larval development, is moderately disease resistant, and demands a high market price.

Research conducted in the aquaculture program at San Diego State University has concentrated on the use of thermal effluent from steam electric generating stations in the culture of the American lobster and on the development of techniques for the commercial culture of this species. The work has been performed at three aquaculture laboratories, at the Scripps Institution of Oceanography in La Jolla, California, the Redondo Beach Generating Station of Southern California Edison Company, and the Encina Power Plant of the San Diego Gas & Electric Company. Encouraging information relating to the use of thermal effluent as a low-cost, non-toxic source of heated seawater for mariculture has been obtained (FORD *et al.*, 1975 ; VAN OLST *et al.*, 1976 ; DORBAND *et al.*, 1976).

The research program at SDSU, as well as several other institutions, concerns the biological and technological problems which must be solved before commercially viable lobster farming would be possible. A very large amount of relevant information is now available. Major accomplishments include :

- 1) the development of satisfactory systems for larval culture (HUGHES *et al.*, 1974 ; SERFLING *et al.*, 1974 a and b ; SCHUUR *et al.*, 1976) ;
- 2) information on feeding requirements, activity patterns, and social behavior of the American lobster, and the potential dangers involved with its introduction as an exotic species (KREKORIAN *et al.*, 1974 ; CARLBERG, 1975 ; LESTER, 1975) ;
- 3) the development of techniques for mass rearing of juveniles (VAN OLST *et al.*, 1975, 1976) ;
- 4) information on optimal feeding rates for larvae and early juveniles (CARLBERG and VAN OLST, 1976) ;
- 5) information on optimal temperatures for lobster culture (HUGHES *et al.*, 1972 ; BOTSFORD *et al.*, 1974 ; FORD *et al.*, 1975 ; VAN OLST *et al.*, 1976) ;
- 6) information on the diagnosis, treatment, and prevention of diseases (SCHAPIRO *et al.*, 1974 ; FISHER *et al.*, 1975) ;
- 7) the development of methods for analysis of cost-effectiveness (JOHNSTON, 1975) ;
- 8) the development of several promising artificial diets (CONKLIN *et al.*, 1975 ; VAN OLST *et al.*, 1976) ; and the successful crossbreeding of *H. americanus* and *H. gammarus* (VAN OLST *et al.*, 1976).

.../...



## RESULTS.

### Water quality.

One major aspect of our research has been to conduct comparative water quality analyses, lobster tissue analyses, acute toxicity studies, and rearing experiments to assess the benefits and problems in using thermal effluent to culture the American lobster from the egg to market size. Atomic absorption analysis of intake and effluent water samples from three fossil fuel generating stations indicated that the condenser cooling systems apparently did not affect the concentrations of Cu, Zn, Cd, Co, Cr, Pb, and As in the thermal effluent or the intake seawater. The concentrations of these heavy metals in all tissues were well below Food and Drug Administration (FDA) limits for these metals in foodstuffs. Lethal limits for these seven metals, as determined by bioassay experiments, were all at least an order of magnitude higher than levels of the chemicals encountered in generating station effluents. Growth and survival of larval and juvenile lobsters maintained in long-term rearing experiments at constant temperatures were not significantly different in effluent, intake, and Scripps water sources (FORD *et al.*, 1975 ; DORBAND *et al.*, 1976). These results indicate that the thermal effluent from typical fossil fuel generating stations in Southern California provides a suitable heated water source for the culture of American lobsters.

Another aspect of water quality research involves measurement of the chlorinated hydrocarbon compounds, such as DDT, and PCB's, which may be present in seawater at levels high enough to accumulate in lobster tissues and make the animals unsuitable for human consumption. Certain of these chemicals, such as vinylchlorides and plasticizers, may be introduced into the seawater as they are leached from components used in the culture systems.

Samples of seawater from SIO, and intake and discharge water from the power station sites, were surveyed for chlorinated hydrocarbons. Preliminary results indicated that several compounds were present in the seawater, but at levels low enough so that growth and survivorship of the animals would not be impaired. Some of the compounds found in the seawater were the pesticides DDT, lindane and dieldrin, and the plasticizer Aroclor 1254. In no case did it appear that the power plants were influencing the levels of contaminants in the water, since measurements of intake and discharge water were essentially equal. Preliminary measurements of the levels of chlorinated hydrocarbons which have accumulated in the edible tissue of lobsters cultured for approximately two years at our SIO laboratory were also shown to be well below FDA limits. Pesticides and plasticizers were also found, but at very low levels. Continued research will establish acute lethal limits (LD<sub>50</sub>'s) and chronic effects for artificially induced levels of those chlorinated hydrocarbons which are found to be present in potentially toxic concentrations. These will include DDT, Aroclor 1254, and vinylchloride. It is necessary to know what levels of these pollutants would be limiting to growth and survivorship so that recommendations can be made regarding the suitability of various areas for aquaculture, and so that results will have widespread applicability.

A second major area of water quality research involves toxicants which are produced by the cultured animals themselves. Ammonia is the primary excretory product of lobsters and

.../...



is known to be highly toxic to *H. americanus*. Because of this, specific knowledge of tolerances to this compound is essential for proper design of semiclosed culture systems used in rearing species at high densities.

In a series of experiments, threshold concentration and incipient 50 % lethal concentration ( $LC_{50}$ ) were determined for Stage IV larval lobsters. Toxicity appeared to be related to the un-ionized  $NH_3$  fraction. This fraction is dependent upon the effects of pH, temperature, and salinity on the  $NH_3/NH_4^+$  equilibrium. Increasing pH caused markedly higher mortalities. Evidence concerning possible effects of both temperature and salinity on ammonia toxicity was less clear (DELISTRATY *et al.*, 1977). From these data a "safe" ammonia tolerance level was determined.

A simplified steady-state model was developed for predicting optimum carrying capacity in culture systems for juvenile and adult lobsters, as a function of degree of water reuse, ammonia removal efficiency, water flow rate, ammonia excretion rate, and ammonia concentration of the ambient source intake water.

#### Reproduction and hybridization.

In the past lobster researchers have depended upon a source of egg-bearing females captured from the wild. However, in recent years many accomplishments have been made in the development of techniques for successful year-round reproduction in captivity. Homarid lobsters are generally quite promiscuous and mate immediately following molting of the female. Extrusion of eggs occurs in three to four months when development is accelerated at elevated temperatures of 22° C. In most cases, hatching occurs within four months after extrusion and a second reproductive cycle can be initiated after only two months. Unfortunately, many females expel their eggs prematurely and the abortifacient cause is currently being investigated.

We have successfully crossed the American lobster, *H. americanus*, with a closely related European species, *H. gammarus*. Accurate prediction of egg development and hatching was accomplished with a slight modification of the Perkin's Index. Following successful hatching of the hybrid larvae last spring, comparative growth experiments were initiated. Previous comparisons revealed that both species have nearly identical rates of growth (VAN OLST *et al.*, 1976). Preliminary results after seven months of growth indicate that the hybrid progeny exhibit growth rates superior to the parent stock.

#### Disease.

The American lobster is known to be moderately disease resistant. Red tail or Gaffkemia, which is the major cause of disease among wild populations, has not proven to be a problem in the culture of lobsters. However, there are infrequent infestations by other bacteria in the larval and early juvenile stages. The most common pathogen affecting the larval stages is *Leucothrix mucor* which can be successfully controlled by administering appropriate

.../...



antibiotic agents. Rare occurrences of other filamentous and chitinolytic bacteria and phycomycetous fungi have been reported (FISHER *et al.*, 1975). Research is in progress on the development of prophylactic and treatment procedures and some results indicate the potential for immunization against bacterial diseases (SCHAPIRO and STEENBERGEN, 1974).

#### Development of artificial diets.

Several experimental shrimp diets were shown to be nutritionally deficient or imbalanced for lobsters. These rations, when supplemented with pelagic red crab, *Pleuroncodes planipes*, produced growth rates similar to those achieved for lobsters fed frozen brine shrimp (VAN OLST *et al.*, 1976). Ingredient analysis has shown that pelagic red crab has a broad amino acid spectrum, and is high in lipid content and essential carotenoids. In recent feeding trials it was determined that a 10-20 percent addition of crab meal was sufficient to accomplish this accelerated growth. This level is nearly identical to the concentration determined by fish nutritionists to be necessary for salmonids. These results demonstrate the value of pelagic red crab meal as aquaculture feed ingredient. The supplemented feed can now be used as a temporary maintenance diet which is less expensive to produce and more conveniently stored and delivered to individual rearing compartments. However, while this diet is superior to other manufactured feeds tested, it is still nutritionally deficient when compared to a live brine shrimp control diet.

Current nutrition research is designed to assess the interaction of the five major dietary components : proteins, saturated and unsaturated fatty acids, vitamins, and carotenoid precursors. This is a cooperative research project by three groups within the UC Sea Grant Program, involving diet formulation at the Bodega Marine Laboratory, analysis at Foremost Research Center, and evaluation at the SDSU aquaculture laboratory.

#### LOBSTER PRODUCTION PLAN.

The results of recent research indicate that a three phase plan for commercial lobster production might be appropriate. In the first phase, larvae would be reared in special planktonkreisel culturing units (figure 1). In the second phase, the small juveniles produced would be cultured in communal rearing systems for up to six months. The advantages of this approach result from decreased costs in feeding, maintenance, and water distribution to animals held in large communal tanks, as opposed to smaller, individual containers. During the third phase, lobsters would be cultured to final market size in a system incorporating individual rearing containers in order to eliminate losses due to cannibalism.

#### Communal rearing of larval lobsters.

Research to date has shown that the larval rearing phase is easily accomplished in culture containers developed at the Massachusetts State Lobster Hatchery (HUGHES *et al.*, 1974) and modified by other aquaculture research groups (SERFLING *et al.*, 1974 a and b ; SCHUUR *et al.*, 1976). At 22-24° C, larvae stocked at initial densities of 3,000 per 15 liter culture

.../...



container, and fed live adult brine shrimp, *Artemia salina*, should yield approximately 2,000 Stage IV individuals in ten days, for stocking in the communal rearing, or the second phase of the production process. The concentration of live adult *Artemia* should be maintained at about 4-8 per larva (CARLBERG and VAN OLST, 1976).

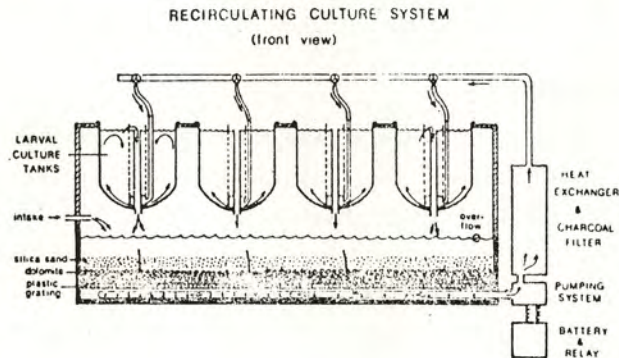


FIGURE 1 : Front, cross-sectional view of the recirculating culture system, showing the Hughes culture tank and circulator design, the primary and secondary filtration systems.

#### Communal rearing of juvenile lobsters.

Communal rearing may have potential for the production of early juvenile stages, since these systems are less complex and are less expensive to operate than individual rearing systems. However, several experiments have resulted in low survival and yielded individuals of non-uniform size.

The Stage IV individuals resulting from the larval hatchery operation would be stocked in raceway systems. This second phase, lasting approximately six months, would involve a mass rearing or communal rearing approach. During this period, even with high levels of supplemental feeding, relatively high losses due to cannibalism can be expected (VAN OLST *et al.*, 1975). However, these losses come at a time early in the growth of the lobsters and are tolerable in terms of labor and feed expenditures at this stage in the culturing process.

The high rate of mortality observed during the communal rearing phase of production can be decreased by reducing the number of agonistic encounters that result in cannibalism. This has been achieved by optimizing the environmental conditions of the culture system to accommodate the aggressive and solitary behavioral characteristics of juvenile *H. americanus*. Previous studies have shown that providing a shelter or refuge will significantly reduce rates of cannibalism among communally reared lobsters (VAN OLST *et al.*, 1975). The results of a recent set of experiments indicate that providing three-dimensional, vertically-stacked substrates will further increase survival over the levels determined for two-dimensional substrate configurations. Other results demonstrate that an optimal stocking density of 100 Stage IV larval lobsters per square meter of tank bottom area will produce a larger number of six-month-old juveniles. Preliminary results of a study to determine the influence of photoperiod on the nocturnal feeding patterns described in earlier reports indicate that constant dark produces lower survival in communal rearing systems, and that a light cycle between 18 and 24 hours is

.../...



optimal. An elongated light exposure causes reduced numbers of interactions, because the nocturnal juveniles remain in their individual shelters for a greater portion of the culture period. This also may result in increased rates of growth due to the reduced energy expenditure in locomotor activity unrelated to the procurement of food. Feeding of live adult brine shrimp in these systems produces higher yields than frozen *Artemia* or dried extruded diets. However, fluidization of pelletized feeds has considerable potential for uniform food distribution when using vertical substrates.

Research on the use of thermal effluent in lobster aquaculture indicates that the optimal growth temperature of 22° C also contributes to accelerated growth among communally reared juveniles. Growing juveniles at elevated temperature yields larger individuals at the end of the six-month communal rearing period. Studies currently in progress on size segregation and on the development of multilayered rearing containers may contribute to the increased survival and production of juveniles of uniform size from communal rearing systems. These yields may be further improved when pheromone communication and the behavioral mechanisms of dominant-subordinate relationships are better understood.

Current results indicate that lobsters of 5 mm carapace length stocked at densities of 100/m<sup>2</sup> in raceways with plastic honeycomb vertical substrates, which provide many crevices and shelters, should yield 40 lobsters/m<sup>2</sup> with an average carapace length of 20 mm at the end of the six-month rearing period. Cannibalism may be an advantage, since it is a process of biological selection which eliminates those animals least well adapted to the artificial culture environment. The survivors grow to a larger size by feeding in part on what we have shown to be one of the most nutritious foods available, other lobsters.

At the end of the communal rearing period, each survivor would be so large that further losses due to cannibalism could not be tolerated from an economic standpoint. Thus, in the third phase of the culturing process, individual of single-cell rearing would be mandatory.

#### Culture systems for the individual rearing of lobsters.

Several production systems for intensive individual culture have been designed. Working models of three culture systems showing considerable potential were constructed and their performance characteristics are being compared.

The high rates of cannibalism which have been documented for *H. americanus* reared communally dictate that for a majority of the culture period the lobsters should be reared individually, in order to eliminate these losses.

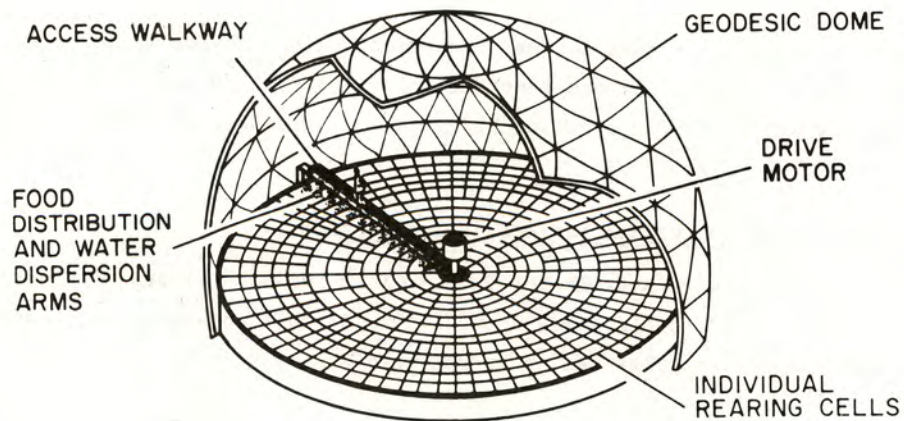
Several different methods have been developed for culturing lobsters individually. All of them provide a separate compartment for each animal, a constant supply of oxygenated seawater to each individual, a method of removing particulate and dissolved wastes, and in general, an environment which will promote rapid, uniform growth and high survival. Once the criteria for providing high water quality are met, the most important requirement is the amount of space provided for each animal, in terms of cross-sectional bottom area. .../...



The space requirements for lobsters under intensive culture conditions represent an important economic consideration in growing the juveniles to market size. We are conducting long-term experiments to determine the minimum space required for rapid growth of lobsters of different life stages in individual rectangular compartments. Preliminary results (VAN OLST, 1975) indicate that growth and survivorship are reduced in small containers. Growth is affected by a reduction in the length and weight gains at each molt, and also by a lengthening of the intermolt period. Results after one year of culture suggest that for optimum growth the container length should be greater than the total body length of the lobster. It is possible that some reduction in growth rate may be tolerable if sufficient savings are realized in the costs of constructing the smaller facility which would be required if smaller culture containers were employed.

Care-O-cell system :

The care-O-cell (figure 2) consists of a matrix of perforated cages which rotate around a center axis and float at the surface of a larger circular tank similar to a sewage treatment primary clarifier. Each rearing compartment passes beneath radius arms suspended over the tank. The radius arms supply oxygenated water, and in a commercial system would be implemented with automatic food delivery hoppers and a walkway to allow human access for stocking, harvesting, and other maintenance operations.



**FIGURE 2 :** *Rotating care-o-cell lobster culture system. Several prototypes of this system have been constructed and perform satisfactorily.*

Several prototypes of this system have been constructed and function satisfactorily. These units incorporate a central standpipe which maintains water depth and also serves as the rotational axis for the floating rearing compartments. This matrix of compartments consists of cylindrical cells, the bottoms of which are covered with fiberglass screen. A radius

.../...



arm with water jets supplies seawater at an angle, and the resulting force causes the floating matrix to rotate.

Flushing tray system :

The development of the flushing tray system has been a joint effort between our research group and that of the St-Andrews Biological Station in New Brunswick, Canada. An artist's conceptual drawing of this system (figure 3) shows fiberglass trays positioned in cantilevered steel racking systems which are flushed periodically to remove wastes from lobster holding cells constructed of perforated plastic. Seawater for oxygenation is introduced continuously by a trough or pipe along one wall of the tray, flows through the perforated walls of each rearing container and exits through an overflow trough or collection pipe along the opposite wall. The short partitions, oriented 90° to the long perforated partitions, are made of solid, unperforated plastic. The bottoms of the rearing containers are covered with perforated screen and are elevated slightly off the bottom of the tray. Once per day, or more frequently if necessary, large valves are opened at the end of the flushing tray. Because the short, solid partitions act as dams to the longitudinal flow of seawater in the tray, all the water flow is forced down through the perforated bottom of each rearing container and then moves rapidly across the bottom of the tray. This rapid flow has a scouring effect on the bottom screening and on the bottom of the tray, so that the entire system is almost completely self-cleaning. The flushing action is extremely efficient in removing wastes, but infrequent manual cleaning also is necessary to remove attached algae and bacterial slime. Several adaptations of this system for implementation in commercial production are discussed by VAN OLST *et al.* (1977). These include the potential for vertical racking, airlift pumping, and automated systems for waste removal, stocking, harvesting, dispensing of feed, and for conducting other maintenance activities.

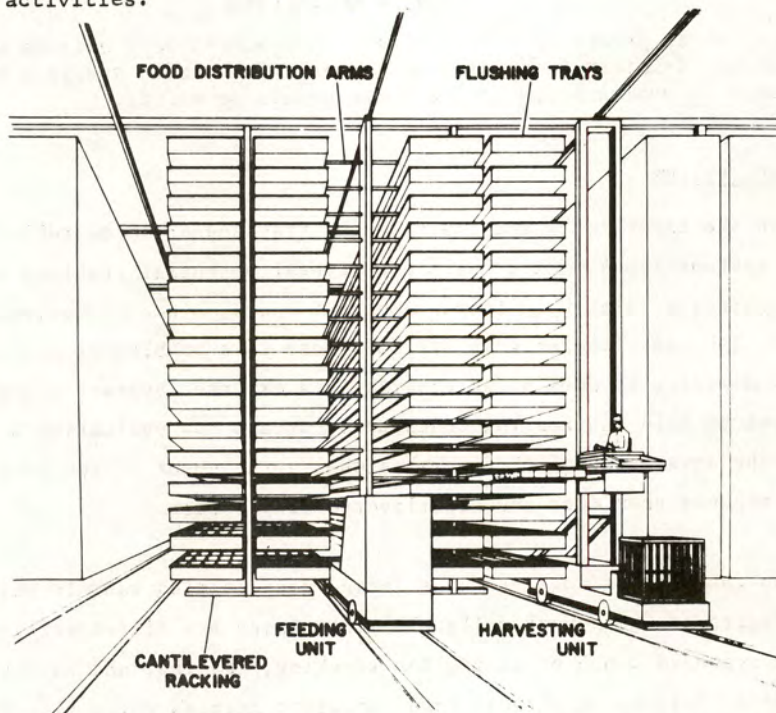


FIGURE 3 : Flushing tray lobster culture system. Two prototypes of this system have been constructed and perform satisfactorily.

.../...



Comparisons were made between growth rates of lobsters held in the care-o-cell, and in the flushing tray prototype. Growth also was measured for juvenile lobsters held in one liter solid bottom polyethylene culture containers commonly used in rearing experiments at several laboratories. Results are shown in figure 4. Regression analysis indicated no significant differences in growth rates ( $p > .05$ ).

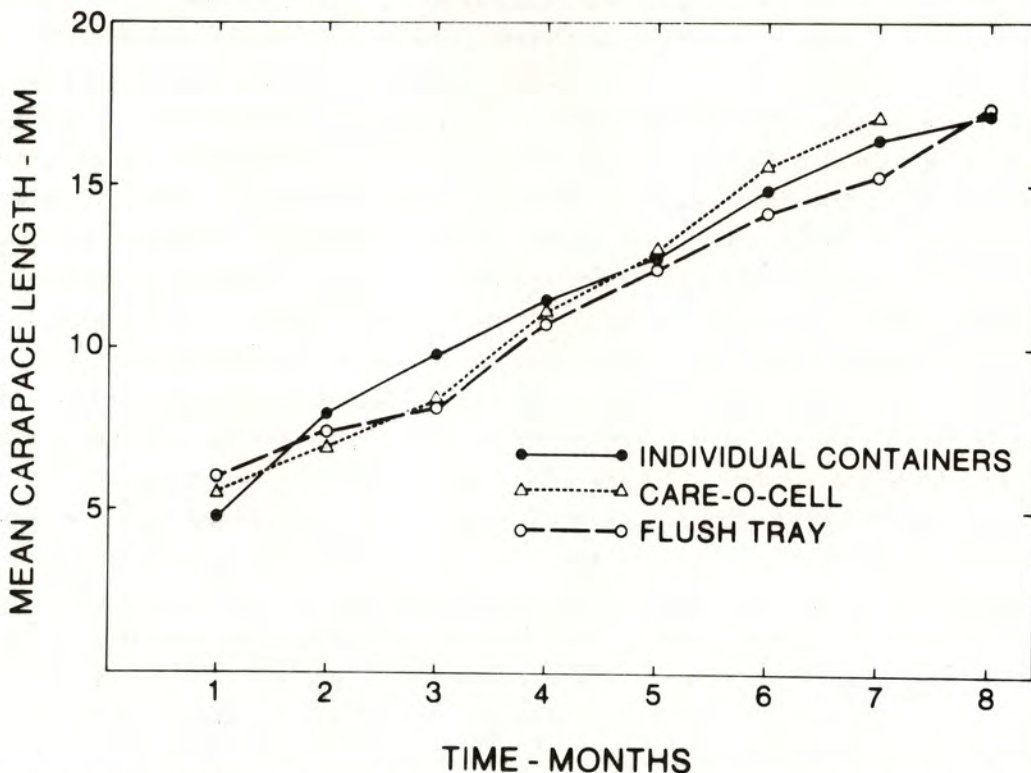


FIGURE 4 : Growth of three groups of lobsters held in a care-o-cell culture system, a flushing tray system, and in solid-bottom individual containers. Regression analysis indicated no significant differences in growth rates of the three groups ( $p > .05$ ).

Deep tank system :

Although the care-o-cell and the flushing tray appear to be reliable, semi-automated culture systems for *Homarus*, there are several potential problems with them. The care-o-cell requires a relatively large amount of space, since the animals are all distributed in one layer. The cantilevered tray system solves this problem by supporting the trays at several levels. However, it does so at considerable expense, because a separate tray is needed at each level to hold the rearing containers. We are now evaluating a deep tank system which may provide the advantages of three-dimensional arrangement of the rearing containers at considerably less expense than does the cantilevered tray system.

The deep tank system consists of a large, deep holding tank in which perforated rearing container units are hung vertically. The containers are lifted vertically out of the holding tank by an overhead winch or gantry for stocking, feeding, and harvesting (VAN OLST *et al.*, 1977). Food is introduced through food injection nozzles which slip through flexible rubber slits molded into the vertical face of each container. An artist's conception of a full-scale version of this system is shown in figure 5.

.../...



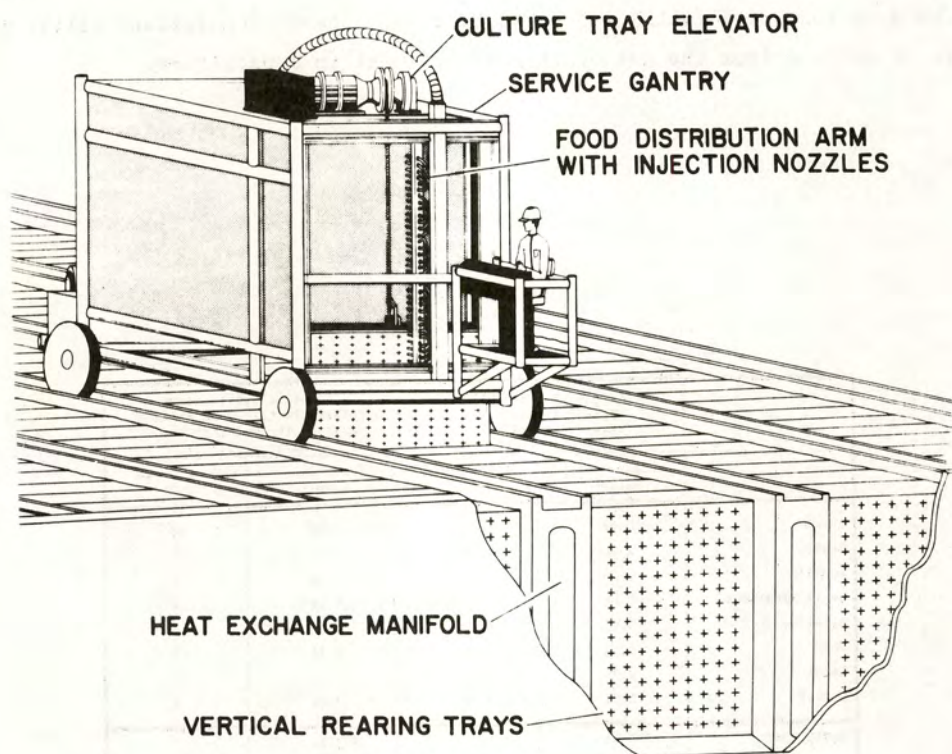


FIGURE 5 : Deep tank lobster culture system. Artist's conception indicates traveling gantry used for lifting, feeding, and harvesting vertically-oriented culture trays which would be suspended in long concrete raceways. A prototype of this system is currently being evaluated.

Growth and survivorship studies of lobsters held in a prototype deep tank system are currently in progress. If they prove successful, the deep tank system for individual culture of lobsters will be evaluated on a more detailed basis for its applicability to commercial-scale lobster farming. If preliminary estimates are accurate, extremely high holding densities appear feasible, perhaps as high as  $73 \text{ kg/m}^2$  of bottom area, in concrete raceways 3 m wide and 3 m deep. Further evaluation of these systems is necessary before larger than laboratory scale production should be attempted.

#### Economics.

We have designed and conducted our research program in close cooperation with the cost modeling group at University of California, Davis. The results of the confinement, ammonia tolerance and communal rearing experiments have been incorporated into a complex model which is used in predicting total production costs (BOTSFORD, 1977). In addition, progress has been made toward the development of a return-on-investment (ROI) analysis, which will be of more direct use to the emerging aquaculture industry. ROI computations are the standard methods which venture capitalists utilize to assess the economic feasibility of a new business.

More information has been obtained to indicate that the use of thermal effluent in aquaculture should result in significant production cost reductions. Table 1 illustrates the potential savings in production costs if thermal effluent were used as a cost-free source of

.../...



heat. In areas where ambient seawater temperatures are about 12° C, production costs might be decreased by more than 56 % (ALLEN and JOHNSON, 1976). These computations stress the potential benefits to be derived from the use of thermal effluent in aquaculture.

	Production Costs Using Ambient Temperature Seawater Heated from 12° C to 21° C		Production Costs Using Steam Electric Generating Station Thermal Effluent Seawater (21° C)	
	\$ per unit output	% of total cost	\$ per unit output	% of total cost
Space	0.68	13	0.68	30
Heat	2.90	56	0.00	0
Pumping	0.06	1	0.06	3
Waste treatment	0.08	2	0.08	4
Aeration	0.05	1	0.05	2
Food	0.96	19	0.96	43
Labor	0.37	7	0.37	16
Larval	0.04	1	0.04	2
<b>TOTAL COST :</b>	<b>\$ 5.14</b>		<b>\$ 2.24</b>	

ASSUMPTIONS :

Months to output.....	30.0
Plant output (thousand/month).....	80.0
Harvest Weight (grams/animal).....	502.6
Total capital (\$ 100,000).....	31.05
Culture capital.....	(25.22)
Waste treatment capital.....	( 5.83)
Tank are (1000 m <sup>2</sup> ).....	98.95
Water reuse (% recirculation).....	0.00
Intake flow (million liters/day).....	43.45
Land area for production facility (hectares)...	2.75
Conversion ratio.....	3.30

TABLE 1 : Estimated lobster production costs with and without the use of thermal effluent as a source of heat. (Data from W. JOHNSON, University of California, Davis).

Thermal effluent aquaculture.

Recycling of food processing and industrial wastes, including thermal effluent, in aquaculture was one of the key recommendations resulting from the United Nations/Food and Agriculture Organization Technical Conference on Aquaculture, held in Kyoto, Japan in May 1976. The use of thermal effluent from steam electric generating stations eliminates many of the site related problems which currently restrain the development of mariculture in developed countries located in temperature zones. Coastal generating stations often have unimproved land available and provide a source of warm seawater. However, success depends on exercising appropriate caution in selecting a site. Site selection should be based on water

.../...



quality, compatibility with scale and fouling prevention procedures, and on constant and sufficient temperature elevation (MUENCH, 1976). Thermal effluent aquaculture utilizes a waste energy resource, may partially compensate for any adverse ecological effects of thermal discharge, and contributes to economically viable production of foodstuffs. Several existing power plants have altered operations to accommodate aquaculture, and some new plants are incorporating aquaculture as an alternative component in cooling system design criteria.

#### BIBLIOGRAPHY.

- ALLEN, P.G. and W.E. JOHNSON, 1976. Research direction and economic feasibility : an example of systems analysis for lobster aquaculture. Aquaculture, 9 (2) : 155-180.
- BLACK, C.A. (ed.), 1973. Summary Report to Participants, NOAA Aquaculture Workshops, 1972. Publ. by Mardela Corp., Burlingame, California.
- BOTSFORD, L.W., H.E. RAUCH and R.A. SHLESER, 1974. Optimal temperature control of a lobster plant. Institute of Electrical and Electronic Engineers.
- BOTSFORD, L.W., 1977. Current economic status of lobster culture research. Proc. World Mariculture Soc. Eighth Ann. Meeting (in press).
- CARLBERG, J.M., 1975. Food preferences, feeding activity patterns, and potential competition of the American lobster, *Homarus americanus*, and ecologically similar crustaceans native of California. Master's Thesis, San Diego State University. 97 pp.
- CARLBERG, J.M. and J.C. VAN OLST, 1976. Brine shrimp (*Artemia salina*) consumption by the larval stages of the American lobster (*Homarus americanus*) in relation to food density and water temperature. Proc. World Mariculture Soc. Seventh Ann. Meeting., 379-389.
- CONKLIN, D.E., K. DEVERS and R.A. SHLESER, 1975. Initial development of artificial diets for the lobster, *Homarus americanus*. Proc. World Mariculture Soc. Sixth Ann. Meeting, 237-248.
- DELISTRATY, D.A., J.M. CARLBERG, J.C. VAN OLST and R.F. FORD, 1977. Ammonia toxicity in cultured larvae of the American lobster, *Homarus americanus*. Proc. World Mariculture Soc. Eighth Ann. Meeting (in press).
- DORBAND, W.R., J.C. VAN OLST, J.M. CARLBERG and R.F. FORD, 1976. Effects of chemicals in thermal effluent on *Homarus americanus* maintained in aquaculture systems. Proc. World Mariculture Soc. Seventh Ann. Meeting (in press).
- FISHER, W.S., E.H. NILSON and R.A. SHLESER, 1975. Diagnostic procedures for disease found in egg, larval, and juvenile cultured American lobsters. Proc. World Mariculture Soc. Sixth Ann. Meeting, 323-333.
- FORD, R.F., J.C. VAN OLST, J.M. CARLBERG, W.R. DORBAND and R.L. JOHNSON, 1975. Beneficial use of thermal effluent in lobster culture. Proc. World Mariculture Soc. Sixth Ann. Meeting, 509-515.

.../...



- HUGHES, J.T., J.J. SULLIVAN and R.A. SHLESER, 1972. Enhancement of lobster growth. Science, 177 : 1110-1111.
- HUGHES, J.T., R.A. SHLESER and G. TCHOBANOGLOUS, 1974. A rearing tank for lobster larvae and other aquatic species. Progressive Fish Culturist, 36 : 129-132.
- JOHNSTON, W., 1975. Economics of aquaculture. Univ. of Calif. Sea Grant College, Program Ann. Report. 1974-1975. pp. 45-47.
- KREKORIAN, C.O., D.C. SOMMERVILLE and R.F. FORD, 1974. Laboratory study of behavioral interactions between the American lobster, *Homarus americanus*, and the California spiny lobster, *Panulirus interruptus*, with comparative observations on the rock crab, *Cancer antennarius*. Fishery Bull., National Marine Fisheries Service, 72 : 1146-1159.
- LESTER, W.C., 1975. A comparison of social interactions between the American lobster, *Homarus americanus*, and ecologically similar crustaceans native to California. Master's Thesis, San Diego State University. 129 pp.
- MUENCH, K.A., 1976. The role of the electric utilities industry in developing the use of thermal effluent in aquaculture. Proc. World Mariculture Soc. Seventh Ann. Meeting (in press).
- SCHAPIRO, H.C. and J.F. STEENBERGEN, 1974. Active immunity to Gaffkemia in lobsters. Proc. World Mariculture Soc. Fifth Ann. Meeting. pp. 145-147.
- SCHAPIRO, H.C., J.H. MATHEWSON, J.F. STEENBERGEN, S. KELLOGG, C. INGRAM, G. NIERENGARTEN and H. RABIN, 1974. Gaffkemia in the California spiny lobster, *Panulirus interruptus* : infection and immunization. Aquaculture, 3 : 403-408.
- SCHUUR, A.M., W.S. FISHER, J.C. VAN OLST, J.M. CARLBERG, J.T. HUGHES, R.A. SHLESER and R.F. FORD, 1976. Hatchery methods for the production of juvenile lobsters (*Homarus americanus*). Univ. of Calif. Sea Grant College Program IMR Reference 76-6, Sea Grant Publ., N° 48, 21 p.
- SERFLING, S.A., J.C. VAN OLST and R.F. FORD, 1974 a. A recirculating culture system for larvae of the American lobster, *Homarus americanus*. Aquaculture, 3 : 303-309.
- SERFLING, S.A., J.C. VAN OLST and R.F. FORD, 1974 b. An automatic feeding device and the use of live and frozen *Artemia* for culturing larval stages of the American lobster, *Homarus americanus*. Aquaculture, 3 : 311-314.
- VAN OLST, J.C., 1975. Beneficial use of thermal effluent in aquaculture. Annual report to Southern California Edison Company. 279 p.
- VAN OLST, J.C., R.F. FORD, J.M. CARLBERG and W.R. DORBAND, 1976. Use of thermal effluent in culturing the American lobster. Power Plant Waste Heat Utilization in Aquaculture, Workshop 1. Publ. by PSE & G Co., Newark, NJ. pp. 71-100.
- VAN OLST, J.C., J.M. CARLBERG and R.F. FORD, 1975. Effects of substrate type and other factors on the growth, survival, and cannibalism of juvenile *Homarus americanus* in mass rearing systems. Proc. World Mariculture Soc. Sixth Ann. Meeting. pp. 261-274.



VAN OLST, J.C., J.M. CARLBERG and R.F. FORD, 1977. A description of intensive culture systems for the American lobster, *Homarus americanus*, and other cannibalistic crustaceans. Proc. World Mariculture Soc. Eighth Ann. Meeting (in press).

---

1/ Research at the Redondo Beach laboratory and some aspects of the research at the Scripps Institution laboratory were sponsored by the Research and Development Program of the Southern California Edison Company under contract U2585907. Additional support for the research at the Scripps laboratory and at the Encina laboratory was provided by the NOAA Office of Sea Grant, Department of Commerce, under grant NOAA O4-6-158-44021. The U.S. Government is authorized to produce and distribute reprints for governmental purposes, notwithstanding any copyright notation that may appear herein. Contribution N° 00 from the San Diego State University Center for Marine Studies.



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4 : 277-281.

PRODUCTION OF JUVENILE LOBSTERS (*HOMARUS AMERICANUS*)  
FOR NUTRITION RESEARCH.

by

J.D. CASTELL

Environment Canada, Fisheries and Marine Service, Halifax Laboratory, P.o. Box 429, Halifax,  
Nova Scotia, Canada B3J 2R3

ABSTRACT.

A simple static system for rearing lobsters (*Homarus americanus*) through their larval stage is described. The need for frequent daily feeding is overcome by supplying each tank of larvae with newly hatched brine shrimp (*Artemia salina*) nauplii each day. Survival of 50 percent of the larvae to the juvenile stage is routinely obtained with a minimum amount of labour. This system easily provides more than enough juvenile lobsters for use in nutrition trials. These juveniles appear healthier and exhibit greater survival beyond the fourth stage than those reared on frozen adult brine shrimp in a continuous flow system.

RESUME.

Un système statique simple pour l'élevage des stades larvaires du homard (*Homarus americanus*) est décrit. Le problème de la fréquence des repas dans la journée est résolu en fournissant aux bacs d'élevage des nauplius fraîchement éclos d'*Artemia salina*. Un taux de survie de 50 % jusqu'au stade juvénile est obtenu en routine, avec une quantité de travail minimale. Le système fournit largement les quantités de juvéniles nécessaires à des expériences de nutrition. Ces juvéniles sont plus robustes que des animaux élevés en eau circulante, avec des *Artemia* adultes congelées, et présentent une survie plus élevée après le 4ème stade.

.../...



## INTRODUCTION.

Several systems for hatching and rearing larval lobsters and other decapod crustaceans to the juvenile stage have appeared in the literature (HUGHES *et al.*, 1974 ; SCHUUR *et al.*, 1976). Most of the lobster larvae culture systems are based on the one developed by HUGHES *et al.* (1974) at the Massachusetts State Lobster Hatchery. The highest percent survival of larval lobsters in the "Hughes pots" was obtained when fresh, live, adult brine shrimp (*Artemia salina*) were fed (SERFLING *et al.*, 1974). Reasonable survival has been obtained when frozen adult brine shrimp were fed to the larvae. It was necessary to feed several times a day. If too much was put into the tank at one time, the frozen brine shrimp clogged the overflow screens. An automatic feeder has been developed that reduces the labor involved in multiple daily feedings (SERFLING *et al.*, 1974). We have had good success producing juvenile lobsters for use in nutrition studies using a much simpler system than those suggested in the literature. On the east coast of Canada, we do not have access to natural stocks of fresh adult brine shrimp. We use one feeding a day with newly hatched brine shrimp nauplii. With a minimum amount of labor we routinely obtain greater than 50 % survival of newly hatched larvae to healthy 4th stage juveniles. This report describes the techniques we use and factors which affect survival.

## MATERIALS AND METHODS.

### Gravid female lobsters.

Gravid female lobsters are obtained by local fishermen from the waters near Halifax, Nova Scotia, either in November shortly after the eggs have been extruded or in April when some embryonic development has taken place in the eggs. A small number of gravid females used, have resulted from matings in the laboratory.

These females are held in rectangular (76 x 56 x 30 cm) fiber glass aquaria supplied with about 1-2 litres/minute ambient temperature sea water (salinity about 32 ppt). Each aquarium is equipped with perforated dividers so that 6 lobsters can be held individually. During the holding period these lobsters are fed a combination of frozen squid, cooked lobster bodies from a lobster cannery, mussels, clams and other marine invertebrates as they become available.

### Larval hatching.

As reported by PERKINS (1972) we have been able to hatch larvae year round by controlling the temperature of the gravid female's environment. Hatching is accelerated by raising the sea water temperature to 20° C for a period of time dependent upon the stage of egg development (PERKINS, 1972). One to three weeks before the eggs are expected to hatch the female lobster is transferred to another fiber glass aquarium fitted with a larvae trap as shown in figure 1. This is based on the larvae trap used by HUGHES (1975) in the Massachusetts lobster hatchery. Hatching is completed over a period of 1 to 4 weeks varying with the individual female and initial number of eggs.

.../...



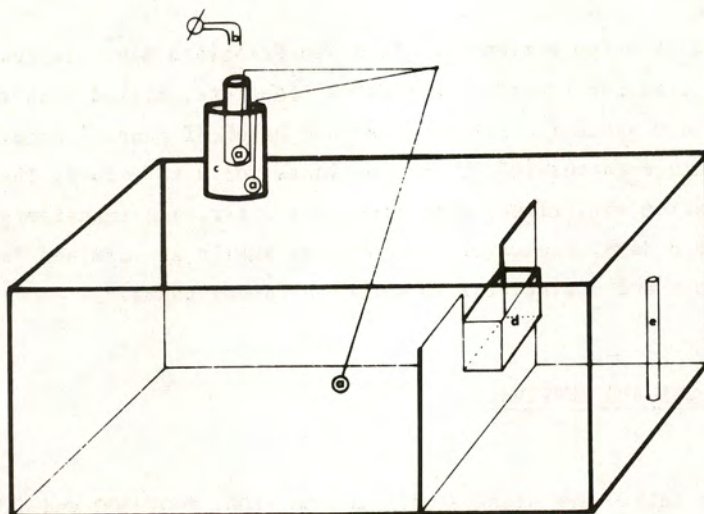


FIGURE 1 : Lobster hatching and larva trapping tank. a : air-stone ; b : seawater at 20° C ; c : degasser to prevent supersaturation ; d : larva trap ; e : drain pipe.

#### Larval rearing.

The hatch from each day are generally held together, but separate from other days hatches. The larvae are transferred from the trap (figure 1) to another fiber glass aquarium of the same dimensions as those used for holding the gravid females. The larval tank does not receive continuous flowing sea water. It is filled with 20° C sea water and equipped with an air stone to provide oxygen and agitation. Room temperature is maintained at about 20° C. The stocking density is generally 500-2,000 larvae in each 130 l aquarium. An abundant supply of newly hatched brine shrimp nauplii is added to each tank. It is not necessary to feed more than once a day as the nauplii remain alive and available. On the first day that larvae are added to the tank about 200 brine shrimp nauplii per litre of sea water are supplied ; that is about 20-80 nauplii per larva. On the following day there are still brine shrimp available as food for the lobster larvae. Fresh brine shrimp nauplii are added each morning so that there is always more chance of the larvae catching a nauplia than another larva.

The larvae in each tank are transferred carefully with a fine mesh aquarium net to a tank with fresh sea water and brine shrimp nauplii every 3-5 days so that fouling on the bottom and sides of the aquarium does not occur. The water from the old aquarium is drained and the sides and bottom are thoroughly cleared and disinfected with iodophor<sup>+</sup>. After rinsing, the tank is refilled so that it can be reused for a fresh batch of larvae.

.../...

---

<sup>+</sup> Iodophor compound manufactured by G.H. Wood Co. Ltd. Toronto, Ontario.



Brine shrimp hatching.

About 10 g of brine shrimp eggs from San Francisco Bay<sup>+</sup> are dumped into one of the same size aquaria as used for the adult and larval lobsters, filled with sea water (32 ppt) and equipped with an air stone for aeration. A good hatch of nauplii occurs after about 48 hours at room temperature (about 20° C) and continues for 4 to 6 days. The nauplii are caught with a fine mesh aquarium net, rinsed with fresh sea water, and transferred to the tanks with lobster larvae. After 8 days, the water and cast egg shells are drained from the tank. It is then thoroughly cleaned and disinfected as with the larvae tanks.

FACTORS AFFECTING GROWTH AND SURVIVAL.

Stocking density.

Triplicate tanks were stocked with 20, 50, 100, 200, 500 and 1,000 larvae to determine the optimal stocking density. All tanks were supplied with abundant fresh brine shrimp nauplii. The larvae were counted and transferred to a clean tank with fresh brine shrimp nauplii every 3 days. It was expected that greater losses would be experienced in the more heavily stocked tanks as a result of cannibalism. In fact, the survival to the 4th stage was greatest in tanks stocked with 500 and 1,000 larvae. The average percent survival was 10, 12, 26, 38, 52 and 53 for tanks stocked with 20, 50, 100, 200, 500 and 1,000 larvae respectively. In the case of the more heavily populated tanks mortalities were caused in most cases by cannibalism. In the tanks with fewer than 200 larvae, the animals seemed to die of loneliness.

Abundance of brine shrimp.

SCHUUR *et al.* (1976) have recommended 4 adult brine shrimp per larva. SERFLING *et al.* (1974) suggested 2 brine shrimp per larva. We have found with brine shrimp nauplii that 20-80 per larva ensures sufficient food available to reduce and almost prevent cannibalism. At this feeding level about 1/2 of the nauplii remain after 24 hours. It is thus necessary to feed only once a day or even every second day. If very great excesses of nauplii are added to the tank the metabolic wastes of the brine shrimp result in mortalities of the larvae.

Frequency of water change.

The rate at which the water becomes foul depends on the number and size of the larvae. An aquarium with 200-500 larvae need be changed only after about 5-6 days. If 2000 or more larvae are placed in one of the aquaria the water must be changed after 2 days. With that many 3rd stage larvae the tank must be cleaned and water changed almost every day. It is a simple matter to transfer larvae to a clean tank of water and wash the used tank with disinfectant.

.../...

---

<sup>+</sup> Longlife Brine Shrimp Eggs, Sterneo Industries, Inc. Harrison, J.J. 07029.



CONCLUSION.

Though we have not reported survivals as high as those quoted by users of the Hughes'pots, the uncirculated water system for rearing larval lobsters to the juvenile stage has had several advantages for our purposes. In each nutrition experiment we do not use more than 500 juvenile lobsters. From each female lobster we are able to produce many more than this. Thus 50 % survival is more than adequate. We still have many to give away.

We have found that survival beyond the 4th stage is much better for the animals fed live brine shrimp nauplii than those reared in Hughes'pots and fed frozen adult brine shrimp. Their coloration is better and they appear more active and slightly larger than those fed the frozen feed.

Very little labour is required with this system of larval rearing. About one hour each morning is all that is necessary.

BIBLIOGRAPHY.

- HUGHES, J.T., R.A. SHLESER and G. TCHOBANOGLIOUS, 1974. A rearing tank for lobster larvae and other aquatic species. Prog. Fish. Cult., 36 (3) : 129-133.
- HUGHES, J.T., 1975. "Lobster culture", In Culture of marine invertebrate animals. Ed. Smith, W.L. and M.H. Chanley. Conference, Greenport, N.Y. October 19, 1972. VII : 221-227. Plenum Press, N.Y., N.Y.
- PERKINS, H.C., 1972. Developmental rates at various temperatures of embryos of the northern lobster (*Homarus americanus* Milne-Edwards). Fish. Bull., 70 : 95-99.
- SERFLING, S.A., J.C. VAN OLST and R.F. FORD, 1974. A recirculating culture system for larvae of the American lobster, *Homarus americanus*. Aquaculture, 3 : 303-309.
- SERFLING, S.A., J.C. VAN OLST and R.F. FORD, 1974. An automatic feeding device and the use of live and frozen *Artemia* for culturing larval stages of the American lobster, *Homarus americanus*. Aquaculture, 3 : 311-314.
- SCHUUR, A., W.S. FISHER, J.C. VAN OLST, J. CARLBERG, J.T. HUGHES, R.A. SHLESER and R.F. FORD, 1976. Hatchery methods for the production of juvenile lobster (*Homarus americanus*). Sea Grant Publication 48, Institute of Marine Resources Reference 76-6.



3rd Meeting of the I.C.F.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4 (abstract only) : 283.

COMMUNAL REARING OF JUVENILE LOBSTERS (*HOMARUS AMERICANUS*)  
IN A CULTURE SYSTEM

by

D.E. AIKEN and S.L. WADDY

Fisheries and Marine Service, Biological Station, St. Andrews, N.B., Canada

ABSTRACT.

*Communal rearing is an alternative to individual rearing in the first 6-12 months of a lobster's life in a culture system, and higher losses due to cannibalism and injury may be offset by reductions in maintenance and labor. Two essentials for communal rearing are a self-cleaning tank and an effective rearing substrate. We examined a PVC tube matrix and the shells of three species of pelecypod molluscs for effectiveness as rearing substrates and found that shells of the oyster *Crassostrea* were most effective for the first 6 months of juvenile life. After the first 2 months the largest lobster is often three times the length of the smallest, and if the population is then sorted by size and restocked, each of these size groups subsequently displays this same growth differential, indicating that growth rate is strongly influenced by social pressures. This mechanism of sorting and restocking size may be used to produce greater numbers of large lobsters in the first 6-10 months of culture.*

RESUME.

*L'élevage communautaire peut remplacer l'élevage individuel pendant les premiers 6-12 mois de la vie d'un homard en unité de production, dans la mesure où il est possible de compenser les augmentations de pertes dues au cannibalisme et aux blessures par des réductions de l'entretien et du travail demandés. Deux conditions de bases pour un élevage communautaire sont un bac auto-nettoyant, et un substrat d'élevage convenable. Nous avons comparé l'efficacité, en tant que substrats, d'une structure en tubes de PVC et des coquilles de trois espèces de mollusques bivalves, et constaté que la coquille de l'huître *Crassostrea* est le support le plus efficace pendant les premiers 6 mois de la vie du juvénile. Au bout de 3 mois, le homard le plus grand est souvent trois fois plus long que le plus petit. Si la population est alors calibrée, et redistribuée, chacun des groupes de taille reproduit les mêmes différences de croissance, montrant que le taux de croissance est fortement influencé par des pressions sociales. Ce système de calibration et de redistribution en fonction de la taille peut être employé pour produire des nombres plus importants de homards de grande taille pendant les premiers 6-10 mois de l'élevage.*



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4 (abstract only) : 285.

CRUSTACEAN CULTURE AT THE BODEGA MARINE LABORATORY  
(*HOMARUS AMERICANUS*, *CANCER MAGISTER*)

by

Robert A. SHLESER, Ph.D.

Planning Coordinator

Aquaculture Planning Program, 2411 Dole Street, Honolulu, Hawaii 96822, U.S.A.

ABSTRACT.

*The paper reviews the knowledge presently available on lobster and crab culture, and describes the research currently undertaken in the Bodega Bay Marine Laboratory.*

*For lobster, several points are detailed : food, breeding, genetics, water quality, disease and reproduction. They lead to the conclusion that, if warm water at 21°C is abundantly available, it may be possible to produce market size lobster at a cost competitive with the current market prices.*

*The crab culture technique is based on the use of an upwelling column, providing a suitable environment for the larvae and preventing from epibiotic fouling, without any use of antibiotics. It looks like the experimental system in use could be scaled up to hatchery production level while maintaining reasonable material and labor costs.*

RESUME.

*La communication résume les connaissances actuelles sur l'élevage du homard et du crabe, et décrit les recherches en cours au "Bodega bay marine laboratory".*

*Chez le homard, plusieurs points sont détaillés : nourriture, génétique, qualité de l'eau, maladies et reproduction. Ils conduisent à conclure que, à condition de disposer de quantités importantes d'eau à 21°C, il doit être possible de produire des homards commercialisables à un prix concurrentiel avec les prix de marché actuels.*

*La technique d'élevage du crabe est basée sur l'utilisation d'une colonne montante, qui fournit aux larves un environnement convenable, les protège contre les salissures biologiques, et évite toute obligation d'employer des antibiotiques. Le système expérimental employé devrait pouvoir être étendu aux dimensions d'une éclosion de production avec des coûts d'investissement et de fonctionnement raisonnables.*



**GASTEROPODES**

*GASTROPODS*



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4 : 287-305.

L'ELEVAGE DE L'ORMEAU (*HALIOTIS TUBERCULATA* L.)

I. ACTION D'UN REGIME ALIMENTAIRE D'ALGUES PHYTOPLANCTONIQUES  
SUR LA CROISSANCE POST-LARVAIRE.

par

Jean-Pierre FLASSCH et Etienne WOITELLIER

Centre Océanologique de Bretagne, B.P. 337, 29273 Brest Cédex, France

ABSTRACT.

*This work tests the action of microalgae at different concentrations on the post-larval growth rate of the abalone Haliotis tuberculata from the creeping stage to 60 days, depending with different kinds of water during the breeding (running water, closed, system, still water). The growth's curves are ajusted with an exponential function.*

*These data were adapted to an experimental hatchery with a view to a big scale production.*

RESUME.

*Cette étude porte sur l'action du régime alimentaire d'algues unicellulaires sur la croissance post-larvaire de l'ormeau Haliotis tuberculata de la fixation jusqu'à 60 jours, en fonction de différents types d'élevage (circuit ouvert, circuit fermé, eau stagnante). Les courbes de croissance obtenues en fonction de ces différents paramètres sont ajustées à une fonction exponentielle  $L = a.e^{bt}$ .*

*Ces résultats ont été adaptés à une production à grande échelle dans le cadre d'une éclosion expérimentale.*

.../...



## INTRODUCTION.

Le but de cette étude est, en fonction des connaissances acquises sur les "abalones" dans le monde et en particulier au Japon, de déterminer l'influence et éventuellement l'interaction de régimes alimentaires variables en algues unicellulaires et de conditions d'élevage diverses sur la fixation et la croissance post-larvaire de l'ormeau européen *Haliotis tuberculata* jusqu'à la phase de changement de régime en algues macrophytes.

L'expérience est menée en volume expérimental (50 litres) suffisamment représentatif pour permettre l'extrapolation des résultats en volumes de production de masse.

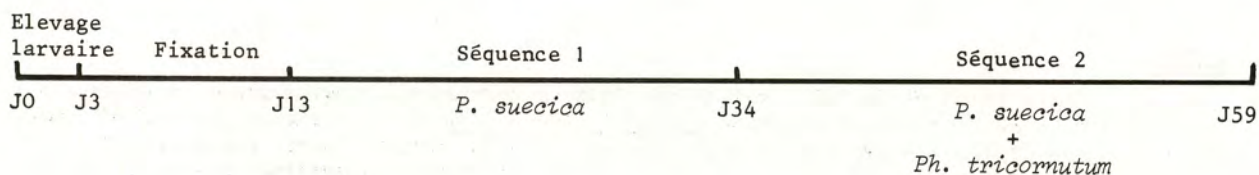
Les deux espèces d'algues unicellulaires utilisées, très communes sur la côte atlantique européenne, sont une Platymonadacée, *Platymonas suecica* Kylin (*Tetraselmis suecica* (Kylin) Butcher) (PARKE et DIXON, 1968) et la diatomée Phaeodactylacée, *Phaeodactylum tricor- nutum* souvent appelée *Nitzschia closterium* sous sa forme simple (SILVA, 1962).

## MATERIEL ET METHODE.

### Séquence d'expérience.

L'expérience s'échelonne sur une période de 46 jours. A son démarrage, les post-larves sont âgées de 13 jours (J13) en prenant J0 le jour de l'éclosion. Elle est découpée en deux séquences à peu près égales, en tenant compte du temps d'adaptation. La séquence 1 (J13 - J34) porte sur l'aspect quantitatif d'un type de nourriture unicellulaire en testant les différentes concentrations de *P. suecica* dans le but de déterminer la concentration type la plus satisfaisante en intégrant les différents paramètres étudiés (concentration, technologie d'élevage, temps). La séquence 2, J34 - J59 traite l'aspect qualitatif compte tenu du choix défini en séquence 1, en comparant à volume égal *P. suecica* et *Ph. tricor- nutum*.

Les périodes situées en amont correspondent de J0 - J3 à l'élevage larvaire et de J3 - J13 à la fixation.

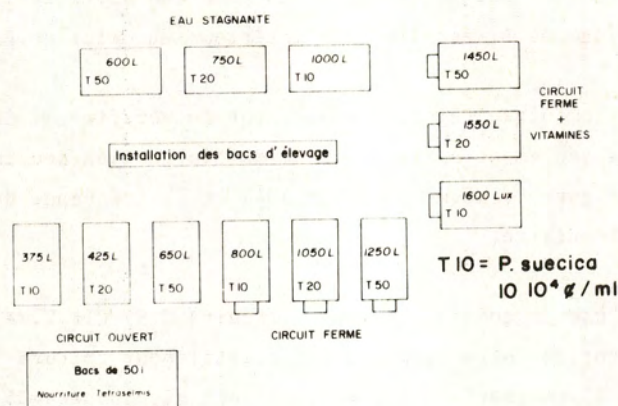


### Définition du schéma expérimental.

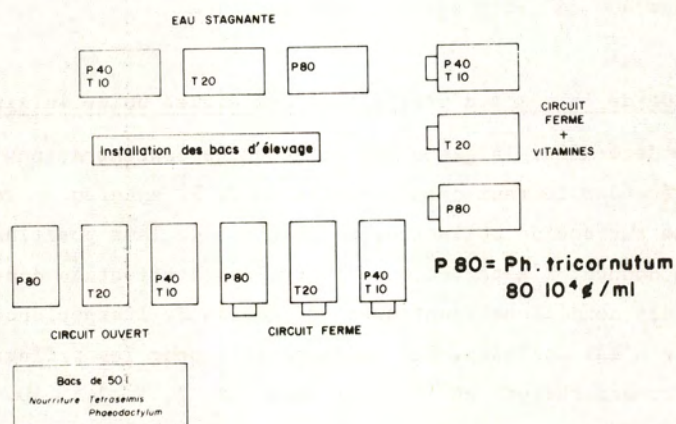
#### Technologie d'élevage :

L'expérience porte sur 12 bacs de 50 litres (0,4 x 0,58 x 0,24 m) en polyéthylène blanc, donc translucides.





Séquence J 13 - J 34



Séquence J 34 - J 59

FIGURE 1 : Plan d'expérience en fonction des séquences expérimentales.

L'eau de mer est filtrée à 1  $\mu$ , thermorégulée à 21° C. Trois types de circuits sont testés (figure 1, séquence J13 - J34) :

- 3 bacs en circuit ouvert (C.O) au débit de 20 l/h.

- 3 bacs en circuit fermé (C.F). Une pompe de 230 l/h aspire l'eau au tiers inférieur du bac. Le rejet se fait dans le fond du bac par un tube percé de trous de 1 mm. Le volume est aéré à un débit de 50 l/h par un tube polyvinyle disposé au centre du bac.

- 3 bacs en circuit fermé avec apport hebdomadaire de vitamines à la dose de 0,1 ml/l d'eau de mer. Le complexe vitaminique utilisé est de la "Polymicrine" dont la composition pour 100 cm<sup>3</sup> est la suivante :

V. A	6 000 000 U.I
D	600 000
F	600 mg
K	120 mg
B <sub>1</sub>	600 mg
B <sub>2</sub>	360 mg
B <sub>3</sub>	600 mg
B <sub>6</sub>	300 mg
B <sub>12</sub>	600 mg
pp	1800 mg
Méthionine	600 mg

.../...



Une ampoule de 3 cc est diluée dans 120 ml d'eau distillée. Par rapport au milieu de Conwy, l'apport en vitamine B<sub>1</sub> est dix fois inférieur et celui en B<sub>12</sub> 600 fois inférieur.

Cet apport vitaminique régulier a pour but de vérifier si dans le temps l'effet vitaminique agit non pas seulement sur le taux de multiplication peu important étant donné le faible éclaircissement (figure 1, séquence J13 - J34) et la fréquence de nettoyage, mais au niveau de la qualité alimentaire.

- 3 bacs en "eau stagnante" (A). Les circuits C.F, C.F.V, A, sont aérés de la même façon. Chaque bac contient 36 collecteurs en PVC cristal pour toiture "type greca" (FLASSCH et KOIKE, 1974) de 13 x 13 cm (surface 338 cm<sup>2</sup>, surface développée 405 cm<sup>2</sup>). Les collecteurs sont disposés en 3 rangées, suspendus à des crochets par des fils nylon, et disposés dans le sens de la longueur. Toutes les plaques n'étant pas rigoureusement identiques, il est préférable de se baser sur 400 cm<sup>2</sup>, soit par bac 1,44 m<sup>2</sup>.

Définition de la gamme d'utilisation des algues unicellulaires :

Avant de déterminer la gamme des différentes concentrations à utiliser, il s'agit tout d'abord d'appréhender le taux de sédimentation de *P. suecica* en fonction du matériel choisi, par unité de surface de collecteur en fonction de leur position et du temps à partir d'une concentration donnée. L'expérience de contrôle est effectuée dans des bacs de 50 l en circuit fermé dans des conditions identiques à celles de l'expérience. Aucune source de lumière artificielle n'est utilisée. Les temps choisis pour les prélèvements sont 3 h, 6 h, 12 h, 24 h, et les concentrations en 10<sup>4</sup>  $\phi$ /ml sont 0,1, 2, 5, 7,5, 10.

Aux différents temps de prélèvement 3 plaques sont sorties par bac (une dans chaque rangée occupant la même position). Le comptage des algues étant long, les plaques sont suspendues dans un bac d'attente vide.

Les algues sont décollées du collecteur à l'aide d'un pinceau et mises en suspension dans 25 ml d'eau de mer. Le comptage a lieu au microscope sur cuve de Malassez. (Tableau 1).

Les différences observées pour un temps donné sont parfois élevées. Les chiffres entre parenthèses au niveau du % correspondent au % de cellules fixées sur les 36 collecteurs.

Cette variabilité est due au fait que les plaques témoins passent durant le comptage un certain temps accrochées dans le bac vide d'attente (quelques heures à deux jours) et l'on constate des pertes d'algues pendant l'égouttage des plaques. De plus, les cellules se desséchant, deviennent difficiles à décoller au pinceau. Il faut aussi noter une fixation sur les parois des bacs blancs. A cette source d'erreur s'ajoutent encore une erreur de comptage et une erreur de faible échantillonnage (3 plaques sur 36 par prélèvement). Dans une expérience préliminaire, 8 plaques ont été prélevées dans un bac à concentration déterminée : pour une moyenne de 10<sup>6</sup> millions de cellules par collecteur, nous obtenons un intervalle de confiance à 95 % de la moyenne de 100 10<sup>6</sup> et 113 10<sup>6</sup> soit une erreur de 10 %.

.../...



Concentration	0,1 10 <sup>4</sup> $\phi$ /ml	2 10 <sup>4</sup> $\phi$ /ml	5 10 <sup>4</sup> $\phi$ /ml	7,5 10 <sup>4</sup> $\phi$ /ml	10 10 <sup>4</sup> $\phi$ /ml	
3 H	X 1	1.075.000	4.182.000	5.575.000	5.700.000	8.200.000
	X 2	575.000	3.575.000	3.975.000	5.475.000	6.750.000
	X 3	1.075.000	1.500.000	4.075.000	6.325.000	6.500.000
	$\bar{X}$	908.000	2.752.000	4.508.000	5.830.000	7.150.000
	$\Sigma$	1,82 (65)	0,27 (10)	0,18 (6)	0,15 (5)	0,14 (5)
6 H	X 1	1.065.000	5.232.000	8.500.000	5.325.000	11.900.000
	X 2	675.000	5.075.000	5.675.000	5.250.000	10.000.000
	X 3	1.350.000	5.325.000	6.750.000	4.250.000	12.500.000
	$\bar{X}$	1.030.000	5.210.000	6.975.000	4.940.000	11.470.000
	$\Sigma$	2,06 (72)	0,52 (19)	0,27 (10)	0,13 (4)	0,22 (8)
12 H	X 1	1.000.000	7.275.000	13.775.000	6.000.000	11.550.000
	X 2	750.000	5.075.000	9.425.000	8.425.000	20.000.000
	X 3	675.000	5.575.000	10.000.000	8.425.000	18.500.000
	$\bar{X}$	808.000	5.941.000	11.070.000	7.600.000	16.700.000
	$\Sigma$	1,62 (58)	0,59 (21)	0,44 (16)	0,20 (7)	0,33 (12)
24 H	X 1	432.500	9.300.000	12.375.000	16.000.000	25.075.000
	X 2	325.000	11.750.000	16.500.000	19.000.000	33.500.000
	X 3	575.000	7.500.000	19.500.000	19.500.000	29.500.000
	$\bar{X}$	444.000	6.183.000	16.125.000	18.100.000	29.350.000
	$\Sigma$	0,89 (32)	0,62 (22)	0,64 (23)	0,49 (17)	0,59 (21)

TABLEAU 1 : Colonisation sur supports par *Platymonas suecica* en fonction du temps et de sa concentration, en bacs de 50 litres.

Malgré cette variabilité, une analyse de variance à deux facteurs n'a fait que confirmer l'idée que la "fixation" de cellules était fonction du temps et de la concentration.

La représentation graphique de la moyenne (figure 2 A) illustre bien cette confirmation des résultats.

Pour une concentration de départ de 0,1 10<sup>4</sup>  $\phi$ /ml, la fixation maximale de cellules est après 6 h de 72 % pour la totalité du bac (figure 2 B). Avec une concentration de 2 10<sup>4</sup>  $\phi$ /ml au temps 0, la fixation maximale est pratiquement obtenue en 12 heures et correspond à 21 %.

C'est en fonction de ces résultats que, dans le cadre de l'expérience, le choix s'est localisé dans cette gamme plus une valeur supérieure, soit : 1 10<sup>4</sup>, 2 10<sup>4</sup>, 5 10<sup>4</sup>  $\phi$ /ml (figure 1, séquence J13 - J34). La première partie de l'expérience porte donc sur le test du circuit et de la concentration en *P. suecica*. En fonction des résultats obtenus en séquence 1, la deuxième partie teste la qualité alimentaire en comparant à volume égal *P. suecica* et *P. tricorutum*. 2 10<sup>4</sup>  $\phi$  de *P. suecica* correspondent en volume à 8 10<sup>4</sup>  $\phi$  de *P. tricorutum* (figure 1, séquence J34 - J59).

Les conditions de culture des algues utilisées sont les suivantes : culture en semi-continu en ballon de 20 litres (prélèvement quotidien de 1/4 du volume), eau filtrée à 0,45  $\mu$ , enrichie en sels à 1 ml/l et en vitamines à 0,1 ml/l (milieu de Conwy).

.../...



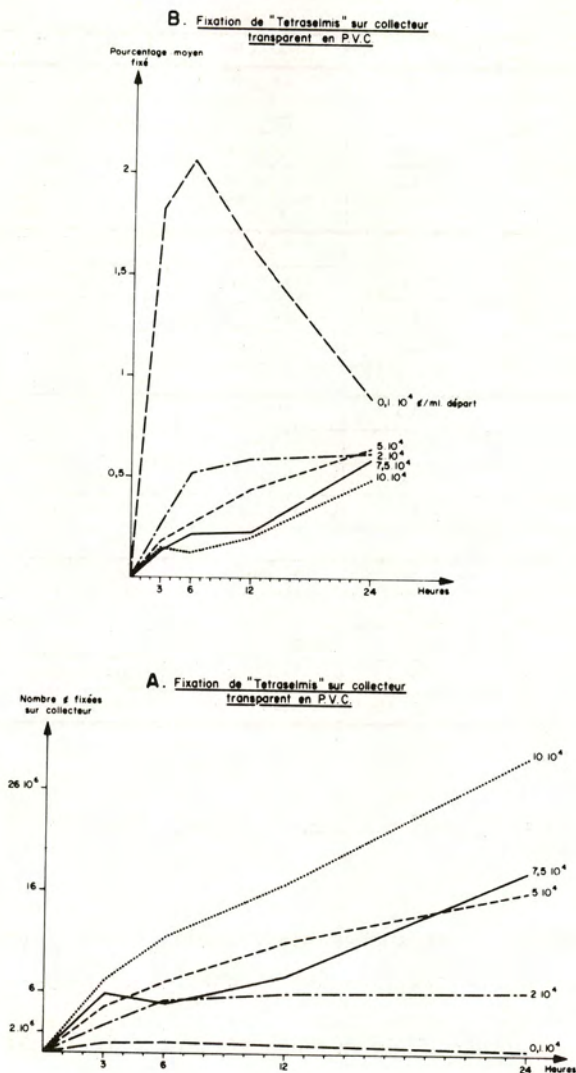


FIGURE 2 : Estimation du recouvrement de *P. suecica* (*Tetraselmis*) par collecteur de 400 cm<sup>2</sup>, en fonction de la concentration et du temps en 50 litres aéré comportant 36 collecteurs.

L'air est enrichi à 1 % de CO<sub>2</sub>. La concentration de production de *P. suecica* a varié entre 2 et 3 · 10<sup>6</sup>  $\phi$ /ml et celle de *P. tricorutum* de 12 à 20 · 10<sup>6</sup>  $\phi$ /ml.

#### Protocole expérimental.

##### Traitement larvaire :

La ponte et la fécondation (émissions naturelles des gamètes synchronisées) et l'élevage larvaire sont effectués en jarre de 20 litres (figure 3).

Un système à glissière étanche permet d'obtenir par changement de position soit une aération centrale soit une sortie d'échappement dans un but de vidange ou plus fréquemment couplé avec un concentrateur (L'HERROUX et coll., 1974), assurant concentration et nettoyage de l'élevage.

.../...



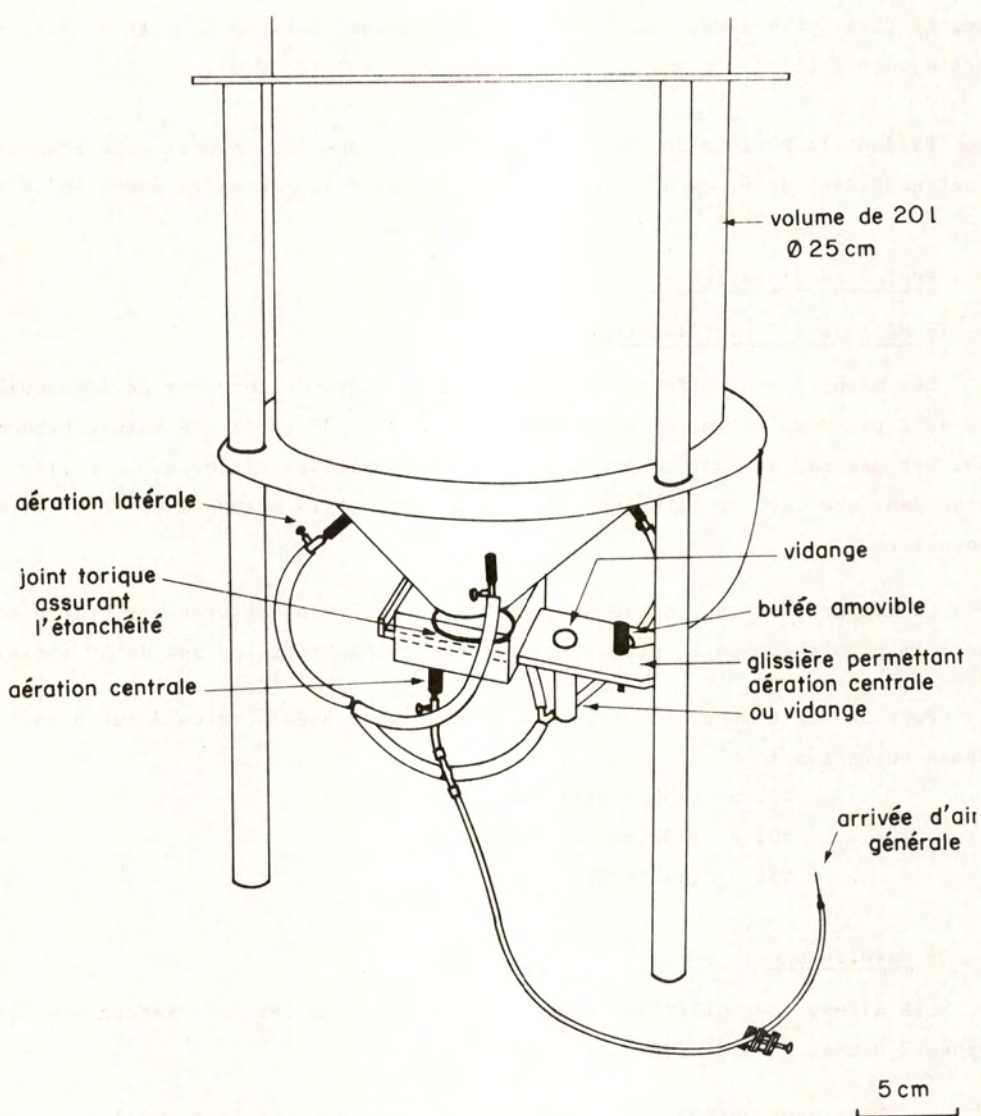


FIGURE 3 : Détail d'un incubateur de 20 litres.

Les larves sont issues d'une ponte de 1 800 000 oeufs fécondés à 82 %. De J0 à J3 les larves, après différents rinçages, sont conservées dans une jarre identique à la concentration de 1 500 000 larves/20 l.

Compte tenu de la forte concentration pour limiter une prolifération bactérienne des antibiotiques sont ajoutés aux concentrations de 3 g/100 l de pénicilline G et de 6,25 g/100 l de dihydrostreptomycine.

Au jour J3, les larves sont distribuées dans les bacs à la concentration de 360/l soit 18 000 par bac.

Traitement des collecteurs :

Les collecteurs vierges sont immergés dans un bac en eau stagnante dont la concentration en *P. suecica* est de  $5 \cdot 10^4$   $\varnothing$ /ml. Après 5 h, ils sont transférés dans les bacs

.../...



d'élevage. La fixation estimée est de  $6 \cdot 10^6$   $\phi$ /collecteur. Lors de la mise en place des collecteurs, est ajouté 1 litre d'algue à la concentration de  $1 \cdot 10^6$   $\phi$ /ml.

Pendant la période de fixation (J3 - J13), tous les volumes sont stagnants, aérés avec apport quotidien de *P. suecica* de façon à réajuster la concentration à  $10^4$   $\phi$ /ml.

Protocole d'élevage :

- Méthode d'échantillonnage :

Les mesures sont effectuées suivant la plus grande longueur de la coquille, à la fréquence de 2 par semaine (mardi et vendredi) de J13 à J39 et de une mesure hebdomadaire de J40 à J59. Les mesures se font toujours sur les mêmes plaques marquées. Le collecteur prélevé est immergé dans une cuve en altuglas (15 x 15 x 5 cm) et la mesure s'effectue au micromètre sous binoculaire.

La mensuration est longue et le nombre d'individus mesurés est restreint et reste inférieur à la population de la plaque. La taille de l'échantillon est de 30 individus.

Pour un tel nombre, l'intervalle de confiance à 95 % calculé sur 3 bacs est pour les moyennes suivantes :

481 $\mu$	(467 - 596)	soit 7 %
503 $\mu$	(492 - 526)	soit 7 %
554 $\mu$	(541 - 562)	soit 5 %

- Maintenance :

Les algues sont distribuées quotidiennement dans les deux séquences. Les circuits sont stoppés 3 heures afin de permettre leur fixation.

Les bacs sont nettoyés en grand une fois par semaine (mercredi) et les vitamines sont apportées dès la remise en eau.

Durant la période de fixation J3 - J13, la salinité est suivie et réajustée quotidiennement à 35‰. Par la suite, cela ne s'avère plus nécessaire puisque, entre deux nettoyages, les faibles variations de salinité restent dans la gamme de tolérance des juvéniles.

RESULTATS.

Estimation de la population fixée sur les collecteurs.

A J14, deuxième jour de l'expérience, l'estimation de la population fixée se fait à l'oeil nu à partir de 9 plaques, 3 par support, prélevées dans chaque bac (tableau 2), prélèvement correspondant au 1/4 des collecteurs. Cette méthode, du fait de la petite taille des points (500  $\mu$  environ), ne donne pas toutes les garanties de précision mais s'avère bien meilleure qu'un comptage à la loupe, étant donné l'aspect irrégulier des collecteurs.

.../...







Circuit	Concentration en <i>Tetraseimia</i>	Durée expérience (jours)	Température eau	Longueur initiale microns	Accroissement	Croissance en %	Croissance par mois en %
C.O.	10.10 <sup>3</sup> $\phi$ /ml	21	21°	482	787	163	217
	20	21	21°	535	943	176	234
	50	21	21°	557	880	158	210
C.F.	10	21	21°	534	1 061	198	263
	20	21	21°	521	1 047	200	266
	50	21	21°	543	824	152	202
C.F.V.	10	21	21°	554	914	165	213
	20	21	21°	539	909	168	223
	50	21	21°	515	751	146	194
A.	10	21	21°	525	865	165	219
	20	21	21°	507	723	142	189
	50	21	21°	484	574	112	149

TABLEAU 3 : Croissance en fonction de la concentration en *P. suecica* et du circuit.

La croissance en longueur en fonction du temps (figure 3) semble être la meilleure pour le circuit fermé ensemencé à 1 et 2 10<sup>4</sup>  $\phi$ /ml (C.F 10 et C.F 20) les tailles moyennes atteintes étant 1 061 et 1 047 microns en 21 jours, soit une croissance d'environ 200 %.

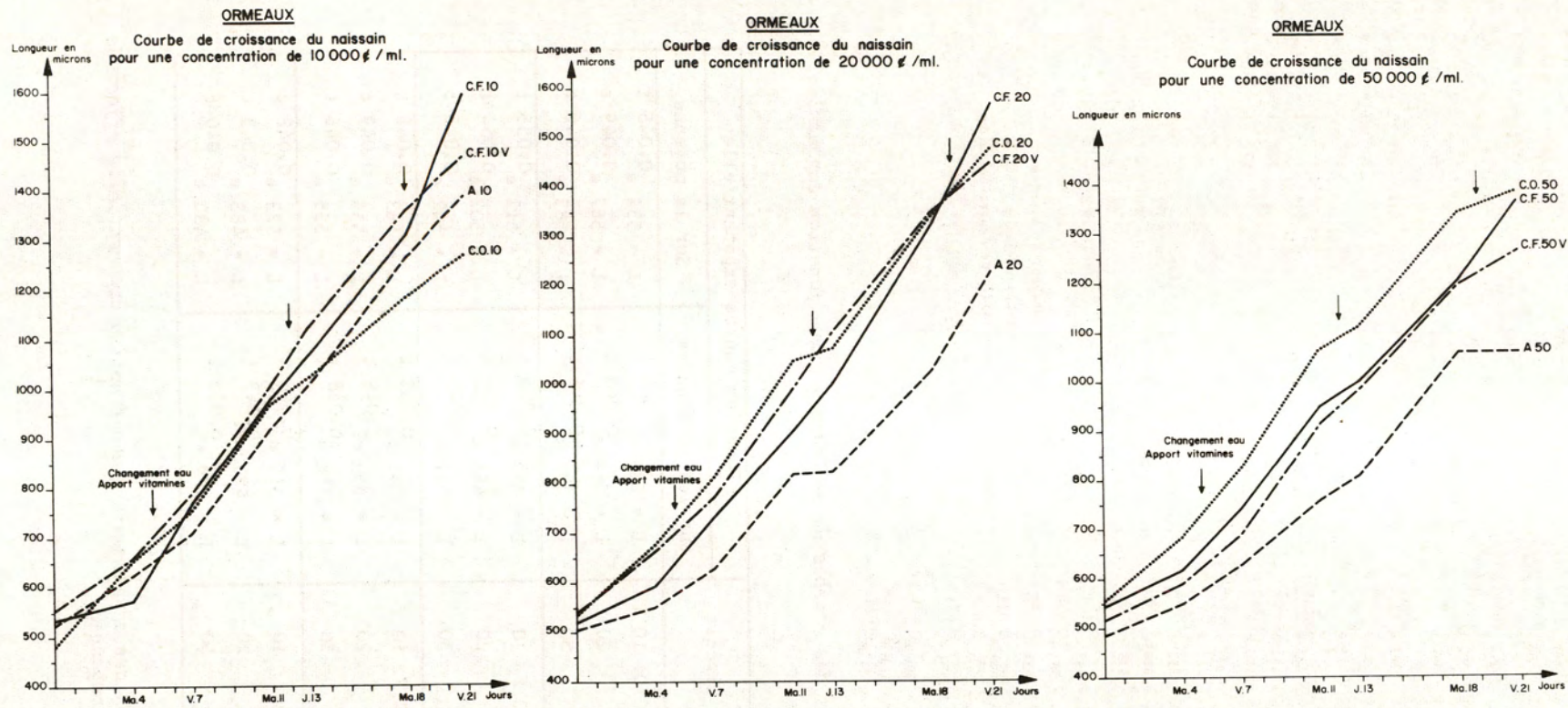
Compte tenu de l'âge très jeunes des animaux en expérience, l'ajustement des courbes de croissance sur les moyennes à une fonction exponentielle  $L = ae^{bt}$  (ou L est la longueur en microns, a la longueur de départ calculée au temps en jours  $t = 0$ ,  $b = \frac{dL}{Ldt} = c^{te}$ ) permet de confirmer cette hypothèse. Toutes les courbes sont assimilables à ce modèle.

Les coefficients de corrélation linéaire sur les longueurs transformées en logarithme, très proches de 1 (tableau 4, J13 - J34) indiquent un ajustement satisfaisant au modèle exponentiel.

Dans le cas de ce tableau, les calculs sont obtenus à partir des moyennes des échantillons car les données brutes manquent pour la séquence 2.

Toutefois une comparaison effectuée pour la séquence 1 entre les valeurs calculées à partir des données d'échantillonnage et les valeurs obtenues à partir de la moyenne de ces échantillons ne montre pas de différences notables (tableau 5).





**FIGURE 3** : Influence de la concentration en cellules apportées et du type d'élevage.



1 <sup>er</sup> REGIME SEQUENCL 1 J13 - J34	C.O.	T10	L = 534 e <sup>0.045 t</sup>	r = 0.954	2 <sup>eme</sup> REGIME SEUL SFOUFNCE 2 J13 - J59	C.O.	10	L = 1308 e <sup>0.025 t</sup>	r = 0.914
		20	L = 567 e <sup>0.049 t</sup>	r = 0.978			20	L = 1399 e <sup>0.031 t</sup>	r = 0.841
		50	L = 583 e <sup>0.046 t</sup>	r = 0.974			50	L = 1440 e <sup>0.030 t</sup>	r = 1.000
	C.F.	10	L = 512 e <sup>0.055 t</sup>	r = 0.984		C.F.	10	L = 1529 e <sup>0.014 t</sup>	r = 0.872
		20	L = 502 e <sup>0.054 t</sup>	r = 0.996			20	L = 1538 e <sup>0.025 t</sup>	r = 0.980
		50	L = 542 e <sup>0.045 t</sup>	r = 0.989			50	L = 1375 e <sup>0.029 t</sup>	r = 0.999
	C.F.	10V	L = 563 e <sup>0.049 t</sup>	r = 0.986		C.F.	10V	L = 1410 e <sup>0.019 t</sup>	r = 0.926
		20	L = 555 e <sup>0.049 t</sup>	r = 0.986			20	L = 1490 e <sup>0.030 t</sup>	r = 0.984
		50	L = 516 e <sup>0.046 t</sup>	r = 0.977			50	L = 1270 e <sup>0.029 t</sup>	r = 0.989
	C.A.	10	L = 523 e <sup>0.048 t</sup>	r = 0.994		C.A.	10	L = 1357 e <sup>0.026 t</sup>	r = 0.967
		20	L = 483 e <sup>0.043 t</sup>	r = 0.985			20	L = 1255 e <sup>0.030 t</sup>	r = 0.993
		50	L = 480 e <sup>0.040 t</sup>	r = 0.985			50	L = 1105 e <sup>0.029 t</sup>	r = 0.969
	1 <sup>er</sup> + 2 <sup>eme</sup> REGIMES SEQUENCES 1 et 2 J13 - J59	C.O.	10	L = 588 e <sup>0.035 t</sup>		r = 0.941	Pour le 2 <sup>eme</sup> régime : C.O. T10 = C.O. P80 T20 = T20 T50 = P40 T20 L = longueur en microns t = temps en jours a = taille de départ calculée b = $\frac{dL}{Ldt}$		
			20	L = 624 e <sup>0.037 t</sup>		r = 0.949			
			50	L = 633 e <sup>0.037 t</sup>		r = 0.969			
C.F.		10	L = 637 e <sup>0.031 t</sup>	r = 0.887					
		20	L = 583 e <sup>0.038 t</sup>	r = 0.963					
		50	L = 593 e <sup>0.036 t</sup>	r = 0.982					
C.F.		10V	L = 669 e <sup>0.029 t</sup>	r = 0.918					
		20	L = 618 e <sup>0.037 t</sup>	r = 0.975					
		50	L = 570 e <sup>0.035 t</sup>	r = 0.974					
C.A.		10	L = 591 e <sup>0.035 t</sup>	r = 0.967					
		20	L = 513 e <sup>0.037 t</sup>	r = 0.988					
		50	L = 512 e <sup>0.034 t</sup>	r = 0.984					

TABLEAU 4 : Ajustement des courbes de croissance à une fonction exponentielle  $L = ae^{bt}$

Circuit	Equation courbe exponentielle	
	Sur les 30 données	Sur la moyenne
C.O. 10 T	L = 534 e <sup>0.045 t</sup>	L = 534 e <sup>0.045 t</sup>
20	L = 564 e <sup>0.048 t</sup>	L = 567 e <sup>0.049 t</sup>
50	L = 584 e <sup>0.046 t</sup>	L = 583 e <sup>0.046 t</sup>
C.F. 10	L = 513 e <sup>0.055 t</sup>	L = 512 e <sup>0.055 t</sup>
20	L = 498 e <sup>0.054 t</sup>	L = 502 e <sup>0.054 t</sup>
50	L = 541 e <sup>0.045 t</sup>	L = 542 e <sup>0.045 t</sup>
C.F. 10 V	L = 555 e <sup>0.048 t</sup>	L = 563 e <sup>0.049 t</sup>
20	L = 550 e <sup>0.048 t</sup>	L = 555 e <sup>0.049 t</sup>
50	L = 516 e <sup>0.048 t</sup>	L = 555 e <sup>0.046 t</sup>
A 10	L = 518 e <sup>0.048 t</sup>	L = 523 e <sup>0.048 t</sup>
20	L = 493 e <sup>0.043 t</sup>	L = 483 e <sup>0.043 t</sup>
50	L = 476 e <sup>0.040 t</sup>	L = 480 e <sup>0.040 t</sup>

TABLEAU 5 : Comparaison des ajustements à une fonction exponentielle effectués à partir des données brutes et des moyennes.



En effet le coefficient b correspondant pour  $L = 100 \mu$  au pourcentage de la croissance quotidien est différent par exemple dans le pire des cas de  $0,2 \mu/100 \mu$  par jour pour C.F. 50 V (4,6 au lieu de 4,8 %) mais il n'y a pas de changement dans le classement effectué sur b.

Seules diffèrent un peu les tailles calculées au temps  $t = 0$  avec une erreur maximale de 2 %.

Ces variations étant négligeables, l'analyse des résultats portera sur le tableau 4.

Si l'on considère les courbes dans leur totalité, l'influence bénéfique d'un même circuit diffère en fonction du régime alimentaire.

Pour les faibles concentrations de *P. suecica* (T 10) le circuit ouvert donne de moins bons résultats du fait d'une perte de nourriture. Le système A en eau stagnante n'est pas le meilleur mais donne un résultat satisfaisant avec un taux de croissance de  $4,8 \mu \%$  pour un coefficient de corrélation de 0,994. Dans le cadre du circuit fermé, l'apport en vitamines n'a pas d'effet bénéfique avec un coefficient de  $4,9 \%$  pour  $5,5 \%$  sans apport vitaminique.

Aux concentrations moyennes (T 20) le classement est légèrement modifié, le circuit ouvert plus chargé en cellules donne d'aussi bons résultats que le circuit fermé vitaminé. Par contre le volume stagnant pas assez homogénéisé passe en dernière position, le circuit fermé simple restant le plus favorable avec un taux de croissance à peu près identique à celui observé pour le même circuit à T 10, soit  $5,4 \%$  (corrélation 0,996).

Pour les concentrations les plus élevées, il apparaît dans tous les cas que la surcharge de nourriture n'améliore pas le rendement de croissance, les trois circuits, C.O 50, C.F 50 et C.F. 50 V, n'étant pas statistiquement différenciables. Par contre, le volume stagnant se différencie nettement avec le moins bon taux de croissance à  $4 \%$  pour un coefficient de corrélation de 0,969.

Il ressort de cette analyse que les concentrations T 10 et T 20 donnent les meilleurs résultats dans le cas des circuits fermés. La concentration à T 10 est aussi intéressante en volume stagnant avec renouvellement une fois par semaine.

L'apport en vitamines ne semble pas influencer positivement la croissance et même donne des résultats inférieurs par rapport au circuit fermé sans vitamines (tableau 4).

Cela signifie que pour une extrapolation des résultats, en volume de production, pendant les 20 premiers jours post-larvaires, il vaut mieux travailler à des concentrations relativement faibles avec une homogénéisation importante.

Compte tenu de tous ces résultats globaux, pour la suite de l'expérience, croissance en fonction de la qualité alimentaire, la quantité témoin retenue est  $2 \cdot 10^4$   $\phi/ml$  de *P. suecica*.

.../...



Avant d'aborder la 2ème séquence le rinçage est très poussé au niveau des plaques de façon à éliminer au maximum les sequelles de l'expérience précédente sans pour autant décoller les juvéniles de leur support.

Croissance en fonction de la qualité alimentaire (séquence 2, J34 - J59)

(figure 4) :

*Ph. tricornutum* est une algue facile à produire et généralement considérée à juste titre comme une diatomée de qualité médiocre. Ce test est pratiqué afin de vérifier dans quelle mesure la vitesse de croissance d'un brouteur dans sa phase exponentielle est influencée par un tel régime.

*Ph. tricornutum* environ 4 fois plus petite en volume que *P. suecica*, la dose correspondante choisie est de  $8 \cdot 10^4$   $\phi$ /ml (P 80). Le test est effectué sur les mêmes types d'élevage (figure 1, séquence J34 - J59). Les premières mesures sont faites après une semaine d'adaptation au rythme d'une seule série hebdomadaire afin de limiter au maximum les manipulations, la taille des juvéniles augmentant (tableau 6).

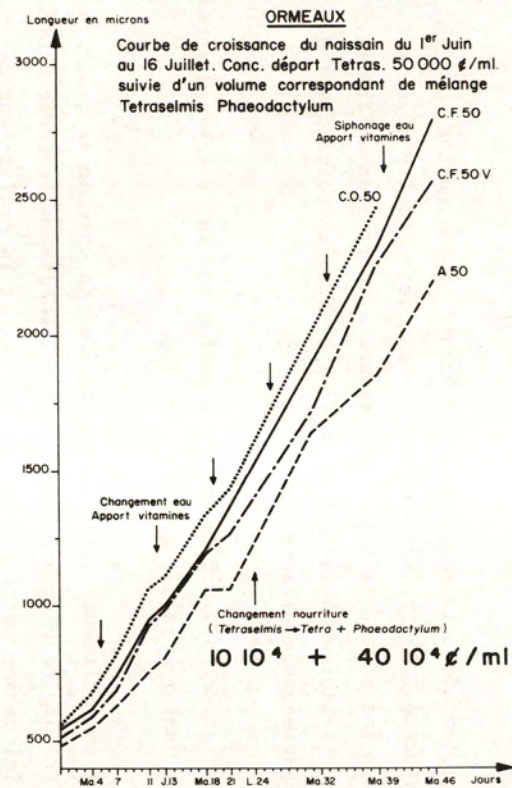
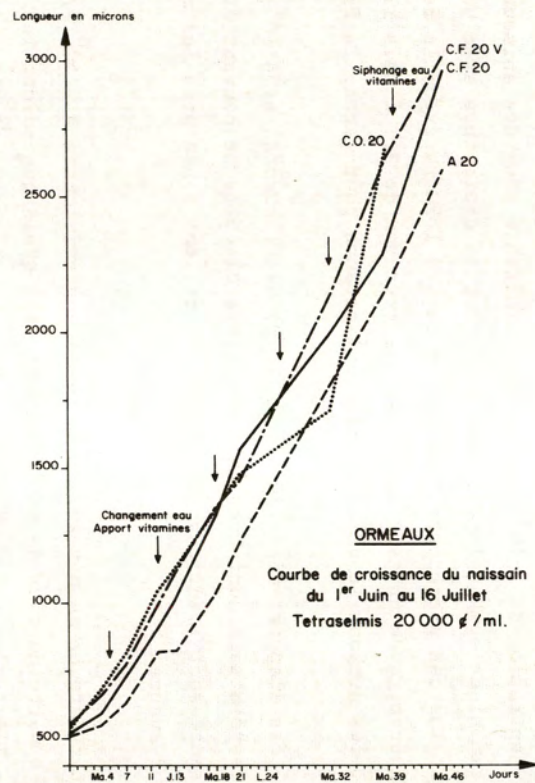
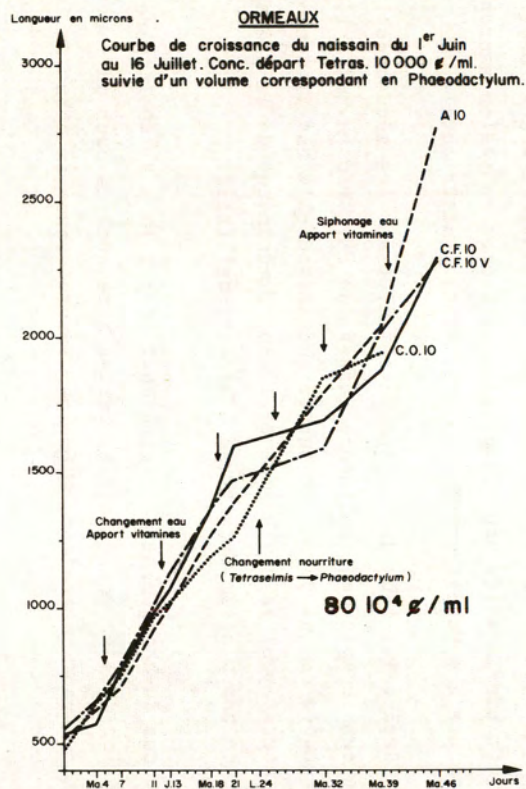
Circuit	Algues	Température eau	Longueur initiale microns	Durée expérience (jours)	Accroissement	Croissance en %	Croissance % par mois
C.O.	P 80	21°	1 269	18	675	53	88
	T 20	21°	1 478	18	1 194	81	135
	P 40	21°	1 437	18	1 030	71	118
	T 10						
C.F.	P 80	21°	1 595	25	699	44	53
	T 20	21°	1 568	25	1 398	89	107
	P 40	21°	1 367	25	1 427	104	125
	T 10						
C.F.V.	P 80	21°	1 468	25	826	57	68
	T 20	21°	1 448	25	1 566	108	129
	P 40	21°	1 266	25	1 306	103	123
	T 10						
A.	P 80	21°	1 390	25	1 379	99	119
	T 20	21°	1 230	25	1 368	111	133
	P 40	21°	1 058	25	1 141	108	129
	T 10						

TABLEAU 6 : Croissance comparée avec *P. suecica* et *Ph. tricornutum*.

Dans le cas du circuit ouvert, les mesures ne peuvent être effectuées la dernière semaine car les collecteurs devenant de moins en moins peuplés en algues, les ormeaux se détachent et gagnent le fond des bacs.

.../...





**FIGURE 4** : Influence de la ration alimentaire avec changement de régime dans la période J13 - J59.



La figure 4 illustre l'action du régime alimentaire durant la séquence 2 mais aussi l'influence de ce régime sur les régimes précédents.

Si l'on considère la séquence 2 isolément, le régime à  $8 \cdot 10^4$   $\phi$ /ml de *Ph. tricorutum* freine très nettement la croissance dans les cas des circuits (C.O et C.F) mais par contre pour le volume le moins brassé (A 10) la croissance s'avère bien meilleure. Cette observation est confirmée dans le tableau 4 (séquence J34 - J59) avec un coefficient de croissance  $b = 0,026$  bien supérieur aux valeurs des C.F.

Donc cet aspect positif de *Ph. tricorutum* sur la croissance après un régime T 10 est à retenir dans le cas des volumes stagnants.

Le taux de croissance obtenu avec les témoinsensemencés quotidiennement à T 20 a tendance à décroître par rapport à l'expérience précédente, mais reste élevé, toutefois l'effet circuit diminue sur cette portion de courbe, et le coefficient de croissance du circuit fermé T 20 prend une valeur inférieure à celui de C.F 20 V. Cela peut s'expliquer du fait que la concentration de  $2 \cdot 10^4$   $\phi$ /ml devient limitante pour des animaux entre 1,5 et 3 mm. L'apport vitaminique semble logiquement améliorer la croissance avec un taux de 3 % au lieu de 2,5 pour les cas précédents. Par contre le C.O T 20 rattrape le retard pris au début de cette séquence, avec un taux de croissance très bon de 3,1 % mais il manque les dernières mesures, les ormeaux se détachant des collecteurs pour gagner le fond.

Dans le cas d'apport mixte  $10^4$   $\phi$ /ml (T 10) de *P. suecica* et  $4 \cdot 10^4$   $\phi$ /ml (P 40) de *Ph. tricorutum* les résultats sont bons mais les trois circuits ne peuvent être différenciés, les taux de croissance sont identiques et les écarts restent à peu près les mêmes, les C.F et C.O conservent leur avance.

On peut remarquer au niveau des élevages approvisionnés à  $2 \cdot 10^4$   $\phi$ /ml de *P. suecica* une diminution très nette du taux de croissance et ceci quels que soient les circuits. Les tailles atteignent 2,5 à 3 mm ; la phase critique où les jeunes passent au régime macrophyte se trouve très proche. Dans ce cas l'ajustement de la croissance à une fonction exponentielle est le cas limite, et par la suite pour la portion de courbe en régime macrophyte, l'ajustement à une fonction  $L = a + bt$  est préférable (Publication ultérieure).

En considérant les taux de croissance calculés sur les séquences 1 et 2 (J13 - J59), on se rend compte de l'influence néfaste de *Ph. tricorutum* à l'exception du circuit en eau stagnante ce qui permet de penser que lorsqu'elle est disponible, cette algue présente quelque intérêt pour la croissance et l'aspect mécanique de la présentation des particules et dans ce cas plus important que l'aspect qualitatif.

Dans le cas du changement de régime de T 50 à T 10 + P 40 (figure 4), on s'aperçoit que la diminution de l'apport en algues vertes a redonné un coup de fouet aux élevages, l'excès de nourriture ayant eu tendance à freiner la croissance au début de la phase post-larvaire.

.../...



Essais de comparaison avec les données bibliographiques.

En dehors du Japon, rien n'a été fait jusqu'à présent sur la croissance post-larvaire des abalones mais il est très difficile d'effectuer une synthèse précise des travaux japonais pour les 60 premiers jours à partir d'algues produites artificiellement. Les périodes étudiées sont en général très courtes et sont effectuées sur des animaux dépassant les 2 mm (SHIBUI, 1972). L'auteur déplore le fait qu'au-dessous des 3 mm aucune étude détaillée n'existe dans la littérature. Toutefois des rapports abordent l'aspect qualitatif des algues apportées, mais les relations types de nourriture et croissance des post-larves ne sont pas traitées (tableau 7, d'après SHIBUI, 1972).

ESPECES	TYPE DE NOURRITURE	CARACTERISTIQUES				AUTEURS
		I	II	III	IV	
<i>H. discus hannai</i>	<i>Amphora</i> sp	0	0	∇	X	HIROSE (1964)
<i>H. discus hannai</i>	<i>Cocconeis</i> sp	0	0	X	X	KIKUCHI (1964)
<i>H. discus hannai</i>	<i>Melosira</i> sp	0	∇X	X	X	SAKAI (1962) etc...
<i>H. discus hannai</i>	<i>Navicula</i> sp	0	OVX	OVX	X	INO (1952)
<i>H. discus</i>						SAKAI (1962)
<i>H. sieboldii</i>						KIKUCHI (1963, 1964)
<i>H. gigantea</i>						SAGARA (1963) SHIBUI (1971 a et b)
<i>H. discus hannai</i>	<i>Nitzschia laevis</i>	0	0	0	0	SHIBUI (1971 a et b)
<i>H. rufescens</i>						
<i>H. discus</i>	<i>Chaetoceros calcitrans</i>	X	0	0	0	UMEBAYASHI (1961) OHBA (1963) SAGARA (1963) UNO (1964)
<i>H. sieboldii</i>						
<i>H. discus</i>	<i>Ciclotella nana</i>	X	0	0	0	UNO (1967) etc...
<i>H. sieboldii</i>						
<i>H. tuberculata</i>	<i>Nitzschia closterium</i> ( <i>Ph. tricorutum</i> )	X	0	0	0	CROFTS(1937) FLASSCH et coll. (1977)
		X	OX	0	0	
<i>H. discus hannai</i>	<i>Tetraselmis maculata</i>	OV	0	OV	0	SHIRAISHI (1964) IMAI (1967)
<i>H. discus</i>	<i>Chlorodendron</i>	0	∇X	0	0	OHBA (1972)
<i>H. discus</i>	Gametophytes of <i>Eisenia</i> etc...	0	0	X	X	UNO (1967)
<i>H. sieboldii</i>						
<i>H. tuberculata</i>	<i>Platymonas suecica</i> ( <i>Tetraselmis</i> )	OV	0	0	0	FLASSCH et coll. (1974) FLASSCH et coll. (1977)

- I Algue adhésive (0) ou non (X)
- II Taille acceptable (0) ou non (X)
- III Facile (0) ou non (X) en culture artificielle
- IV Isolée (0) ou non (X)
- ∇ Dégradation possible.

TABLEAU 7 : Inventaire des algues unicellulaires et leurs aptitudes pour l'élevage post-larvaire de jeunes ormeaux.



La seule expérience comparable, citée par SHIBUI, effectuée au laboratoire de Mohne situé dans la région de Kesenuma, porte sur 7 jours sur un nombre réduit de juvéniles (15 et 20) d'une taille départ moyenne de 2,31 à 3,20 mm. La température d'expérience est 18-20° (tableau 8).

<u>Espèces</u>	<u>C/ml</u>	<u>Croissance journalière en microns</u>
<i>Platymonas maculata</i>	25	37
( <i>Tetraselmis</i> )	50	42
(10 - 18 $\mu$ )		
<i>Platymonas suecica</i>	2	96 (C.F 20)
(8 - 12 $\mu$ )		52 (C.F 20 V)
		65 (A 20)

TABLEAU 8 : Comparaison des croissances journalières sur 7 jours d'expérience.

Les croissances sont supérieures avec *P. suecica* mais la conclusion sur la comparaison de résultats obtenus sur une si courte période n'est pas probante d'autant plus que, dans le cas de l'expérience citée par SHIBUI, ne sont pas consignées les conditions expérimentales (circuits utilisés, volumes).

#### CONCLUSION.

Il ressort de cette étude que pour une même technologie de base et des apports de nourriture identiques, le mode d'élevage influe directement sur la croissance post-larvaire et inversement que pour un type d'élevage donné des concentrations variables d'algues aboutissent à des résultats différents en fonction de l'âge des individus.

Ce travail a été effectué dans le but d'une utilisation ultérieure en vue d'une production de masse de juvéniles d'*Haliotis tuberculata* dans le contexte géographique d'un climat océanique tempéré.

Il est évident que dans le cadre d'un élevage intensif, compte tenu des contraintes de maintenance, il ne serait guère prudent de faire une extrapolation directe de ces résultats. En ce qui concerne l'élevage de l'ormeau, de la fixation jusqu'à 60 jours, le piège à éviter est la sursaturation en nourriture dont la qualité diminue avec le temps, ce qui a un effet néfaste au moment où les juvéniles atteignent 2 mm et inversement une pénurie de nourriture entre 1,5 et 2 mm.

Pour cela les doses de *P. suecica* distribuées dans les bacs d'élevage intensif de 300 litres, au moment de la phase larvaire, ont été encore diminuées à  $5 \cdot 10^3$   $\phi$ /ml mais additionnées de  $30 \cdot 10^3$   $\phi$ /ml de *Monochrysis lutheri* avec apport de sels sans traitement préalable des collecteurs. Un éclairage continu permet d'assurer une colonisation progressive de l'algue flagellée. Lorsque les post-larves sont âgées de 10 jours, la dose est augmentée à

.../...



$2 \cdot 10^4$   $\varnothing$ /ml et répétée périodiquement de façon à ce qu'un équilibre soit maintenu entre la population fixée et le potentiel de nourriture disponible.

Cette méthode a permis, dans un cadre expérimental d'élevage en masse, d'obtenir des pourcentages de survie de 5 à 18 % à 7 mois, lors du passage en bacs de grossissement soit dans ce dernier cas des concentrations de 10 000 juvéniles/m<sup>2</sup> à 9,5 mm de moyenne.

#### BIBLIOGRAPHIE.

- CROFTS, D.R., 1938. V. The development of *Haliotis tuberculata*, with special reference to organogenesis during torsion. Phil. Trans. R. Soc., Ser. B, 228 (552) : 219-268.
- FLASSCH, J.P. et Y. KOIKE, 1974. Reproduction artificielle de l'ormeau *Haliotis tuberculata* L. : premiers résultats. Colloque sur l'Aquaculture. Actes de colloques, 1, CNEXO Ed. : 61-67.
- L'HERROUX, M., J.P. FLASSCH et M. GIRIN, 1974. Dispositif pour concentrer et transporter les oeufs, larves et herbivores d'aquaculture. Colloque sur l'aquaculture. Actes de colloques, 1, CNEXO Ed. : 69-76.
- PARKE, M. and P.S. DIXON, 1968. Check-list of British marine algae. Second revision. J. Mar. Biol. Ass. U.K., 48 : 783-832.
- SHIBUI, T., 1972. On the normal development of the eggs of Japanese abalone, *Haliotis discus hannai* Ino, and ecological and physiological studies of its larvae and young. Bull. Iwate Pref. Fish. Exp. Stat., (2) : 1-69.
- SILVA, P.C., 1962. Classification of algae. Physiology and Biochemistry of Algae (LEWIN Ed.) Acad. Press. : 827-837.



**BIVALVES**

*BIVALVES*



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4 : 307-315.

## LA PRODUCTION DE JUVENILES DE COQUILLE SAINT-JACQUES (*PECTEN MAXIMUS* (L.))

par

Dominique BUESTEL, Pierre ARZEL, Paulette CORNILLET et Jean-Claude DAO  
Centre Océanologique de Bretagne, B.P. 337, 29273 Brest Cédex, France.

### ABSTRACT.

*It is attempted to produce large quantities of 25 mm scallop juveniles suitable for restocking the beds.*

*A first breeding experiment in laboratory gave a very low survival rate : about 1% from the D larvae stage to reach the size of 1 mm. The growth after metamorphosis is very irregular and slow, compared to the datas obtained in natural environment.*

*An experimental programme of spat collection in natural environment, completed by hanging culture has been conducted. An average number of 300 spats (size 15 mm) per collector has been obtained in 1976. Hanging culture allows to reach the size of 25 mm three months after settlement with a very good survival rate.*

*The yield of a large number of spat from collectors seems to demonstrate that there is a future for this technique in areas of high concentrations of adult scallops.*

*However for the depleted beds, hatchery raised spat might be used for redevelopment. But hatchery experiments at a bigger scale are needed to check the possibility of mass production of small spats which could be subsequently raised by hanging culture in natural environment.*

### RESUME.

*On recherche la production de masse de juvéniles de coquilles Saint-Jacques de taille 25 mm dans le but de pratiquer un repeuplement.*

*Les résultats préliminaires obtenus par élevage au laboratoire en petit volume donnent des taux de survie très faibles, de l'ordre de 1 % du stade de la larve D à la taille de 1 mm. La croissance après la métamorphose est très irrégulière et très lente comparée à celle observée en milieu naturel.*

*Un programme expérimental de captage de naissain en milieu naturel, suivi d'élevage en culture suspendue a été mené en parallèle. Il est possible d'obtenir des rendements de captage très intéressants : moyenne de 300 juvéniles de 15 mm par collecteur. Un prélevage en culture suspendue permet d'atteindre la taille de 25 mm 3 mois environ après la fixation avec un taux de survie des plus satisfaisants.*

*Le captage de naissain en milieu naturel serait donc la meilleure méthode de production. Cependant, cette solution n'est applicable que sur un gisement à densité de géniteurs importante. Pour les gisements en déclin, une production de petit naissain en écloserie avec prégrossissement ultérieur dans le milieu naturel pourrait être envisagée.*

.../...



## INTRODUCTION.

La coquille Saint-Jacques en France fait l'objet de pêches importantes mais la production des différents gisements est très variable et reste aléatoire, d'où l'idée développée au C.O.B. de maîtriser le recrutement soit par captage de naissain en milieu naturel à l'instar des Japonais (MULLER-FEUGA et QUERELLOU, 1973 ; QUERELLOU, 1975), soit par production de juvéniles en éclosérie. Les premières recherches ont été axées sur la capture de naissain en baie de Saint-Brieuc sur un gisement prospère (0,2 à 1 coquille adulte par mètre carré). Par la suite sont venus s'ajouter des travaux sur la reproduction artificielle en utilisant des géniteurs provenant d'un autre gisement en déclin, celui de la rade de Brest qui a pour caractéristique de produire des individus matures durant une grande partie de l'année, ce qui confère au produit une plus-value notable.

Ces deux approches sont complémentaires lorsqu'il s'agit de détailler les différents processus de développement des larves et juvéniles sur le plan expérimental.

Les résultats actuels de captage de naissain laissent augurer d'un développement économique rapide de cette technique sur des gisements naturels où le stock de reproducteurs est élevé. Les résultats d'élevage artificiel restent encore du domaine de la recherche.

Les travaux présentés tentent de faire la synthèse des deux approches.

## ELEVAGES AU LABORATOIRE.

Il n'y a eu jusqu'à présent aucun résultat concernant la production en masse de juvéniles en éclosérie. Les premières métamorphoses au laboratoire ont été obtenues par GRUFFYD et BEAUMONT (1972) et COMELY (1972). Depuis, différents auteurs ont reproduit ces résultats, en particulier LE PENNEC (1974), MINCHIN (1976), MONYHAN (1976), ROMAN et PEREZ (1976). Cependant on ne dispose la plupart du temps que de données qualitatives. Seront relatés ici les résultats d'une première expérience faite avec des géniteurs provenant de la rade de Brest.

### Matériel et méthode.

La méthode utilisée dérive des techniques de culture des larves de bivalves décrites par LOOSANOFF et DAVIS en 1963. Les conditions particulières de l'élevage ont été définies d'après les résultats obtenus avec *Peoten maximus* par GRUFFYD et BEAUMONT et LE PENNEC.

La température est restée constante à  $16^{\circ} \pm 1^{\circ}$  C. L'eau de mer filtrée à  $0,3 \mu$  a été renouvelée tous les deux jours avec addition de nourriture et d'antibiotique (chloramphénicol à 8 mg/ml durant les 28 premiers jours). En fin d'élevage, la filtration de l'eau de mer a été supprimée. Un mélange d'algues *Isochrysis* et *Monochrysis* a été utilisé au départ à raison de 25 cellules par  $\mu$ l pour chaque espèce. Après la métamorphose, *Isochrysis* a été remplacée par *Tetraselmis* à la même concentration.

.../...



La ponte a été provoquée par choc thermique. Les oeufs fécondés ont été placés dans un incubateur de 25 litres à une concentration initiale de 1 000/ml. Après 4 jours d'incubation, les larves D ont été distribuées dans 15 béciers de 5 litres à une concentration initiale proche de 5/ml. Au 17ème jour suivant la ponte, une sélection de larves a été opérée, les larves restantes étant transférées dans un bac de 15 litres à une concentration initiale avoisinant 2,5/ml.

La longueur des larves a été mesurée au micromètre oculaire. Les comptages ont été effectués en regroupant les larves dans une éprouvette de 500 ml. Après homogénéisation, on effectue trois comptages sur 0,5 ml.

Résultats.

Les données résumées dans le tableau 1 concernent un élevage commencé le 21 janvier.

Date des mesures	Nombre mesuré	Longueur moyenne en microns	Ecart type	Nombre d'individus vivants	Survie % à partir des larves D
21.07.76	PONTE				
25.01.77	120	111	5,1	354 000	
27.01.77	83	119	5,8	297 000	83
31.01.77	91	131	11,4	157 000	44
4.02.77	130	154	15,6	125 000	35
7.02.77	25	180	11,8	36 000 *	10
14.02.77	20	219	14,5		
16.02.77	25	225	11,6		
18.02.77	25	225	11,8		
21.02.77	26	239	14,5		
23.02.77	25	240	11,6		
25.02.77	8	243	10,6		
28.02.77	25	250	12,6		
4.03.77	15	247	11,5		
9.03.77	Métamorphosées:11 Non métamorphosées : 15	455 243	75,00 8,32		
11.03.77				Métamorphosées : 4 000 Non métamorphosées: 30 000	10
23.03.77	Métamorphosées : 21	514	124	Métamorphosées : 10 000 Non métamorphosées: 21 000 **	9
6.05.77		Groupe 1 : 640 Groupe 2 : 1 640		Métamorphosées : 3 000	1

\* Les larves élevées auparavant dans des béciers de 5 l ont été rassemblées dans un récipient de 15 litres avec filtration éliminant les larves les plus faibles.

\*\* Les 21 000 larves non métamorphosées ont été éliminées.

TABEAU 1 : Croissance et survie larvaire en élevage contrôlé.



85 % de larves D apparemment normales ont été obtenues à partir de la fécondation. Une sélection a été faite cependant 17 jours après la ponte, en considérant comme anormales les larves ayant une croissance faible. On n'a ainsi conservé le 7.02.77 qu'un lot de larves de taille moyenne 180  $\mu$ . La croissance à partir de cette taille est relativement régulière jusqu'à une taille de 240  $\mu$  (figure 1 a). On observe ensuite un plateau précédant la métamorphose. Celle-ci, signalée par l'apparition de la dissoconque, se produit à une taille avoisinant 250  $\mu$ . Les premières larves métamorphosées apparaissent ainsi au début de mars, une quarantaine de jours après la ponte. Cependant, seule une petite partie des larves passent le cap de la métamorphose, les autres stagnent autour de 250  $\mu$ . Ceci est bien visible le 23.03 où les deux tiers des individus restants, non métamorphosés ont été éliminés. La croissance des post-larves est rapide au départ, mais on observe très vite un ralentissement puis une stagnation dénotant de mauvaises conditions d'élevage. De plus la dispersion des tailles est excessivement forte. On aboutit ainsi au 6 mai, plus de trois mois après la ponte à deux groupes de taille distincts : le premier avec 90 % des individus se situe aux alentours de 640  $\mu$ , le deuxième avec les 10 % restants se situe autour de 1640  $\mu$ .

La survie calculée à partir des larves D donne un résultat global de 1 % pour atteindre environ 1000  $\mu$  (figure 1 b).

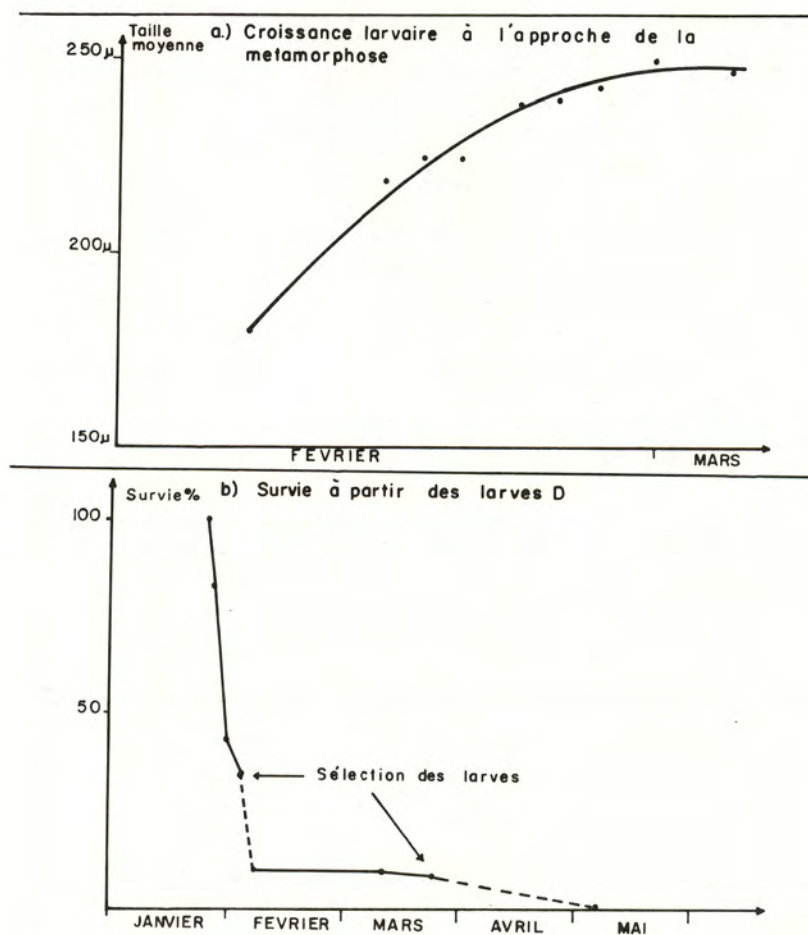


FIGURE 1 : Elevages en laboratoire : croissance et survie larvaire.

.../...



Ces résultats montrent un retard considérable par comparaison avec les croissances observées en milieu naturel. Cependant, ils laissent supposer que des expérimentations en éclosérie, à beaucoup plus grande échelle, permettraient de produire du petit naissain de 2 ou 3 mm avec des taux de survie acceptables.

#### CAPTAGE DE NAISSAIN.

Depuis 1973, le captage de naissain est suivi en baie de Saint-Brieuc par un programme expérimental, doublé depuis 1976 d'un programme parallèle mené par les pêcheurs sur une plus grande échelle, et dont le but est d'assurer le repeuplement des gisements.

#### Matériel et méthode.

Le principe consiste à fournir à la larve planctonique sur le point de se fixer (la taille est alors d'environ 250  $\mu$ ) un support adéquat où elle grandira à l'abri des prédateurs.

Le support employé est constitué d'une nappe de filet Netlon (longueur 8 m, largeur 0,4 m) de maille 5 mm. Ce support est enveloppé dans un sac en nylon tressé (longueur 1 m, largeur 0,3 m) de maille 2 mm, le tout constituant un collecteur.

Ces collecteurs sont maintenus en pleine eau à une distance variant entre 1 et 5 mètres au-dessus du fond. Les profondeurs sur les stations prospectées variant entre 8 m et 15 m (niveau des basses mers de vives eaux), le marnage étant de 10 m.

Afin de déterminer les périodes et les intensités de fixation, les séries de collecteurs sont posées toutes les semaines. Au vu des résultats des premières années, les collecteurs sont relevés au bout de 45 jours (BUESTEL *et al.*, 1976).

Les résultats (jusqu'à 300 individus par collecteur en 1975, 800 en 1976) ont incité les pêcheurs à utiliser les données prévisionnelles récoltées hebdomadairement (période de ponte détectée à partir d'un rapport gonado-somatique, densité des larves de bivalves dans le plancton) à l'échelle de plusieurs milliers de collecteurs. Ce programme a fourni des données complémentaires.

Comme en 1975, les animaux collectés tous les 45 jours étaient mis en élevage suspendu à raison de 10 000 par mètre carré à 3 et 5 mm, et 1 200 par mètre carré à partir de 8 mm. Les dédoublements se faisaient à environ 20 mm.

#### Résultats.

Les dénombrements (tableau 2) sont extrêmement irréguliers et ceci est dû principalement aux imperfections technologiques ; le figure 2 c apparaît comme la plus vraisemblable bien que présentant des données approximatives.



Période d'immersion des collecteurs	Station 1 "Plattières"				Taille approximative	Station 2 "Comtesses"				Taille approximative	Numéro des séries de collecteurs
	1	2	3	4		1	2	3	4		
30.05 - 30.09						17	44	22	25	20 - 25 mm	1
25.05 - 30.09						3	15	4	93	20 - 25 mm	2
20.06 - 2.08	410	115	192	194	1 - 4 mm						
20.06 - 30.09						115	191	128		20 - 25 mm	3
2.07 - 13.08	334	608	467	27*	5 - 10 mm	166	240	190	314		4
	792	719	112	107*		43*	332	201	67*		
	655	239	182	26*							
	470	632	58*	20*							
9.07 - 20.08	7*	140	301	42	8 - 15 mm						5
	54	107	57	493							
16.07 - 25.08	175 pour 33 collecteurs				8 - 15 mm	84 pour 32 collecteurs				8 - 15 mm	6
30.07 - 17.09	0					0					7

\* Les astérisques indiquent les résultats manifestement aberrants liés aux imperfections technologiques.

Les collecteurs 4 sont situés à 1,50 m au-dessus du fond  
 " " 3 " 2,50 m " "  
 " " 2 " 3,50 m " "  
 " " 1 " 4,50 m " "

TABLEAU 2 : Année 1976 Baie de Saint-Brieuc. Dénombrement du naissain sur les différentes séries de collecteurs expérimentaux.

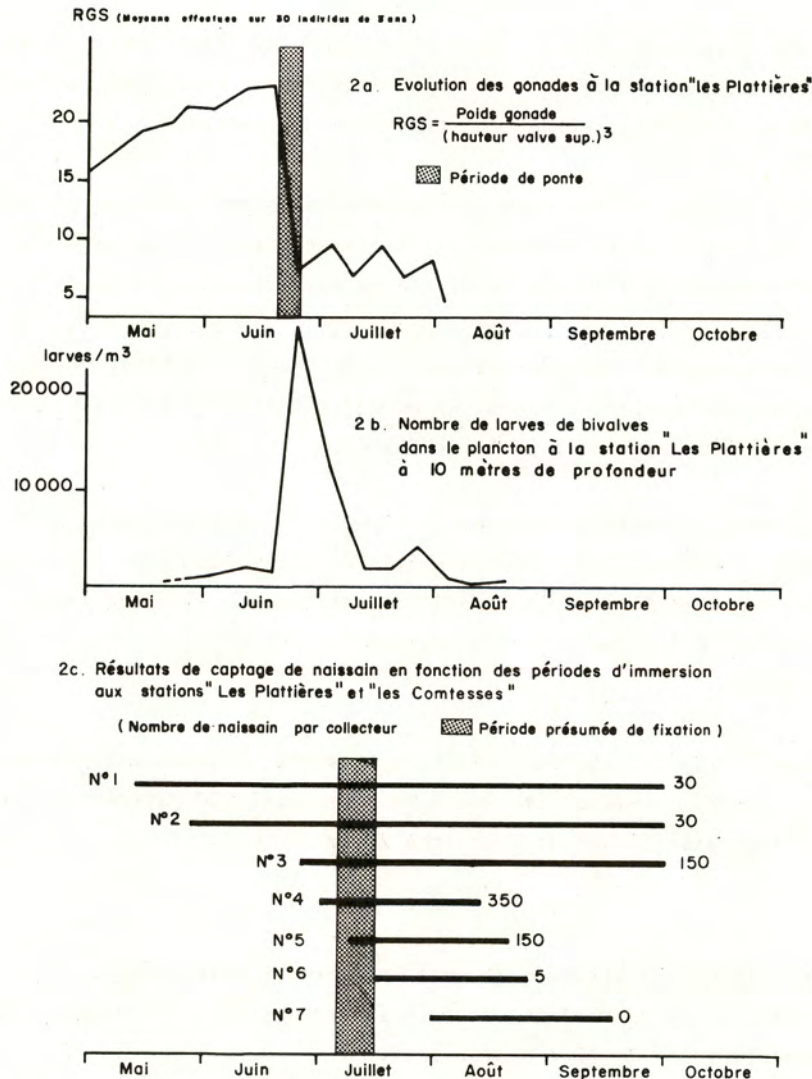


FIGURE 2 : Baie de Saint-Brieuc. Année 76. Evolution des indicateurs biologiques. .../...



Les séries de collecteurs 1, 2, 3 ont bien traversé la période de fixation, mais les salissures en auraient affecté les rendements. De plus les prédateurs entrés en début de saison ont pu exercer leur action à l'intérieur des collecteurs.

Les séries 4, 5, 6, 7, permettent de situer à la semaine près la période de fixation et démontrent la valeur des indices prévisionnels (figures 2a et 2b).

La reproduction est très variable d'une année sur l'autre : en 1975, la plus importante fixation provenait d'une ponte du début août, après plusieurs pontes infructueuses. En 1976, la première ponte a été suivie d'une excellente fixation, mais il a fallu attendre plus de 2 mois la fixation suivante.

La fixation se situe 15-20 jours après la ponte à la taille de 250  $\mu$  environ (taille de la prodissoconque visible sur les jeunes coquilles). Au bout de 20 jours de vie fixée, la taille est de 2 mm environ. Ces données démontrent une évolution beaucoup plus rapide dans la nature qu'en milieu contrôlé.

Les élevages en culture suspendue montrent (figure 3, tableau 3) l'importance de la taille initiale des animaux (résultats 1975 corroborés par les essais 1976) : les mortalités surviennent dans les 15 jours qui suivent la mise en élevage à partir des juvéniles prélevés sur les collecteurs, mais avec un bilan lié à la taille au prélèvement. Ceci est certainement dû à la fragilité des très jeunes coquilles qui ne deviennent opaques et colorées que vers 8-10 mm.

Date des comptages	Lot 1 - 3 mm		Lot 2 - 5 mm		Lot 3 - 8 mm	
	Nombre	Survie	Nombre	Survie	Nombre	Survie
14.08.75	166					
22.08.75			227			
30.08.75	75	45	170	75	217	
12.09.75	68	41	166	73	191	88
9.10.75	66	40	165	73	188	87
21.11.75	66	40	164	72	186	86
5.03.76	66	40	163	72	186	86

Survie du naissain en culture suspendue.

Date des mesures	Taille de l'échantillon	Moyenne	Ecart-type
14.08.75	Pas de mesure. Mode estimé à 3 mm		
22.08.75	80	5,08	0,87
30.08.75	90	7,94	1,22
12.09.75	301	15,8	1,28
9.10.75	305	24,0	1,58
21.11.75	229	29,4	1,71
5.03.76	224	33,2	2,3

Croissance du naissain collecté les 14.08, 22.08 et 30.08 en culture suspendue.

**TABLEAU 3** : *Survie et croissance du naissain en culture suspendue.*

.../...



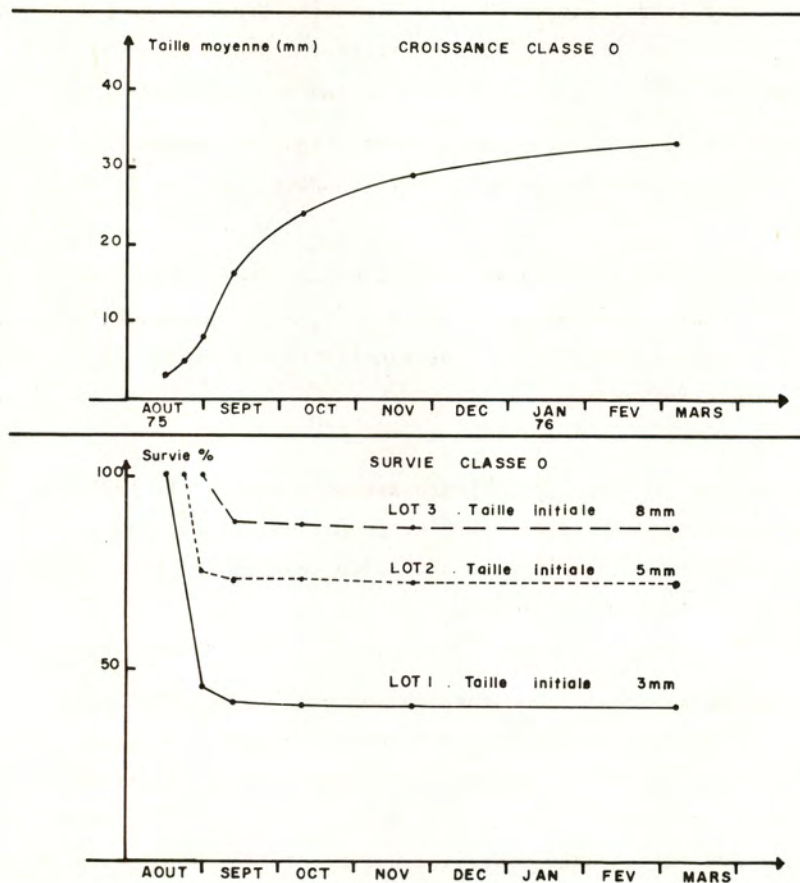


FIGURE 3 : Croissance et survie du naissain en culture suspendue.

On peut donc supposer que des animaux de 8 mm, produits en écloserie et transposés en milieu naturel en paniers de culture auraient une survie intéressante. Ceci serait peut-être vérifié dès la taille de 3 mm si l'on pouvait trouver une technologie adéquate.

CONCLUSIONS.

En observant les meilleures conditions de travail, le programme aurait dû permettre d'obtenir par captage en milieu naturel 300 individus par collecteur en 1976 (soit 1 500 000 jeunes de 12-15 mm). Les résultats de 100-120 000 à 25 mm s'expliquent par une technologie encore débutante, ce qui a été vérifié lors d'une tempête (collecteurs détachés de leurs lignes, mortalité due aux conditions physiques).

Mais les rendements obtenus semblent démontrer l'avenir de ces techniques : pour un gisement sain, à forte densité naturelle de coquilles Saint-Jacques de l'ordre de celle trouvée en baie de Saint-Brieuc, le captage en milieu naturel serait la meilleure voie pour contrôler le recrutement et par là-même stabiliser puis développer la production. Pour les gisements défailants, le passage par une écloserie pourrait apporter du naissain jusqu'à la reconstitution.

.../...



Le retard de développement accumulé en éclosion pourrait être rattrapé par un élevage en milieu naturel en structure suspendue. La taille des animaux lors de ce passage est en cours d'étude et pourrait se situer entre 5 et 10 mm.

BIBLIOGRAPHIE.

- BUESTEL, D., J.C. DAO et G. LEMARIE, 1976. Collecte de naissain de Pectinidés en Bretagne. CIEM, Réunion spéciale sur les évaluations de population des stocks de crustacés et de coquillages, CM/43.
- COMELY, C.A., 1972. Larval culture of the scallop *Pecten maximus* (L.). J. Cons. Int. Explor. Mer, 34 (3) : 365-378.
- GRUFFYDD, L.L. and R.A. BEAUMONT, 1972. A method for rearing *Pecten maximus* in the laboratory. Mar. Biol., 15 : 350-355.
- LE PENNEC, M., 1974. Morphogénèse de la coquille de *Pecten maximus* L. élevée au laboratoire. Cahiers de Biologie Marine, 25 : 475-482.
- LOOSANOFF, V.L. and H.C. DAVIS, 1963. Rearing of bivalve molluscs. Adv. Mar. Biol., 1 : 1-136..
- MINCHIN, D., 1976. Spawning and rearing of *Pecten maximus* L. at Lough Hyne. Scallop Workshop. Baltimore, Ireland, 11-16th May 1976.
- MOYNIHAN, E., 1976. Aspects of hatchery culture of *Pecten maximus*. Scallop Workshop. Baltimore, Ireland, 11-16th May 1976.
- MULLER-FEUGA, A. et J. QUERELLOU, 1973. L'exploitation de la coquille Saint-Jacques au Japon. Rap. Scient. Tech., CNEOX, n° 14.
- QUERELLOU, J., 1975. Exploitation des coquilles Saint-Jacques *Patinopecten yessoensis* jay, au Japon. Publication de l'Association pour le développement de l'aquaculture. 62 p.
- ROMAN, G. and A. PEREZ, 1976. Scallop (*Pecten maximus* L.) larval rearing in the laboratory. Scallop Workshop. Baltimore, Ireland, 11-16th May 1976.



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de Colloques du C.N.F.X.O., 4 : 317-330.

CULTURE OF THE MANILA CLAM (*VENERUPIS SEMIDECUSSATA* REEVE)  
FROM HATCHERY-REARED SPAT

by

Albert LUCAS

Laboratoire de Zoologie, Faculté des Sciences, 29283 Brest Cédex, France

ABSTRACT.

*Culture of Venerupis semidecussata achieved in Rade de Brest from hatchery-reared spat, include three stages, according to the size of the individuals. From 2 to 10 mm : culture in nursery ; from 10 to 20 mm : off-bottom or suspended culture in the wild ; from 20 to 40 mm : suspended or on-bottom culture. The latter stage was not dealt with in the present paper.*

*In the nursery, 12 major factors affecting the growth rate were considered. For each experiment in the nursery, the particulars of those factors were noted and the influence of five of them was analysed at length. Monthly weight growth rates over 100 % were obtained in spring, autumn and winter.*

*Suspended culture in partitioned creels made it possible to obtain, in summertime, monthly weight growth rates ranging from 37 % to 133 %, whereas, in the same period of time, with samples of same origin, this rate was only of 7 % to 19 % for off-bottom cultures in screened boxes.*

RESUME.

*Les cultures de Venerupis semidecussata réalisées en Rade de Brest, à partir de naissain d'écloserie, comportent 3 phases selon la taille des exemplaires. De 2 à 10 mm : culture en nurserie ; de 10 à 20 mm, culture en surélévation ou en suspension en mer ; de 20 à 40 mm, culture en suspension ou dans le sol. Cette dernière phase n'a pas été examinée dans la présente étude.*

*Dans la nurserie, 12 facteurs principaux agissant sur le taux de croissance ont été retenus. Pour chaque expérience dans la nurserie, les caractéristiques de ces facteurs ont été notées et l'influence de 5 d'entre eux a été analysée en détail. Des taux de croissance pondérale mensuelle, supérieurs à 100 % ont été obtenus au printemps, en automne et en hiver.*

*L'élevage en suspension dans des caisiers compartimentés, a permis d'obtenir pendant l'été, des taux de croissance pondérale mensuelle allant de 37 % à 133 %, tandis qu'à la même période, sur des exemplaires de même origine, ce taux n'était que de 7 % à 19 % pour des cultures en surélévation en caisses grillagées.*

.../...



## INTRODUCTION.

The subject experiments in culturing "Palourde" (*Venerupis semidecussata*) were carried out in "Rade de Brest", Brittany, from 1974 to 1977. SATMAR, Barfleur (France) supplied the hatchery-reared spat from genitors produced at Puget Sound, Washington State, (USA). Most batches numbered 100 000 individuals, with a mean size on delivery varying between 2 to 4 mm. In all cases, the initial growth from 2 to 10 mm was carried out in the Tinduff nursery (Rade de Brest), the actual growth from 10 to 20 mm was achieved either on fittings raised 50 cm above intertidal ground (off-bottom culture) or suspended from floats (suspended culture), and the final growth was undertaken either in suspended culture or on-bottom.

### 1 - THE INITIAL GROWTH IN NURSERY.

The fittings of the nursery and its operation have already been described (LUCAS, 1976). As a reminder, the nursery consists of a 162-square-meter greenhouse housing :

- 1) - two sea-water storage tanks (totalling 18 m<sup>3</sup>) and six algal culture tanks (totalling 7 m<sup>3</sup>)
- and 2) - eleven raceways (totalling 25 m<sup>3</sup>).

The water circulation principle is described in Figure 1. The water is heated through the greenhouse effect - most noticeable from February to July (see Figure 2) - and enriched with monocellular algae from cultures carried out in the greenhouse, the quantity of supplied algae (in addition to those already existing in natural sea-water) varying throughout the year.

#### 1.1. Environmental factors affecting the growth of "palourdes".

In the nursery, growth rates of *Venerupis semidecussata* of a size ranging from 2 to 10 mm are correlated with various factors, among which the most important are :

- (1) - the fittings of the raceways ;
- (2) - the population density of the rearings ;
- (3) - the flow rate of sea water ;
- (4) - the quality of sea water (subject to seasonal variations) ;
- (5) - the quality of the food supplement (subject to seasonal variations) ;
- (6) - the quantity of the food supplement (subject to seasonal variations) ;
- (7) - temperature (subject to seasonal variations) ;
- (8) - salinity (subject to seasonal variations) ;
- (9) - distribution of the lanterns in the raceways ;
- (10) - frequency of the handlings (washing, brushing, etc...) ;
- (11) - the feeding rate which can be continuous or discontinuous ;
- (12) - the light and, consequently, the fouling.

Various types of fittings were tested in the raceways (LUCAS, 1976), but only one type, sketched in Figure 3, where the palourdes are laid out in square nets called "lanterns" will be dealt with in the present study.

.../...



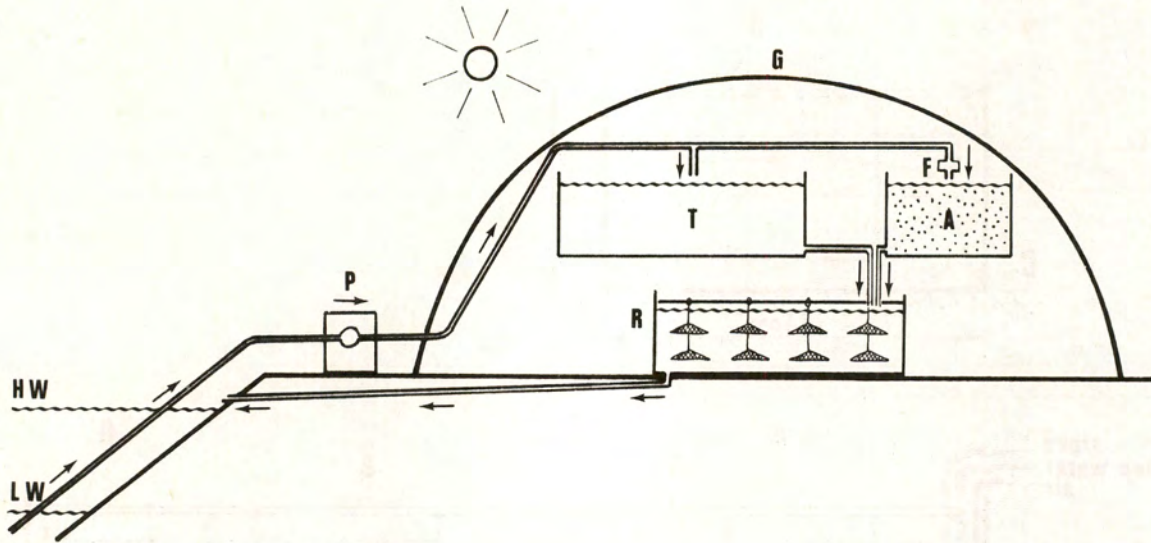


FIGURE 1 : Diagram of the circulation and processing of sea water in the nursery.

From left to right : HW = High Water ; LW = Low Water ; P = Pump ; R = Raceway used in rearing the spat, which is supplied sea water from the storage tank (T) and algal cultures (A) carried out in water filtered beforehand (F) ; the entire fittings are housed in a polyethylene greenhouse (G).

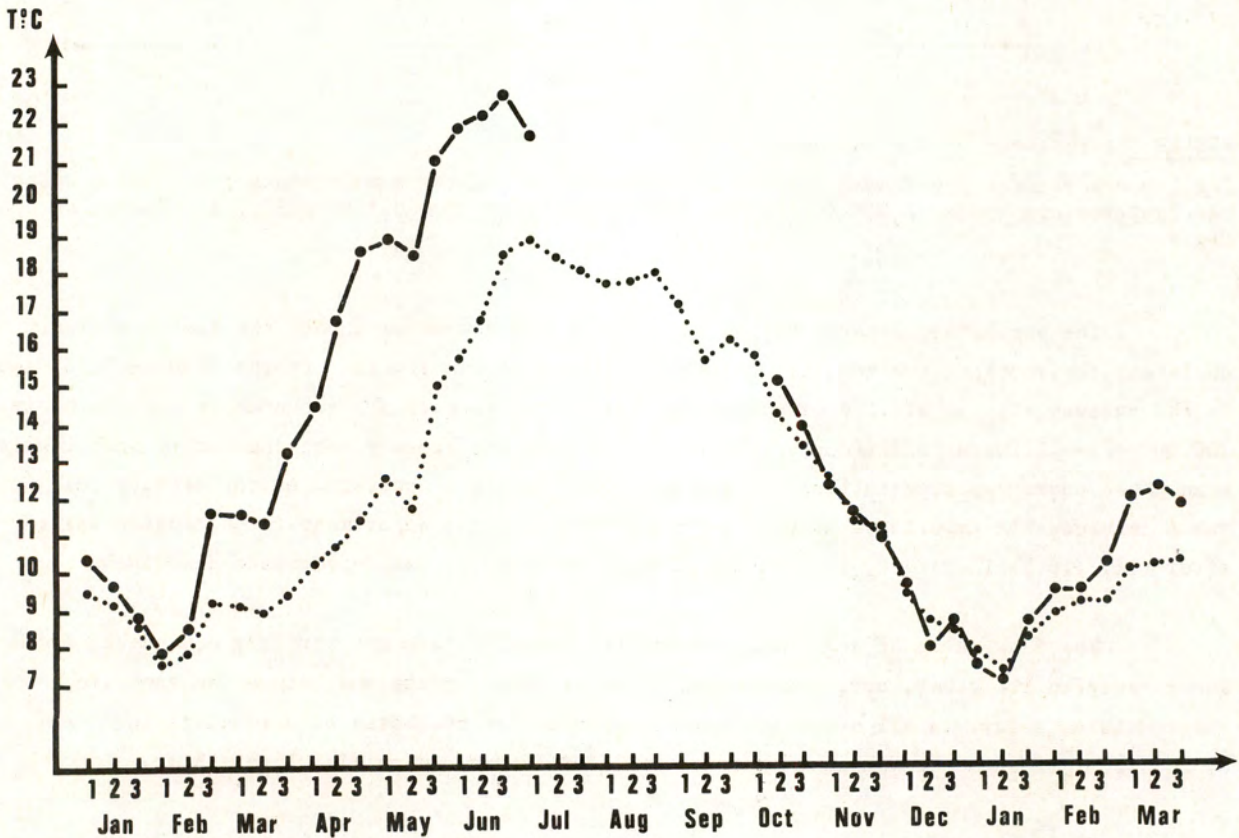


FIGURE 2 : Temperature fluctuations (Mean value computed on the time basis of 10 days) in the nursery raceways (full line) and in the wild (dotted line), from January 1976 to March 1977.

.../...



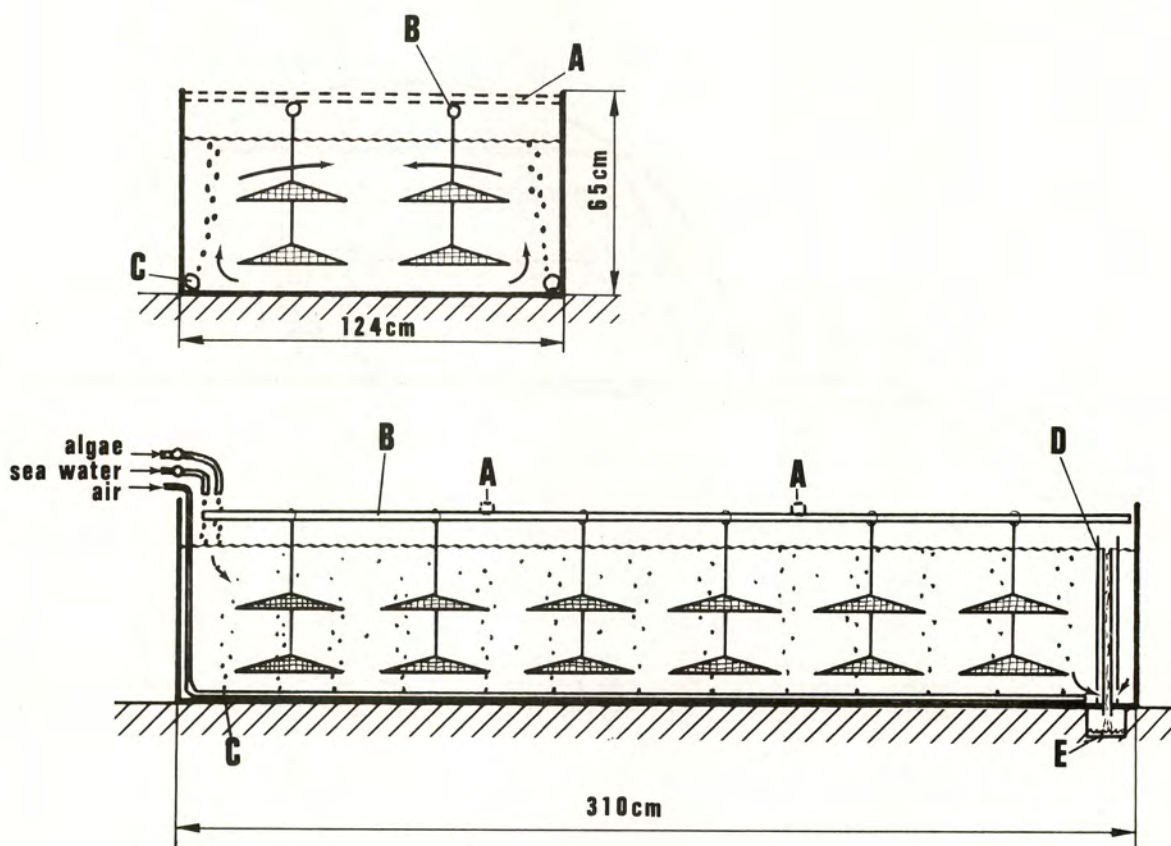


FIGURE 3 : Fittings of the raceways.

Top : cross section ; Bottom : longitudinal section. A = Cross support bars ; B = Tubes where the lanterns are hooked ; C = Air-bubble spout ; D = Over-flow outlet well ; E = Sea water drain.

The population density of the rearings is correlated with both the number of individuals and their respective weight. Density interferes at two levels : in the "lantern" (d) and in the raceway (D). In all the experiments, density per raceway (D) amounted to approximately 100,000 six-millimeter individuals (which implies that the raceway contained other individuals than those under experimentation). We may then consider it a constant. As for density (d), it has a considerable importance as will be demonstrated in the experiment to be related hereinafter (cf. 1.6.). Therefore, its value will be indicated for each experiment described.

The flow rates of sea water, controlled manually, are not strictly equivalent from one raceway to the other, but, statistically, it balances in the end, since the taps are checked twice a day. In all our experiments, we worked on the basis of a complete turn-over of the water of each raceway in 24 hours, say 2,100 liters/day or 87.5 liters/hour.

The quality of sea water was not tested regularly ; we only know that the phytoplankton density becomes considerable starting in April and on to September. In May-June 1975, the mean algal density reached  $18.10^3$  cell/ml (LUCAS, 1976).

.../...



The types of algae that were cultured were : *Tetraselmis suecica*, *Phaeodactylum tricorutum* and *Monochrysis lutheri*. The quantity of food varied mostly in correlation with the flow rates and, for a lesser part, with algal densities. For instance, from October 8, 1976, to March 23, 1977, the supply of food was interrupted during 16 days (over 167) ; flow rates varied from 213 l/h to 18 l/h, *T. suecica* algal density varied from  $8.10^4$  cell/ml to  $15.10^4$  cell/ml, that of *P. tricorutum* from  $8.10^5$  cell/ml to  $13.10^5$  cell/ml and that of *M. lutheri* from  $27.10^4$  cell/ml to  $33.10^4$  cell/ml.

Temperature and salinity readings will be indicated for each experiment (mean values calculated on the time basis of 10 days).

Following is a detailed account of experiments conducted on the influence of factors (9), (10), (11) and (12) on the growth of *Venerupis semidecussata*, as well as of an experiment on density.

In those experiments, for one thing, all batches compared were strictly identical : same origin, same rearing method up to the time of the experiment, same weight, same number ; for another thing, the constituents of the medium, with the exception of the factor under study, were extremely close, even when experiments were carried out simultaneously in two raceways.

From here on, the following symbols will be used in the present report :

- N = number of individuals involved in each experiment
- Wm = mean weight of the individuals (in mg)
- Lm = mean length (measured in mm from the anterior to the posterior edge of the valves)
- G/m = relative rate of weight increment calculated on a time unit of a month (30 days), in percentage
- Z/m = relative rate of mortality calculated on a time unit of a month (30 days), in percentage
- d = number of individuals per square meter (surface of a lantern =  $0.1225 \text{ m}^2$  ; of a screened box =  $0.1539 \text{ m}^2$  ; of one cell in a suspended creel =  $0.025 \text{ m}^2$ ).

NOTA : In the tables given hereafter, the growth rates are computed from weight readings which vary more markedly than length readings. However, in establishing the homogeneity statistical tests, we used the mean lengths that were computed from a hundred or so individual readings (which cannot be the case for weights since individuals are too small for individual weighings). The statistical tests could be applied to 4 experiments only.

.../...



1.2. Influence of the distribution of the "lanterns" in the raceway.

With a view to determine the influence of the distribution of the "lanterns" in the raceway, we compared the weight increments in the first, second, third, fourth and fifth rows of "lanterns" (four lanterns per row) in the same raceway, the first row being closest to the food and sea water intake. The experiment took place from October 21, 1976, to February 8, 1977, with a control on December 7, 1976. Results are given in table 1.

	1 <sup>st</sup> row	2 <sup>nd</sup> row	3 <sup>rd</sup> row	4 <sup>th</sup> row	5 <sup>th</sup> row
W (g)					
21.10.76	400.00	400.00	400.00	400.00	400.00
7.12.76	927.32	901.16	873.00	848.40	822.90
Wm (mg)					
21.10.76	30.80	30.80	30.80	30.80	30.80
7.12.76	71.40	69.38	67.22	65.32	63.36
G/m (%)	84.14	79.97	75.47	71.55	67.48
W (g)					
8.02.77	1,472	1,412	1,332	1,189	1,145
Wm (mg)					
8.02.77	113.34	108.72	102.56	91.55	88.16
G/m (%)	27.96	26.99	25.03	19.11	18.63

TABLE 1 : *Weight growth of V. semidecussata in correlation with the distribution of the lanterns in the raceway.*

*At the beginning of the experiment : N = 12,987 (per batch) ; Lm = 4 mm ; d = 26,492 (say 100 g per lantern). In the course of the experiment, fluctuation of mean temperature : 15.0°C-7.0°C ; fluctuation of mean salinity : 33.8 ‰ - 29.0 ‰. Mortality (Z/m) was non existent.*

*Analysis of variance F ratio = 21.46 > F 0.001 = 4.62. The differences between rows are highly significant.*

We note that the distribution of the lanterns in relation to the food intake has a definite effect on the growth rate.

We may infer from the above that, for all comparative experiments, we must satisfy ourselves that the distribution of the lanterns is identical for all batches. In commercial rearings, a periodical shifting of the lanterns will be necessary to ensure homogeneous results.

1.3. Influence of the frequency of the handlings.

Cleaning the lanterns and raceways is a necessity. Yet, each handling slightly upsets the animals, hence the consequence of their frequency. With this object, we compared the weight growth of two batches, one submitted to daily handlings, the other submitted to weekly hand-

.../...



lings (brushing and washing). Results are given in Table 2.

We note that a weekly frequency is clearly more favourable to growth than a daily frequency which is why we definitively elected it.

Handling frequencies	W (g)		Wm (mg)		G/m (%)	Z/m (%)
	27.04.76	25.05.76	27.04.76	25.05.76		
Daily	250.0	450.68	17.50	37.46	85.97	16.11
Weekly	250.0	519.84	17.50	42.40	115.09	15.43

TABLE 2 : Weight growth of *V. semidecussata* in correlation with daily as opposed to weekly frequencies of cleaning handlings.

At the beginning of the experiment :  $N = 14,285$  (per batch) ;  $Lm = 2,3$  mm ;  $d = 23,498$  (say 50 g per lantern). In the course of the experiment, fluctuation of mean temperature :  $18.7^{\circ}\text{C} - 21.0^{\circ}\text{C}$ ; fluctuation of mean salinity :  $33.0^{\circ}/\text{oo} - 34.0^{\circ}/\text{oo}$ .

Homogeneity test on the mean length :  $\text{Pr} (|X_o| > 5.13) = 0\%$ . The difference is significant at the 5 % level.

#### 1.4. Influence of the frequency of the feedings.

The Tinduff nursery is devised for a continuous feeding and sea water circulation in the raceways. However, according to LANGTON and MacKAY (1974), discontinuous feeding is more favourable to the growth of *Crassostrea gigas*. That is the reason why we undertook a comparative study, between a raceway with a constant circulation of sea water and a continuous supplying of food on one hand, and a raceway drained and refilled every day with fresh sea water and food, on the other hand, respective quantities of sea water and algae being equivalent in both types of raceways. Results obtained are given in Table 3.

Feeding	W (g)		Wm (mg)		G/m (%)	Z/m (%)
	21.10.76	7.12.76	21.10.76	7.12.76		
Continuous	200.00	4,372.78	38.80	67.34	75.72	0
Discontinuous	200.00	3,880.70	30.80	59.76	60.01	0

TABLE 3 : Weight growth of *V. semidecussata* under continuous feeding as opposed to discontinuous feeding.

At the beginning of the experiment :  $N = 64,935$  (per batch) ;  $Lm = 5$  mm ;  $d = 26,504$  (say 100 g per lantern). In the course of the experiment, fluctuation of mean temperature :  $15.0^{\circ}\text{C} - 9.4^{\circ}\text{C}$  ; fluctuation of mean salinity :  $33.8^{\circ}/\text{oo} - 29.0^{\circ}/\text{oo}$ .

Homogeneity test on the mean length :  $\text{Pr} (|X_o| > 6.37) = 0\%$ . The difference is significant at the 5 % level.

.../...



Growth is reduced in the case of discontinuous feeding : this result is not surprising, in view of the fact that, in discontinuous feeding, the algae are almost totally depleted within the first three hours. Moreover, a daily renewal of the water slightly upsets the animals from emergence and temperature and pH variation.

However, the method of discontinuous feeding can be improved through supplying food twice a day, for instance once in the morning and once in the evening. Then again, it seems that a daily renewal of the water might have a stimulating effect on some populations.

#### 1.5. Influence of the light.

The raceways are normally covered to prevent fouling by filamentous algae. We wanted to evaluate the advantage of such a precaution.

With this object, two batches were compared : one laid in a covered raceway and the other laid in an uncovered raceway, thus exposed to natural light. Results are given in Table 4.

We note that the batches that were exposed to day light show a slight reduction of their growth rate : this way result from the fact that water circulation through the lanterns is impeded by algal fouling, unavoidable despite vigorous brushings during the weekly cleanings, rather than from a direct influence of light.

Light	W (g)		Wm (mg)		G/m (%)	Z/m (%)
	8.02.77	8.03.77	8.02.77	8.03.77		
Exposed	2,444.0	2,962.0	91.66	111.09	22.7	0
Not exposed	2,444.0	3,081.5	91.66	115.57	27.9	0

TABLE 4 : Weight growth of *V. semidecussata* exposed or not exposed to light.

At the beginning of the experiment :  $N = 26,662$  (per batch) ;  $Lm = 7.0$  mm ;  $d = 18,137$  (say 204 g per lantern). In the course of the experiment, fluctuation of mean temperature :  $9.6^{\circ}\text{C} - 12.0^{\circ}\text{C}$  ; fluctuation of mean salinity :  $27.8\text{‰} - 29.5\text{‰}$ .

#### 1.6. Influence of density in the lanterns.

Two batches with different population densities were laid in the same raceway. Results are given in Table 5. We note that density per lantern is one of the factors most affecting weight growth. Thus, an equal distribution among the lanterns must be achieved in order to obtain regular production. Many more experiments remain to be carried out, however, to determine the optimal density, which varies with the age of the individuals. Thus, the present experiment can only be regarded as a preliminary one.

.../...



Density (ind/m <sup>2</sup> )	W (g)		Wm (mg)		G/m (%)	Z/m (%)
	15.02.77	31.03.77	15.02.77	31.03.77		
31,531	1,000	2,328	25.92	60.27	90.54	0
63,062	2,000	3,620	25.92	46.85	55.22	0

TABLE 5 : Weight growth of *V. semidecussata* in correlation with the population density in the lanterns.

At the beginning of the experiment :  $N = 115,878$  (in the 2 batches) ;  $l_m = 4.44$  mm. There are 10 lanterns per batch. In the course of the experiment, fluctuation of mean temperature :  $9.6^{\circ}\text{C}$  to  $12.2^{\circ}\text{C}$  ; fluctuation of mean salinity :  $27.8\text{‰}$  -  $29.8\text{‰}$ .

Homogeneity test on the mean length:  $\text{Pr} (|X_o| > 4,23) = 0\%$ . The difference is significant at the 5 % level.

## 2 - OFF-BOTTOM OR SUSPENDED CULTURES.

As soon as the palourdes reach approximately 10 mm (or 175 mg), they are transferred to the wild, for one thing because they take too much room in the nursery, for another thing because their size is then big enough to prevent them from washing through the mesh of the trays or screened boxes used in cultures in the wild.

### 2.1. Summary description of culture techniques.

Off-bottom cultures consists in laying the palourdes in screened boxes, secured to trestles about 50 cm off bottom. The fittings are completely uncovered at low waters of spring tides. They are covered by 5 to 7 meters of water at the highest waters (tidal range in Rade de Brest is 8 m).

In suspended culture, the palourdes are laid in creels, generally cylindrical and subdivided by various horizontal and radiating partitions (Fig. 4). Those creels, suspended from floating structures (rafts, buoys), are kept about one meter below surface and at the lowest waters, two to three meters off the bottom.

Both cultures methods may be applied to palourdes upon their leaving the nursery. They both require the purchase of comparatively expensive equipment. In both cases, the palourdes may suffer a fouling, especially the settlement on their shells of barnacles (Ex. : *Chtamalus stellatus*) and annelids (Ex. : *Pomatoceros triqueter*). This fouling varies with the sites ; it may be minor in some cases.

In suspended cultures, oyster-drills (*Ocenebra erinacea*) may attack the palourdes through the bottom screen of the boxes. .../...





**FIGURE 4** : Sample of creel used in suspended culture. The creel is open to show the upper tray. The compartments of the tray are filled with screened cells in which the spat is laid. One of these cells can be seen in the figure.

## 2.2. The use of aggregates.

In off-bottom or suspended cultures, sieved aggregates with a grain larger than the meshwork, may be added in the creels or in the boxes containing the palourdes. At a suggestion from P. WALNE (pers. comm.) we have applied this method to both types of culture, to determine if it affected the growth.

The experiments dealing with presence or absence of aggregates were numerous and varied with the density, the culture method, and the culture site. We do not think it useful to report at length the results obtained in each of them, in view of the similarity of the results obtained. Table 6 illustrates a typical example.

Creels	W (g)		Wm (mg)		G/m (%)	Z/m (%)
	19.06.77	6.09.77	19.06.77	6.09.77		
With aggregates	150	624	172.8	718.9	121.5	0
Without aggregates	150	653	172.8	752.3	128.9	0

**TABLE 6** : Weight growth of *V. semidecussata* cultured in suspended culture (Oberlah, Rade de Brest) with, as opposed to, without aggregates.

At the beginning of the experiment :  $N = 868$  (per batch),  $L_m = 9.5$  mm,  $d = 11,520$ . In the course of the experiment, fluctuation of mean temperature :  $18.5^\circ\text{C} - 17.1^\circ\text{C}$  ; fluctuation of mean salinity :  $34\text{‰} - 35\text{‰}$ .

.../...



After noting that growth is slightly slower when aggregates are used, we have discontinued this method, all the more so because it required an additional handling.

2.3. Influence of density on growth.

Some preliminary experiments allowed us to determine the influence of density in rearings in the wild. We are reporting results obtained in suspended cultures only, to be found in Table 7.

	W (g)		Wm (mg)		G/m (%)	Z/m (%)
	19.06.76	6.09.76	19.06.76	6.09.76		
Batch 1 : d=11,573ind/m <sup>2</sup> N=1,736 ind	300	1,277	172.8	735.6	132	0
Batch 2 : d=22,970ind/m <sup>2</sup> N=2,297 ind	400	1,232	174.1	536.3	80	0

TABLE 7 : *Weight growth of V. semidecussata in suspended cultures (Oberlah, Rade de Brest) Influence of population density. (Temperature and salinity fluctuations : see Table 6).*

2.4. Growth and mortality in off-bottom and suspended cultures.

Comparisons between suspended and off-bottom cultures can only be approximate, due to the numerous factors that differ from one to the other. For instance, the culture sites are not exactly the same, which infers that a whole serie of ecological factors are different in both batches under comparison. All our cultures, however, were located in the South of Rade de Brest, at Oberlah and Penn-al-Lann for suspended cultures, at Penn-al-Lann and Karreg Ruz for off-bottom cultures and we noted that the results obtained during the summer of 1976 varied little from one site to the other, for a same method of culture. This finding gives more value to differences in growth and mortality observed between one method and the other. Our experiments, in this matter, were numerous but we do not think it useful to report them in full. An average example is reported in Table 8. In this example, growth is considerably faster in suspended culture despite a higher density.

In general, the results obtained in suspended cultures were considerably better, Monthly weight growth rates varied from 132.9 % to 36.9 % for suspended cultures and from 18.8 % to 6.9 % for off-bottom cultures.

.../...



Culture	N	W (g)		Wm (mg)		G/m (%)	Z/m (%)
		2.07.76	8.09.76	2.07.76	8.09.76		
Off-bottom d = 17,323 ind/m <sup>2</sup>	7,998	1,200	1,549	150.0	194.8	10.0	0
		6.07.76	6.09.76	6.07.76	6.09.76		
Suspended d = 32,000 ind/m <sup>2</sup>	4,000	630	1,136	157,0	284,0	80.0	0

TABLE 8 : *Weight growth of V. semidecussata in suspended (Oberlah) as opposed to off-bottom (Penn-al-Lann) cultures.*

At the beginning of the experiment : Lm = 9.5 mm. In the course of the experiment, fluctuation of mean temperature : 18.9°C - 17.1°C ; fluctuation of mean salinity : 34‰ - 35‰.

The final growth concerns animals from 2 cm to commercial size : around 4 cm (legal minimum size : 3.5 cm). Suspended (or off-bottom) culture may be extended to the final growth but because of the fouling of the shells, we have undertaken on-bottom cultures. The results obtained so far are however too sporadic to be of significance.

### 3 - DISCUSSION.

The comparative results that we provided so far illustrate the procedure we followed to devise a good rearing protocol in the nursery. However, they do not convey a precise idea on the advantage of the nursery as the transitional step between the hatchery and the wild. For this reason, we are providing hereafter global results obtained from three shipments of *V. semidecussata*, reared at densities of some 20 000 individuals/m<sup>2</sup>.

First shipment : from April 24 to July 1, 1976 (say 68 days), for 105 943 individuals, the weight went from 1.8 kg to 9.3 kg, which means a monthly weight growth rate of 183 % despite a 17 % mortality during the period of time under consideration.

Second shipment : from October 7 to December 7, 1976, (say 61 days) for 137,592 individuals, the weight went from 2.4 kg to 8.6 kg which means a monthly weight growth rate of 127 % (non existent mortality).

Third shipment : from November 23, 1976, to February 15, 1977, (say 84 days) for 114,417 individuals, the weight went from 0.7 kg to 3.0 kg which means a monthly weight growth rate of 117 % (non existent mortality).

Thus, in spring, autumn and winter, we obtained, in the nursery, monthly weight growth rates well over 100 %.

.../...



In "Artificial Upwelling Project in St Croix", where several types of bivalves were reared in raceways, *V. semidecussata* reaches a commercial size in 7-11 months, at a low density (1,292 ind/m<sup>2</sup>) (ROELS & al., 1976). But it must be emphasized that this is a plant of exceptional size, located in a tropical area.

If we refer to a recent survey (PARTRIDGE, 1977), we note that nothing has been published on the growth of *V. semidecussata* in nursery, in temperate zones. We may, however, establish a comparison with results obtained with that same species, for similar sizes, by LATROUITE & CLAUDE (1976). These authors achieved off-bottom cultures of *V. semidecussata*, at a low density (2,175 ind/m<sup>2</sup>). The experiment took place in Brittany, at Trinité-sur-Mer, and involved 4,350 individuals, supplied by SATMAR. From August 1974 to March 1975 (say 7 months), the mean size went from 4.5 mm to 11 mm. According to figures provided by the authors, this tallies with a weight growth from 30 g to 1,000 g, which means a monthly weight growth rate of some 46 %. Thus, although it benefited from low density, this batch is far from showing a growth rate as high as those achieved in nursery. However, we will not draw definite conclusions from this, since it involved different batches, reared at different dates and sites.

In appraising the results we obtained in suspended culture, we meet the same difficulties : to our knowledge, the application of this method has never led to any publication on *V. semidecussata* nor any other species of Veneridae. We can thus make comparisons with different methods only.

With 10-20 mm palourdes, LATROUITE & CLAUDE (1976) obtained the following results in off-bottom cultures : from March to September 1975 (say 6 months), the size of the samples went from 11 mm to 21 mm, which tallies with a mean-weight growth from 0.25 g to 1.9 g, which means a monthly weight growth rate of 110 %. These results are considerably better than those we obtained in off-bottom cultures (See Table 8). They are close to the results we obtained in suspended cultures (See Table 6 & 7), but it must be reminded that the densities in our cultures were five times higher.

CHEW (1975) used another method in rearing Manila clam from hatchery-reared spat. Samples with a size of 2 to 4 mm and 8 to 10 mm were sown on the bottom in various areas at Puget Sound (USA). The author did not provide growth rates, but gave instead the rates of recovery of the planted individuals which vary from 27 % to 6 % after a year and a half. He thus demonstrates the main difficulty in on-bottom rearing, as MESSMER & SMITH already did (1974).

#### CONCLUSION.

According to the LATROUITE & CLAUDE experiment (1976) or WALNE basic study (1976), *Veneropsis semidecussata* seems to be better suited to culture than the European species *V. decussata*. Likewise, the culture of *V. decussata* in the Tinduff nursery appeared very difficult (high mortality, slow and irregular growth).

.../...



It thus seems that the culture of *V. semidecussata*, which has an excellent commercial potential, is bound to develop. In temperate countries, three methods were experimented so far on this species : seeding on the bottom (CHEW 1975), off-bottom culture (LATROUITE & CLAUDE, 1976), rearing in nursery (LUCAS, 1976). We have shown in the present paper the advantage of a fourth method : suspended culture in the wild.

In view of the results obtained, we shall maintain our protocol which includes a preliminary stage in nursery, followed by suspended culture. As for the final growth, we shall decide later between suspended and on-bottom culture.

Later on, we will try to improve the results by trying new fittings in the nursery as well as in the wild, the final goal being to reach marketable samples in two years of culture.

#### REFERENCES.

- CHEW K., 1975 - Prospects for successful Manila clam seeding. Whashington Sea Grant Program. "Shellfish farming in Puget Sound, 6 and 7 Oct. 1975" : 26-33.
- LANGTON R.W. & G.U. MacKAY, 1974 - The effect of continuous versus discontinuous feeding on the growth of hatchery-reared spat of *Crassostrea gigas* Thunberg. J. Cons. Int. Explor. Mer 35(3) : 361-363.
- LATROUITE D., & S. CLAUDE, 1976 - Elevage en surélévation des Vénéridés (*Mercenaria mercenaria*, *Ruditapes decussatus*, *Venerupis japonicus*) en riviére de la Trinité-sur-Mer, Bretagne Sud. Cons. Int. Explor. Mer. C.M. 76.E : 7 (7 pp., 3 pl.).
- LUCAS A., 1976 - A new type of nursery for rearing bivalve postlarvae. Construction, equipment and preliminary results. 10th Eur. Symp. Mar. Biol. Ostend. Belgium, Sept. 17-23, 1975. Vol. 1 : 257-269.
- MESMER L., & J.M. SMITH, 1974 - Grays Harbor shellfish investigations. Proc. natn. Shellfish Ass. 64 : 14.
- PARTRIDGE J.K., 1977 - Annotated bibliographies of the genus *Tapes* (Bivalvia, Veneridae). Part. I - *Tapes decussatus* (L.), Part. II - *Tapes semidecussatus* Reeve. Proc. Roy. Irish Acad. 77, B(1) : 1-64.
- ROELS O.A., K.C. HAINES & J.B. SUNDERLIN, 1976 - The potential yield of artificial upwelling mariculture. 10th Eur. Symp. Mar. Biol. Ostend Belgium, Sept. 17-23, 1975. Vol. 1 : 381-390.
- WALNE P.R., 1976 - Experiments on the culture in the sea of the butterfish *Venerupis decussata* L. Aquaculture, 8 : 371-381.

*The author is grateful to the CNEXO (Ecotron project) for financial support and to F. GAILLARD for technical assistance.*



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4 : 331-346.

ELEVAGE LARVAIRE ET PRODUCTION DE NAISSAIN  
DE *CRASSOSTREA GIGAS* EN MILIEU TROPICAL

par  
AQUACOP<sup>+</sup>

Centre Océanologique du Pacifique, B.P. 7004, Taravao, Tahiti.

RESUME.

En vue de développer l'ostréiculture dans les îles du Pacifique Sud et plus particulièrement en Polynésie Française, des essais de production en éclosérie de naissain de *C. gigas* ont été menés au Centre Océanologique du Pacifique du CNEOX à Tahiti.

Les conditions du milieu tropical considéré (température élevée toute l'année, eaux naturellement peu productives) ont amené à développer des solutions particulières en ce qui concerne le maintien des reproducteurs, et à utiliser lors de l'élevage larvaire une souche d'algue isolée localement et des traitements préventifs par antibiotiques. Pour la fixation, la technique retenue a été celle sur brisure de coquilles de façon à produire du naissain libre.

Ce texte présente et discute les résultats obtenus dans l'éclosérie expérimentale au cours de quatre séries d'élevage effectuées entre septembre et novembre 1976 où environ 250 000 naissains ont été produits. Les bacs d'élevage de 800 litres cylindroconiques où l'eau est renouvelée tous les 2 jours, doivent permettre d'obtenir en routine 1 million de larves prêtes à fixer.

ABSTRACT.

In order to develop oysters culture in the South Pacific Islands and especially in French Polynesia, trials for producing spats of *C. gigas* in controlled conditions were conducted at the Centre Océanologique du Pacifique of the CNEOX in Tahiti.

Tropical water environment (high temperature all year round and low productivity) led to the development of particular technics for maintaining the brood stock. During the larval rearing a locally isolated algae strain is used and antibiotics as preventive treatments are added. For settling, crushed shell is used giving free spat.

This paper presents and discusses the results obtained in the experimental hatchery during four rearing series from September to November 1976, when about 250 000 spats were produced. The 800 liters cylindroconical rearing tanks where water is changed every two days should give routinely 1 million larvae ready to settle, every three weeks.

.../...



+ AQUACOP, équipe d'aquaculture du C.O.P.

- Algues et mollusques : J.L. Martin, O. Millous, Y. Normant, J. Moriceau, D. Carlson, D. Gillet.
- Nutrition : G. Cuzon, A. Febvre, J. Melard, L. Mu, C. de la Pomelie, G. Fagnoni, J. Gatesoupe, P. Vilmorin.
- Contrôle et traitement de l'eau : J. Calvas, H. Bouchard, B. Couteaux.
- Pathologie : J.F. Le Bitoux, J. Robin.
- Elevage de crustacés et poissons : J.M. Griessinger, P. Hatt, M. Jarillo, F. Fallourd, T. Orth, J.P. Landret, O. Avalle, D. Amaru, A. Bennet, V. Vanaa, J. Mazurié, G. Poullaouec, D. Lacroix, B. Aufavre, X. Sandrin, J. Goguenheim, S. Robert.
- Technologie : J.F. Virmaux.
- Responsable de l'équipe : A. Michel.



## INTRODUCTION.

Ces dernières années, des essais ont eu lieu pour implanter des élevages de *Crasostrea gigas* dans différentes îles du Pacifique : Nouvelle-Calédonie, Nouvelles-Hébrides, Fidji et Polynésie Française, à partir de naissain fixé en provenance du Japon ou de France, ou de naissain libre provenant de l'écloserie de Pigeon Point (Pacific Mariculture). De très bons taux de croissance en eaux chaudes ont été enregistrés et la taille commerciale (7-8 cm) a souvent été atteinte en moins d'un an. Par contre, la survie a souvent été médiocre et des mortalités massives encore inexplicables se sont produites.

L'approvisionnement régulier en naissain de bonne qualité et accoutumé aux températures élevées est rapidement apparu comme un facteur nécessaire au développement de l'ostréiculture.

En Polynésie Française, une seule espèce d'huître comestible déterminée comme *C. glomerata* (GOULD, 1850) par Glude et comme *C. cucullata* (BORN, 1778) par Freneix (MILLAUD, 1975), existe à l'état naturel et fait l'objet d'une ostréiculture artisanale dans les fonds de baies des îles hautes de Raiatea et Tahaa (MILLAUD, 1971). La production, démarrée sous l'impulsion du Service de la Pêche a atteint 15 tonnes en 1977 et s'écoule sur le marché local. Cette huître présente une croissance moyenne puisqu'il faut environ 2 ans pour atteindre la taille commerciale.

Aussi, avec l'idée de remplacer progressivement l'huître locale par *C. gigas* en Polynésie, une écloserie expérimentale a été créée au Centre Océanologique du Pacifique, afin de produire sur place le naissain nécessaire aux essais de grossissement dans des eaux où la température peut dépasser 30°.

Ce texte présente les premiers résultats obtenus sur le maintien des reproducteurs et l'élevage larvaire dans les conditions de Polynésie. Les techniques maintenant classiques mises au point et décrites par LOOSANOFF et DAVIS (1963), WALNE (1966), WALNE et SPENCER (1971), ont été adaptées à ces conditions particulières.

## MATERIEL ET METHODE.

Des essais préliminaires ont été effectués dans des bacs cylindro-coniques de différentes capacités (100, 500, 800 litres), dans différentes conditions : salle close obscure, bacs extérieurs translucides ou opaques ; pour ces derniers, deux couleurs intérieures ont été essayées : blanc et vert sombre.

Ces premiers résultats ont permis de définir l'unité expérimentale actuelle de 40 m<sup>2</sup> qui présente un toit en plaques de fibre de verre translucide et des côtés en plaques de plastique opaque. Elle comprend 6 bacs cylindro-coniques de 800 litres (volume utilisable 700 litres) en fibre de verre, peints intérieurement en vert foncé. Ces bacs ont une double paroi où peut circuler l'eau du lagon stable en température diminuant ainsi les variations journalières de température. Ces bacs sont analogues à ceux décrits par AQUACOP (1977 a)

.../...



pour l'élevage de *Macrobrachium rosenbergii*. Un seul aérateur situé au fond du cône assure le brassage et l'oxygénation de l'eau (figure 1). L'eau de mer, pompée dans le lagon à 5 m de profondeur, présente les caractéristiques physicochimiques suivantes au long de l'année : température 25,5 - 29,5° C, pH 8,2, salinité 35 - 36‰.

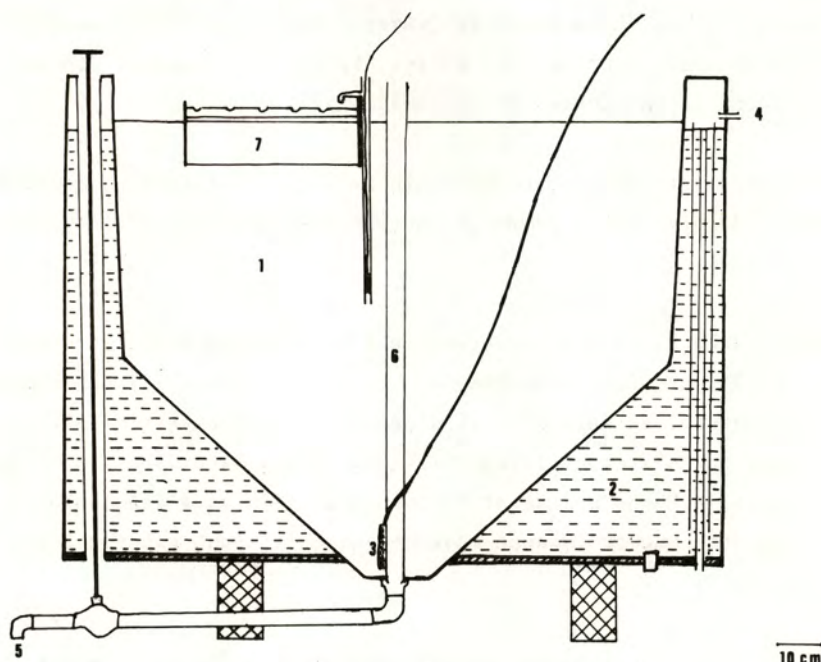


FIGURE 1 : Bac d'élevage larvaire cylindro-conique, volume 800 l.

1. bac d'élevage.
2. double paroi avec circulation d'eau.
3. aérateur.
4. entrée d'eau dans la double paroi.
5. vidange du bac.
6. tuyau central amovible.
7. caisse de fixation.

A l'arrivée dans l'écloserie, cette eau est filtrée sur filtre cartouche 5 et 0,5  $\mu$ .

La température dans les bacs a varié au cours des différents essais de 26 à 29° C. L'amplitude diurne ne dépasse pas 2° C. Ces conditions de température sont optimum pour le développement larvaire de *C. gigas* (WALNE et SPENCER, 1971).

Le stock de géniteurs a été constitué au C.O.P. à partir de naissain importé des Etats-Unis (Pigeon Point Research Center, Pescadero) en juin 1976. Les géniteurs ont été maintenus :

- dans un petit bac en contreplaqué résiné de 300 litres, la nourriture étant constituée d'algues de culture (*Isochrysis* sp., *Tetraselmis tetrahele*) ;

- dans un bassin de 800 m<sup>3</sup> servant au grossissement de crevettes et dans lequel un bloom naturel de diatomées est entretenu.

.../...



Les géniteurs utilisés pour ces 4 séries d'élevage avaient un poids moyen d'environ 20 g.

La ponte est obtenue par chocs thermiques. La température est d'abord abaissée à 22 - 23° C pendant une demi-heure environ, puis remontée à 33 - 35° C. Après deux ou trois chocs, les animaux pondent spontanément. Les produits génitaux mâles et femelles sont récupérés séparément et passés sur un tamis de 80 µ pour éliminer les débris. La fécondation est réalisée en mélangeant spermatozoïdes et ovules en proportion telle qu'il n'y ait pas polyspermie : une dizaine de spermatozoïdes par ovule, un contrôle étant effectué au microscope.

Au cours des différents élevages, deux densités de larves ont été essayées : 9 000 larves/litre et 3 000 larves/litre (tableau 1).

	Bac	Densité initiale larves/l	Nourriture	Antibiotiques	% Larves oeillées
Elevage 1	A	3 000	5.10 <sup>4</sup> I.M.	P - S	5
	B	3 000	5.10 <sup>4</sup> I.M.	-	Arrêt 8ème jour
	D	3 000	5.10 <sup>4</sup> I.M.	P - S	5
	F	9 000	5.10 <sup>4</sup> I.M.	P - S	Arrêt 9ème jour
Elevage 2	B	3 000	5.10 <sup>4</sup> I.M.	P - S	2
	C	3 000	5.10 <sup>4</sup> I.M.	P - S	4,5
	F	3 000	5.10 <sup>4</sup> I.M.	Sulf	12,2
Elevage 3	A	3 000	5.10 <sup>4</sup> I.M.	P - S	2
	B	3 000	I - Pi - Ch	P - S	Arrêt 18ème jour
	C	3 000	5.10 <sup>4</sup> I.M.	Sulf	18,2
	D	3 000	I - Pi - Ch	Sulf	Arrêt 19ème jour
	E	3 000	5.10 <sup>4</sup> I.M.	P - S	6
	F	3 000	I - Pi - Ch	P - S	Arrêt 7ème jour
Elevage 4	A	3 000	10 <sup>5</sup> I.M.	P - S	Arrêt 20ème jour
	B	3 000	5.10 <sup>4</sup> I.M.	P - S	Arrêt 20ème jour
	C	3 000	10 <sup>5</sup> I.M.	P - S 6 j, Sulf	41
	D	3 000	5.10 <sup>4</sup> I.M.	P - S 6 j, Fur	19,4
	E	3 000	10 <sup>5</sup> I.M.	P - S 6 j, Fur	11
	F	3 000	5.10 <sup>4</sup> I.M.	P - S 6 j, Sulf	32

TABLEAU 1 : Conditions particulières des 4 séries d'élevage : densité initiale (larves/l) ; nourriture en nombre de  $\phi$ /ml (I : *Isochrysis sp*, M : *Monochrysis lutheri*, Pi : *Pseudoisochrysis paradoxa*, Ch : *Chlorella sp*) ; antibiotiques (P : pénicilline, S : streptomycine, Sulf : sulfamerazine, Fur : furanace) et pourcentage de larves oeillées.

Un changement d'eau total a lieu tous les deux jours. Les larves sont alors récupérées dans des concentrateurs en PVC munis de toile plancton, dont la maille varie en fonction de la taille moyenne des larves, de manière à éliminer les plus petites. Les mailles utilisées sont les suivantes :

- 48 microns jusqu'au 6ème jour
- 65 microns le 8ème jour
- 85 microns le 10ème jour
- 100 microns du 12ème au 18ème jour
- 207 microns le 20ème jour.

.../...



Lors du changement d'eau, le bac est lavé à l'eau douce et au savon, les larves récupérées sont mises dans un seau de 10 litres et deux prélèvements de 1 ml sont effectués pour les comptages et les mensurations.

Au point de vue nourriture, plusieurs mélanges d'algues unicellulaires ont été essayés (tableau 1) :

- mélange *Isochrysis* sp., *Monochrysis lutheri* à 25 000 cellules de chaque espèce par ml ;
- mélange *Isochrysis* sp., *Monochrysis lutheri* à 50 000 cellules de chaque espèce par ml ;
- mélange *Isochrysis* sp., *Pseudoisochrysis paradoxa*, *Chlorella* sp., en proportion telle que le volume de matériel cellulaire soit identique pour chaque espèce. Ce mélange correspond à une concentration totale d'environ 100 000 cellules/ml.

Les algues sont produites suivant la méthode du bloom dans deux salles à température constante : l'une à 20° pour *Monochrysis*, l'autre à 25° pour *Isochrysis* et *Tetraselmis* qui sont des algues isolées localement. Les volumes de production sont des cylindres de 110 litres en polyester (feuille translucide armée de fibre de verre, épaisseur 1 mm), inoculés à partir de cultures effectuées par augmentations successives de volumes depuis la souche conservée en tube à essais (150 ml, 3 l et 20 l). Les densités moyennes obtenues sont de  $6.10^6$   $\phi$ /ml pour *Monochrysis*,  $8.10^6$   $\phi$ /ml pour *Isochrysis* et  $1,5.10^6$   $\phi$ /ml pour *Tetraselmis*. L'ensemble du processus dure 8 à 10 jours. Le milieu utilisé est le milieu de Conway. Les deux salles permettent d'avoir en production environ 600 litres.

Les comptages d'algues sont effectués au microscope avec une cellule de Malassez. La nourriture n'est distribuée que toutes les 48 heures après le changement d'eau.

Toutefois, au cours de l'essai 2, des comptages de contrôle ont été effectués entre deux changements d'eau, c'est-à-dire au bout de 24 heures.

Tous les élevages sont traités par un antifongique, le Tréflan : 0,005 ml de Trifluraline (produit actif) dissous dans 1 litre d'eau et distribué au goutte à goutte. Ce produit est actif sur des champignons du genre *Lagenidium* et *Sirolopidium* (ARMSTRONG, 1975 ; AQUACOP, 1977 b), ce dernier étant décrit par LOOSANOFF (1969) comme responsable de mortalités massives dans des élevages de bivalves.

Les élevages sont également traités aux antibiotiques (tableau 1) :

- mélange Pénicilline-Streptomycine : 12 500 UI, 10 mg/1/24 heures ;
- Furanace : 0,5 mg/1/48 heures ;
- Sulfamerazine : 15 mg/1/48 heures ;
- Pénicilline-Streptomycine (12 500 UI, 10 mg/1) pendant 6 jours, puis Sulfamerazine (15 mg/1) jusqu'à la fixation.

.../...



Au cours de l'élevage 4, des comptages bactériens ont été effectués sur gélose nutritive à 12‰ et sur gélose de Zobell à 30‰. Les comptages sont exprimés en nombre de colonies 24 heures après ensemencement et multipliés par la dilution effectuée.

La fixation se fait sur brisures de coquille calibrées entre 300 et 500 microns, ce qui permet de produire du naissain libre sans opération de détachement. Les caisses de fixations sont en contreplaqué résiné, rectangulaire, de 40 x 30 x 15 cm. Le fond est en toile plancton de 207 microns. La caisse est introduite directement dans le bac d'élevage (4 caisses par bac) au moment de la fixation. 100 000 larves sont mises à fixer par caisse avec 40 g de brisure représentant environ 5 particules/larves. Un "air-lift" assure la circulation de l'eau entre le bac et la caisse (figure 2). Plusieurs types de brisures ont été utilisés :

- brisure de coquilles d'huître *C. gigas* qui est blanche et en paillettes ;
- brisure de coquilles de nacres, *Pinotada margaritifera* qui est noire et arrondie ;
- mélange d'huître et nacre ;
- sable corallien.

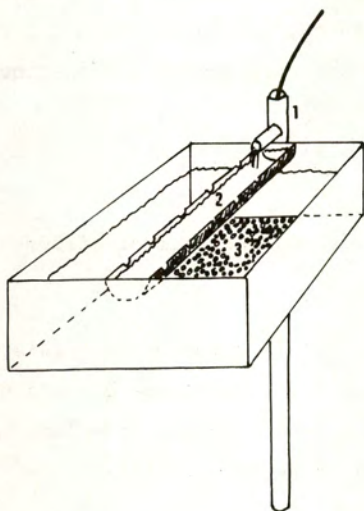


FIGURE 2 : Caisse de fixation.

1. "air-lift"
2. gouttière de distribution de l'eau
3. fond de la caisse en toile plancton 207  $\mu$  recouverte de brisures de coquille.

Lors de l'élevage 4, des coquilles entières de bénitiers, *Tridacna maxima*, ont été utilisées comme témoin. Elles sont enfilées sur une cordelette de nylon et immergées directement dans le bac.

## RESULTATS.

### Ponte et fécondation.

La maturation est obtenue d'une façon continue en saison chaude (28-30°) ou froide (25-26°) pour les huîtres alimentées sur bloom de diatomées (*Nitzschia*, *Navicula*, *Chaetoceros*, .../...



*Rhizosolenia*, *Thalassiosira*, etc...) provenant du bassin à crevettes. Les huîtres gardées en petits bacs et nourries sur *Isochrysis* sp. et *Tetraselmis tetraathele* ont montré peu ou pas de signe de maturation.

Une femelle de 20 g donne plusieurs millions d'oeufs et le pourcentage de fécondation est toujours très élevé (supérieur à 90 %). Les mauvaises fécondations parfois constatées sont toujours dues à un manque de maturité des produits sexuels. Cela a lieu principalement lorsque les chocs thermiques sont sans résultat et que les géniteurs sont alors ouverts de façon à prélever directement les produits génitaux dans la gonade. Cette manière de procéder aboutit le plus souvent à un pourcentage très élevé de larves D anormales.

#### Elevage larvaire.

##### Densité initiale de larves :

Ce facteur a été étudié au cours de l'élevage n° 1 (voir tableau 1) : le bac F recevant une densité initiale de 9 000 larves/litre est arrêté le 9ème jour, les larves n'ayant pas évolué et étant mortes. Par contre, les bacs A et D à 3 000 larves/litre et recevant par ailleurs la même nourriture et le même traitement antibiotique donnent chacun 5 % de larves oeillées.

##### Nourriture :

Deux régimes alimentaires qualitativement différents ont été essayés lors de l'élevage n° 3 (tableau 1).

Dans les 3 bacs nourris sur le mélange *Isochrysis* sp. *Pseudoisochrysis paradoxa* et *Chlorella* sp., aucune larve oeillée n'a été obtenue et ceci quelque soit le traitement antibiotique utilisé. Par contre, les 3 bacs recevant le mélange *Isochrysis* sp., *Monochrysis lutheri* ont abouti à la production de larves oeillées.

Du point de vue quantitatif, les résultats de l'élevage n° 4 (tableau 1) ne montrent pas de différence significative entre les bacs recevant  $10^5$  cellules/ml et les bacs recevant  $5 \cdot 10^4$  cellules/ml.

Lors de l'élevage n° 2, les comptages effectués 24 heures après le changement d'eau (tableau 2), montrent qu'il n'est pas nécessaire d'augmenter la fréquence de distribution des algues, la concentration restant toujours voisine ou supérieure à la concentration initiale.

##### Traitements antibiotiques :

Le tableau 3 regroupe les bacs comparables en densité de larves et en nourriture et ayant reçu des traitements antibiotiques différents.

Le bac n'ayant reçu aucun traitement est arrêté le 8ème jour, les larves n'évoluant pas. Les bacs traités au mélange Pénicilline-Streptomycine donnent des pourcentages de larves oeillées compris entre 2 et 6 %.

.../...



Date	Comptages en $\text{C}/\text{ml}$			
	BAC F		BAC B	
	t : 0	t : 24 h	t : 0	t : 24 h
27.09.76	50 000			
28.09.76		40 000	50 000	
29.09.76	50 000			55 000
30.09.76		72 000	50 000	
1.10.76	50 000			76 000
2.10.76		92 000	50 000	
3.10.76	50 000			40 000
4.10.76		36 000	50 000	
5.10.76	50 000			72 000
6.10.76		84 000	50 000	
7.10.76	50 000			64 000
8.10.76		56 000	50 000	

TABLEAU 2 : Concentration en algues dans deux bacs au cours de l'élevage n° 2.  
t : 0 : concentration initiale après changement d'eau ; t : 24 h : concentration 24 h après changement d'eau.

Bacs	Traitements	% larves oeillées
B n° 1	Sans	Arrêt le 8ème jour
A n° 1	P - S	5
D n° 1	P - S	5
B n° 2	P - S	2
C n° 2	P - S	4,5
A n° 3	P - S	2
E n° 3	P - S	6
B n° 4	P - S	Arrêt le 20ème jour
F n° 2	Sulf	12,2
C n° 3	Sulf	18,2
C n° 4	P - S 6 j. puis Sulf	41
F n° 4	P - S 6 j. puis Sulf	32
D n° 4	P - S 6 j. puis Fur	19,4
E n° 4	P - S 6 j. puis Fur	11

TABLEAU 3 : Traitements antibiotiques et pourcentages de larves oeillées obtenues.  
P : Pénicilline ; S : Streptomycine ; Sulf : Sulfamerazine ; Fur : Furanace.

Ces pourcentages sont nettement meilleurs pour les bacs traités à la Sulfamerazine et surtout pour les bacs ayant été traités 6 jours au mélange Pénicilline-Streptomycine puis à la Sulfamerazine.

Les comptages bactériens effectués lors de l'élevage n° 4 (tableaux 4 et 5) montrent que les bacs traités au mélange Pénicilline-Streptomycine ont un niveau bactérien au bout de 48 heures beaucoup plus élevé que les bacs traités à la Sulfamerazine ou au Furanace.

#### Fixations (tableau 6).

250 000 naissains ont été produits lors de ces essais.

La comparaison des résultats obtenus avec les divers types de particules utilisées ne montre pas de différence importante.

Sur coquilles de bénitier, le pourcentage de fixation est nettement plus élevé, avoisinant 50 %.

.../...



Bac	Antibiotiques	Temps après renouvellement	
		0	48 h
A	P - S	3 800	140 000
B	P - S	640	190 000
C	Sulf	2 000	6 000
D	Fur	500	6 000
E	Fur	2 300	23 000
F	Sulf	700	5 100

TABLEAU 4 : Comptages bactériens sur gélose de Zobell à 30 %.

Bac	Antibiotiques	Temps après renouvellement d'eau			
		0	7 h	24 h	48 h
A	P - S	600	460	5 500	14 500
B	P - S				18 000
C	Sulf	200	2 000	2 500	2 900
D	Fur				4 600
E	Fur	500	1 400	1 000	1 400
F	Sulf				1 300

TABLEAU 5 : Comptages bactériens sur gélose nutritive à 12‰.

Nature du collecteur	% de fixations	
	Elevage n° 2	Elevage n° 4
Brisure huître	6,8	
Brisure nacre	23,4	9,8
Mélange huître-nacre	12,5	
Sable corallien		16,5
Coquille de bénitier		50

TABLEAU 6 : Pourcentage de fixation obtenu en fonction des différents types de collecteur.

.../...



## DISCUSSION.

### Ponte et fécondation.

De bonnes pontes et de bonnes fécondations ne sont obtenues que dans la mesure où l'on dispose de géniteurs arrivés à maturité complète. Il est donc indispensable de conserver les géniteurs dans des installations telles qu'ils puissent rester toute l'année en bonne condition (LOOSANOFF et DAVIS, 1963). C'est ce qui a été réalisé en maintenant les huîtres dans le bassin de 800 m<sup>3</sup>.

Toutefois, la difficulté d'intervention et de manipulation des animaux dans un bassin aussi important, a amené la construction de bassins de 15 m<sup>3</sup>. Situés en aval du bassin de 800 m<sup>3</sup>, ils sont alimentés par les eaux effluentes de ce dernier et ont les caractéristiques suivantes :

- Les parois sont recouvertes de plaques de fibre de verre de 1 mm de façon à faciliter le nettoyage.

- Le développement des algues vertes ou autres est limité par la diminution de l'intensité lumineuse : toit formé de lattes de bois rapprochées, recouvertes de tôles translucides et toile ombrage supplémentaire sur le bac de façon à couper la lumière.

- L'évacuation de Ø 100 permet une vidange rapide et une prise d'eau douce sous pression, facilite le nettoyage des dépôts sur les coquilles. Cette opération doit être effectuée tous les jours.

- La composition du phytoplancton provenant du bassin de crevette est importante. Un mélange de diatomées favorise fortement la croissance, alors que si les chlorelles prédominent, cette dernière s'arrête complètement. Le bassin de 800 m<sup>3</sup> (profondeur 2 m) est suivi quotidiennement et en cas de prolifération des chlorelles, l'eau est complètement changée par abaissement du niveau à 50 cm suivi d'un renouvellement rapide pendant 24 heures. Le niveau est ensuite remonté et généralement les diatomées repartent de nouveau. La circulation dans le bassin est assurée par des drains noyés dans le sédiment (gravier plus sable noir de rivière), l'eau circule de bas en haut et est évacuée par un trop-plein de surface. Ce taux de renouvellement doit rester élevé : plus de 50 %/jour sous peine de développement rapide des chlorelles. Aucune fertilisation artificielle n'est surajoutée à celle qui se produit naturellement en raison de l'excrétion des crevettes et de la distribution du granulé.

Dans ces conditions, maturation et pontes devraient être assurées toute l'année.

L'utilisation d'une éclosérie construite avec un toit translucide autorise l'action directe du soleil sur l'eau d'élevage et les larves. Aucune influence néfaste ne semble se produire, bien au contraire, puisque les algues profitent de cette lumière pour proliférer. Ceci paraît en contradiction avec l'utilisation conseillée d'éclosérie complètement fermée et d'élevage à l'obscurité.

.../...



La constante des paramètres physicochimiques de l'eau au cours de l'année, la charge très faible en matière organique et inorganique, permettent un traitement de l'eau simple puisque seul un filtre de 0,5  $\mu$  protégé par un filtre de 5  $\mu$  est utilisé.

Les bacs cylindro-coniques utilisés au C.O.P. pour les élevages de crustacés sont bien adaptés à l'élevage des mollusques. Le fond conique à forte pente permet au diffuseur d'air central un maximum d'efficacité et aucune zone morte ne se crée, vidange complète et nettoyage s'effectuant rapidement. Les installations de cette éclosérie sont donc particulièrement simples et font appel à un matériel standardisé.

La régulation de température par une circulation d'eau du lagon dans la double paroi est d'un emploi facile, particulièrement fiable.

#### Elevage larvaire.

##### Densité initiale de larves :

Les résultats obtenus lors de l'élevage n° 1 semblent nettement indiquer que la densité optimale est de 3 000 larves/litre. Ceci rejoint les résultats de WINDSOR et DUPUY (1976) qui préconisent pour *C. virginica* une densité identique.

Dans les conditions d'élevage du C.O.P., cette densité initiale permet de mettre en élevage  $2.10^6$  larves D par bac.

##### Nourriture :

Les nombreux auteurs qui se sont penchés sur le problème de la nutrition des larves de bivalves en élevage sont d'accord pour reconnaître la supériorité de flagellés nus tels que *Isochrysis*, *Monochrysis* (DAVIS, 1950, 1953 ; DAVIS et GUILLARD, 1958).

Au cours des 4 séries d'élevage réalisées, c'est effectivement le mélange *Isochrysis-Monochrysis* qui s'est révélé le meilleur.

Le mélange *Isochrysis-Pseudoisochrysis* et *Chlorelles* n'a pas fourni les résultats espérés, la présence des *Chlorelles* pouvant expliquer les mortalités observées. LOOSANOFF *et al.* (1953), LOOSANOFF (1955) ont noté sur des élevages de *Mercenaria mercenaria* que de fortes concentrations de *Chlorelles* entraînaient la mort des larves.

Le mélange *Isochrysis-Monochrysis* semble donc convenir à la concentration de 50 000  $\mu$ /ml. Dans les conditions de nos élevages, en raison de l'éclaircissement et de la température, *Isochrysis sp.* qui est une espèce isolée localement, continue à se multiplier dans le bac, c'est ce que l'on voit très nettement dans les comptages effectués 24 heures après changement d'eau lors de l'élevage n° 2. Cela comporte deux avantages :

- diminution des besoins en algues de culture,
- algues présentant une meilleure qualité nutritive.



La concentration de 50 000 cellules/ml pour des élevages démarrant à 3 larves D/ml paraît donc optimum. D'après RHODES et LANDERS (1973), les besoins en algues augmentent en fonction de la taille des larves. Dans nos élevages, la concentration en larves passant de 3/ml au stade D à 1,5/ml au stade de larve oeuillée, la quantité d'algues disponible par larve est donc 2 fois plus forte à la fin de l'élevage : 17 000  $\phi$ /larve en début à 33 000  $\phi$ /larve à la fixation. Il est difficile de comparer les chiffres donnés par les différents auteurs, les conditions d'élevages étant très variables. En général, ces chiffres varient de 10 000  $\phi$ /larve à 60 000  $\phi$ /larve.

CALABRESE et DAVIS (1970) ont montré que des cultures d'algues utilisées pour nourrir des larves de bivalves pouvaient rapidement devenir toxiques si le niveau bactérien était trop élevé. Aussi les cultures ne sont utilisées que pendant 3 jours après une période de 3 jours de pousse.

#### Traitements antibiotiques :

Les différents traitements réalisés montrent que l'utilisation d'antibiotiques est nécessaire dans la technique d'élevage développée ici. En effet, les larves non traitées ont été rapidement éliminées confirmant les résultats des essais préliminaires. Par contre, les différents traitements essayés se sont montrés positifs.

WALNE (1966) avait obtenu de bons résultats sur *Ostrea edulis* avec le mélange Pénicilline-Streptomycine utilisé à des concentrations plus fortes (50 000 UI/l et 50 mg/l). Par contre, LE PENNEC et PRIEUR (1972) et LE PENNEC *et al.* (1973) ne notent aucune action de la Sulfamerazine sur des élevages de *Mytilus edulis*, mais les concentrations utilisées étaient de 0,5 mg/l, soit 30 fois plus faibles.

Dans les conditions de nos élevages (température  $\approx$  28° C), il semble que la séquence Pénicilline-Streptomycine pendant 6 jours, puis Sulfamerazine donne actuellement les meilleurs résultats : les larves s'alimentent bien et aucun arrêt de croissance, ni apparition de larves anormales n'ont été notés.

#### Fixations :

La technique retenue pour la fixation a l'avantage de fournir du naissain libre sans nécessiter d'opération de détachage. Il suffit, quelques jours après la fixation d'un tamisage sur 500 microns pour récupérer le naissain qui a rapidement grossi. Les problèmes rencontrés sont surtout d'ordre technique au niveau de la circulation de l'eau dans les cagettes de fixation et des turbulences plus ou moins grandes, engendrées par cette circulation. Collage des larves sur les parois et nage en groupe à la surface.

Dans le bac témoin, les coquilles de bénitiers enfilées sur des cordelettes nylon et immergées dans le bac, ont collecté 50 % des larves en 24 heures, principalement à la face inférieure des coquilles, en zone de moindre turbulence et d'obscurité maximale. Il apparaît

.../...



donc que les caquettes dans leur condition actuelle d'emploi sont loin d'être au point, puisque les fixations obtenues sont nettement moins élevées et s'étalent sur une période plus longue.

En effet, au cours des différents essais de fixation sur brisure, la moyenne de fixation n'est que de 10 %. La nature de la brisure elle-même semble peu intervenir, toutefois la brisure de nacre paraît donner des résultats légèrement supérieurs. Son principal avantage est de présenter des particules arrondies, donc mieux calibrées, facilitant la récupération du naissain lors du tamisage sur 500 microns. C'est au niveau de la forme des caquettes, de leur profondeur, des zones d'ombrage et du système de circulation de l'eau que les améliorations devront être apportées.

#### CONCLUSION.

Les différents essais réalisés au C.O.P. représentent la première étape vers la mise au point d'une technique d'élevage de larves d'huîtres *C. gigas* applicable par la suite à une éclosérie de production en milieu tropical.

L'éclosérie expérimentale avec 6 bacs de 800 litres a une capacité théorique de production de  $3.10^6$  naissains par mois, en comptant 50 % de larves mises à fixer et 50 % de fixation ( $2.10^6$  larves D par bac). L'élevage larvaire paraît d'ores et déjà reproductible, par contre, la fixation demande des améliorations importantes.

Cette technique, en faible volume, fait appel à du matériel standard (bacs, concentrateurs, circuit d'eau) ayant déjà fait ses preuves dans des élevages de *Macrobrachium* et de Penaeides (AQUACOP, 1977 a et c). Il semble donc possible d'inclure la production de naissain de *C. gigas* dans une éclosérie polyvalente, ce qui devrait réduire considérablement le coût de production.

Les conditions en Polynésie sont telles qu'on peut envisager une production sur 10 mois de l'année. *C. gigas* n'existant pas naturellement en Polynésie Française, une telle éclosérie pourrait facilement approvisionner les ostréiculteurs locaux en naissain de 4 à 5 mm dont les besoins sont estimés à  $5.10^6$ /an pour satisfaire le marché local. Les premiers essais de grossissement réalisés à Tahaa sont très encourageants : du naissain de 54 mg immergé en décembre 1976 atteignait en mars 1977, soit après 3 mois, le poids moyen de 11,4 g. Il reste à savoir si les mortalités enregistrées dans les essais effectués dans d'autres îles du Pacifique se reproduiront ou si ces dernières ne sont dues qu'à des déficiences saisonnières en phytoplancton de qualité convenable, ce que semblent prouver les croissances obtenues en bacs contrôlés.

.../...



BIBLIOGRAPHIE.

- AQUACOP, 1977 a. *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) culture in Polynesia : progress in developing a mass intensive larval rearing in clear water. Eighth Workshop of World Mariculture Society, Costa Rica, 10-13 janvier 1977.
- AQUACOP, 1977 b. Observations on diseases of Crustacean cultures in Polynesia. Eighth Workshop of World Mariculture Society, Costa Rica, 10-13 janvier 1977.
- AQUACOP, 1977 c. Reproduction in captivity and growth of *Penaeus monodon* Fabricius in Polynésie. Eighth Workshop of World Mariculture Society, Costa Rica, 10-13 janvier 1977.
- ARMSTRONG, D., 1975. A fungal disease in laboratory reared larvae of the Dungeness Crab *Cancer magister* and possible chemical treatment. First Workshop on the Pathology and Toxicology of Penaeid shrimp. Galveston, 1975.
- CALABRESE, A. and H.C. DAVIS, 1970. Tolerances and requirements of embryos and larvae of bivalve molluscs. Helgoländer Wiss. Meeresunters., 20 : 553-564.
- DAVIS, H.C., 1950. On food requirements of larvae of *Ostrea virginica*. Anat. Rec., 108 : 132-133.
- DAVIS, H.C., 1953. On food and feeding of larvae of the American oyster, *C. virginica*. Biol. Bull., 104 : 334-350.
- DAVIS, H.C. and R.R. GUILLARD, 1958. Relative value of ten genera of micro-organisms as food for oyster and clams larvae. U.S. Fish Wildl. Serv. Fish. Bull., 58 : 293-304.
- LE PENNEC, M. et D. PRIEUR, 1972. Développement larvaire de *Mytilus edulis* (L.) en présence d'antibiotiques. 1ère partie : détermination des concentrations actives non toxiques de quatre antibiotiques, Aureomycine, Erythromycine, Chloramphenicol et Sulfamerazine. Rev. Intern. Oceanogr. Med., 28 : 167-179.
- LE PENNEC, M., D. PRIEUR et P. CHARDY, 1973. Développement larvaire de *Mytilus edulis* (L.) en présence d'antibiotiques. 2ème partie : action sur la croissance de quatre antibiotiques : Aureomycine, Erythromycine, Chloramphenicol et Sulfamerazine. Rev. Intern. Oceanogr. Med., 30 : 115-137.
- LOOSANOFF, V.L., 1969. Development of shellfish culture techniques. Proceedings of the Conference on Artificial Propagation of Commercially Valuable Shellfish - Oysters. October 22-30. pp. 9-40.
- LOOSANOFF, V.L. and H.C. DAVIS, 1963. Rearing of bivalve molluscs. In : Advances in Marine Biology, F.S. Russel Ed., Academic Press, Inc. London, Vol. I, 1-136.
- LOOSANOFF, V.L., C. DAVIS and P.E. CHANLEY, 1953. Behavior of clam larvae in different concentrations of food organisms. Anat. Rec., 117 : 586-587.
- LOOSANOFF, V.L., 1955. Food requirements of some bivalve larvae. Proc. Nat. Shell Fish. Assoc., 45 : 66-83.

.../...



- MILLAUD, S., 1971. Etude sur une huître comestible de la Polynésie Française. Rapport n° 2/OS/Pêche - Service de la Pêche - Polynésie Française.
- MILLAUD, S., 1975. *In* Salvat B. et C. Rives. Coquillages de Polynésie, les Editions du Pacifique. 391 p.
- RHODES, E.W. and W.S. LANDERS, 1973. Growth of oyster larvae, *Crassostrea virginica*, of various sizes in different concentrations of the Chrysophyte, *Isochrysis galbana*. Proc. Nat. Shellfish. Ass., 63 : 53-59.
- WALNE, P.R., 1966. Experiments in the large scale culture of the larvae of *Ostrea edulis* (L.). Fishery Invest., Lond., Ser. 2, 25 (4) : 53 p.
- WALNE, P.R. and B.E. SPENCER, 1971. The introduction of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) into the United Kingdom. Shellfish. Inform. Leaflet, Ministry of Agric., Fish. and Food, n° 21, 8 p.
- WINDSOR, N.T. and J.L. DUPUY, 1976. Some spatial and nutritional effects on the culturing of the larvae of *Crassostrea virginica*, the American oyster. 68th Joint Annual SINA-NSA Meeting, Miami, 21-23 June 1976.



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4 : 347-351.

### HATCHERY TECHNIQUES FOR A CONTROLLED ENVIRONMENT MOLLUSCAN MARICULTURAL SYSTEM.

by

Gary D. PRUDER, Ellis T. BOLTON and Charles E. EPIFANIO

College of Marine Studies, University of Delaware, Lewes, Delaware 19958, U.S.A.

#### ABSTRACT.

*The hatchery operation which is part of the Delaware controlled environment system is reliable and trouble free. An abundant supply of quality food is necessary to operate a successful hatchery. The broodstock, larvae, spat and juveniles all receive the same two-part algal diet. The temperature for all except the broodstock is 27-29° C. Sexually mature 16 week oysters are being considered as broodstock. "Astroturf" is being considered as a setting substrate. No assurance exist that our hatchery product which excels within the system would succeed in natural planting.*

#### RESUME.

*L'écloserie, qui forme l'un des éléments du système d'élevage de mollusques en environnement contrôlé de l'Université de Delaware, est fiable et fonctionne sans problème. Un succès en matière d'écloserie nécessite un approvisionnement abondant en nourriture de bonne qualité. Le stock de reproducteurs, le naissain, et les juvéniles reçoivent tous le même régime algal, en deux éléments. La température, sauf pour les reproducteurs, est fixée entre 27 et 29° C. Des huîtres de 16 semaines, à maturité sexuelle, sont considérées comme des reproducteurs. Le substrat de fixation employé est de l'"astroturf". Il n'est cependant pas prouvé que notre produit, parfait dans le cadre du système employé, le serait aussi dans les conditions naturelles.*

.../...



INTRODUCTION.

Scientists and engineers of the University of Delaware are developing a controlled environment system for rearing commercially desirable bivalve molluscs from egg to marketable size (PRUDER et al., 1976, 1977 ; PRICE et al., 1976). Included within the system is a modest hatchery operation involving the maintenance and conditioning of broodstock, spawning, rearing of larvae, and the setting, rearing, and harvest of spat. We utilize the basic procedures and hardware of DUPUY (1971) with some modification, and provide for the project needs on a routine and practically trouble-free basis. An abundant supply of high quality food is essential to the success of the controlled environment system including the hatchery. This paper describes our procedures and experience with *Crassostrea virginica* (Gmelin), the American oyster.

BROODSTOCK.

Our current broodstock comprise about thirty 40-50 gram oysters held at 18° C in 400 l flume tank. The water is changed and the tank and animals washed every other day. These oysters are fed a two part algal diet of *Thalassiosira pseudonana* (3H) and *Isochrysis galbana* in equal parts by cell count. The quantity of algal cells fed is given by the following expression (figure 1).

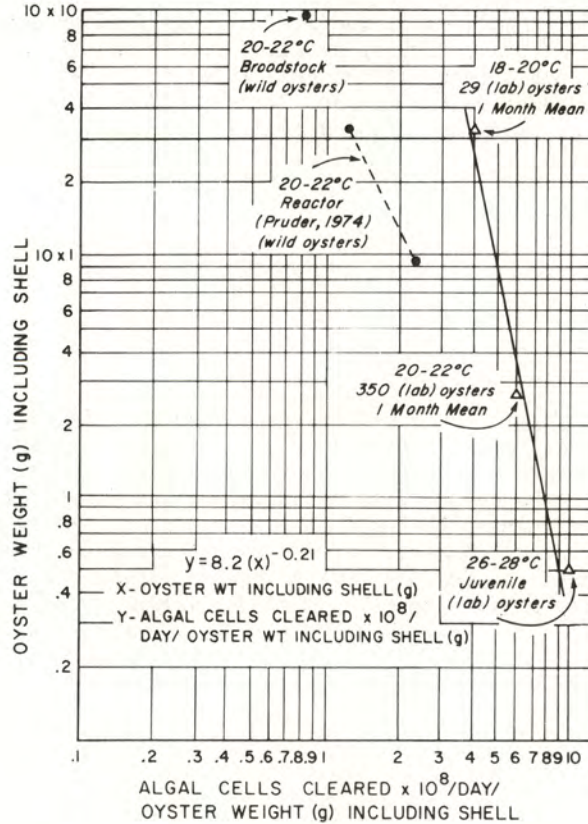


FIGURE 1 : Relationship between number of algal cells cleared and oyster weight for laboratory spawned and reared oysters.

.../...



$$Y = 8.2 (x)^{-0.21}$$

Y = number of algal cells  $10^8$ /day/gram oyster weight including shell  
x = gram individual oyster weight including shell

Algae are added to the broodstock in two or three feedings per day. Tank algal concentration is in excess of  $.25 \times 10^6$  cells/L. We have not been successful with continuous feeding at low alga concentrations.

Recently we have produced sexually mature oysters at sixteen weeks of age from setting. Utilizing much smaller brood animals will greatly increase the number that can be supported on a given food supply. It has direct implication in breeding and genetic work with three generations per year a real possibility. The use of *T. pseudonana* as the sole food appears to increase the rate of gonadal development and decrease the rate of shell elaboration. Both phenomena offer advantages to broodstock.

It has been our experience that well fed oysters condition easily and hold their ripeness. Lack of good food supply will cause inconsistency in hatchery operations.

#### SPAWNING.

The spawning techniques in our laboratory for *Crassostrea virginica* are quite routine. The oysters are taken from the broodstock tank and placed in running seawater (27 - 29°C). Spawning usually will occur within one hour. If necessary stripped sperm are presented to the oyster which triggers spawning. Spawning males and females are separated and sperm and eggs are collected. We have experienced little if any difficulty with polyspermy, and therefore the sperm and eggs are not counted nor mixed with precision. The fertilization of eggs is confirmed by microscope within thirty minutes. The fertilized eggs are transferred into larval rearing cones. Since our needs are small the fertilized eggs produced from a single pair of oysters are sufficient for a given spawn. We spawn oysters about once a month on a year round basis.

#### REARING OF LARVAE.

The fertilized eggs are added to 400 l larval cones at a concentration of approximately 60 larvae per milliliter. The seawater, filtered thru a 5  $\mu$  bag, is held at 27° C to 29° C. No food is added to the cone the first twenty-four hours. After that 4 liters of an algal mix of *T. pseudonana* and *I. galbana*, three to five million cells/ml, are added to the cone each day. The water and larvae are removed from the cone every other day. The larvae are separated from the water by fine mesh screen suspended in a breaker box.

In eleven to eighteen days the larvae that will not pass thru a 212  $\mu$  screen and have developed a black spot "eye" are transferred to setting trays. The free swimming larvae are thinned throughout the larval growth period so that by setting time the concentration is down to 2 larvae/ml. Note that the broodstock and larvae share identical diets and both do very nicely.

.../...



#### SETTING.

The "eyed" larvae are transferred to setting trays developed by DUPUY. The trays measure 45 cm to 57 cm x 10 cm deep. The larvae attach to the matte side of the polyester film. We use commercially available drafting film from Hercules, Inc. The number of spat per sheet range from 2 000 to 10,000 depending upon the application. The temperature is held at 27-29° C, same as for the larvae. The setting sheet ("cultch") is horizontal with gravity moving the larvae in the direction of the setting surface. Usually the larvae are added to the setting tray late in the afternoon and the polyester film is removed in the morning. The film sheets are mounted back in frames and suspended vertically in spat tanks.

Recently we have floated "astroturf" material in the water in the setting trays. A heavy set was achieved and this method may replace the polyester film procedures since excellent oyster growth and easy harvesting were experienced with "astroturf".

Commercial hatcheries in the United States general utilize only the fastest growing larvae for set. The slower growing larvae are disposed of. This is based upon the presumption that fast growing larvae yield fast growing juveniles and slow growing larvae yield slow growing juveniles.

#### REARING SPAT.

Whether the spat were set on polyester film or "astroturf" they are transferred to 400 liter spat tanks with the water temperature maintained at 27 - 29° C. The spat, like the broodstock and the larvae, are fed a mixed diet of *T. pseudonana* and *I. galbana* at concentrations of up to  $1 \times 10^6$  cells/ml. The growth is very rapid with oysters reaching 2.0 cm in four weeks. The water is changed every other day and the tank and animals washed.

Initially the "astroturf" must be weighted to keep it submerged. However, the oysters soon provide sufficient weight and the external weight can be removed.

The spat in our laboratory are used solely in controlled environment systems. Whether or not they would succeed in natural planting has not been determined. We have shown that slow growing larvae grow well in our system and in 8 weeks after setting are indistinguishable from the fast growing larvae of the same spawn. This may not be the case with oysters subjected to stress and selective pressures of the natural environment.

Oysters can be left on the sheet until they reach marketable size. However they have an undesirable flat shape. If an oyster is removed from the sheet and placed on a tray cupping will occur and a deep oyster will be produced. We suggest that cupping of oysters can be encouraged or discouraged depending upon the physical environmental condition to which they are subjected.



#### SPAT HARVEST.

The harvest technique for spat on polyester film involves the folding of the film over a sharp edge. The oysters can be forced off the sheet. Commonly considerable fracture of the flat valve occurs. However, the oyster repairs the damage very rapidly in our system. Very seldom have mortalities occurred after spat harvest. If the spat set has been heavy the individuals will be attached to each other and must be separated.

The "astroturf" spat harvest is much simpler and causes little if any damage to the oysters. The young oysters cup while attached to the turf. The natural adhesive does not hold tightly to this material.

#### ACKNOWLEDGEMENTS.

We wish to express our appreciation to Mr. Earl GREENHAUGH for his considerable technical assistance in this development effort, to Mr. Jan SICK for preparing the figures, and Ms. Lena WATTS for typing. This work is the result of research sponsored by NOAA Office of Sea Grant, Department of Commerce, and by the State of Delaware.

#### BIBLIOGRAPHY.

- DUPUY, J.L., S. RIVKIN and F.D. OTT, 1973. A new type of oyster hatchery. Proceedings of the Fourth Annual World Mariculture Society, Monterrey, Mexico. January 23-26, 1976. 353-363 pp.
- PRICE, K.S., M.R. CARRIKER, C.E. EPIFANIO, R.F. SRNA, G.D. PRUDER, E.T. BOLTON and K.P. SMITH, 1976. Mariculture in controlled environment seawater systems. A review of research at the University of Delaware (1968-1975). FAO Technical Conference on Aquaculture, Kyoto, Japan, May 26-June 2, 1976. 5 pp.
- PRUDER, G.D., E. BOLTON, E.F. GREENHAUGH and R. BAGGLEY, 1976. Engineering aspects of bivalve molluscan mariculture : progress at Delaware 1975. Proceedings Seventh Annual Meeting World Mariculture Society, San Diego, California. January 25-29, 1976. DEL-SG-11-76.
- PRUDER, G.D., E.T. BOLTON and S.F. FAUNCE, 1977. System configuration and performance bivalve molluscan mariculture. Proceedings of the Eighth Annual Meeting World Mariculture Society, San Jose, Costa Rica, January 9-13, 1977. DEL-SG-1-77. 21 pp.



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de colloques du C.N.E.X.O., 4 : 353-360.

L'ÉCLOSERIE-NURSERIE DE LA SATMAR  
ET LES POSSIBILITES ACTUELLES DE PRODUCTION  
DE NAISSAIN DE MOLLUSQUES BIVALVES.

par

Yves LE BORGNE +

S.A.T.M.A.R., La Saline, 50760 Barfleur, France.

ABSTRACT.

The SATMAR hatchery-nursery is in operation since 1973 with 11 employees. The production reaches 10 million of newly settled spat per week. The species reared are : Crassostrea gigas, Ostrea edulis, Mercenaria mercenaria, Venerupis decussata, Venerupis semidecussata, Venus verrucosa.

SATMAR cooperates with the shellfish farmers by supplying them with the necessary spat (for instance clams) and with the research laboratories (taking part in the ECOTRON program set up by CNEXO in 1975 and 1976).

RESUME.

L'écloserie-nurserie de la Société Atlantique de Mariculture fonctionne depuis 1973 et emploie 11 personnes. La production atteint 10 millions de post-larves par semaine. Les espèces produites sont : Crassostrea gigas, Ostrea edulis, Mercenaria mercenaria, Venerupis decussata, Venerupis semidecussata, Venus verrucosa.

La SATMAR coopère avec la profession conchylicole en fournissant le naissain indispensable (c'est le cas des palourdes) et avec les laboratoires de recherche (participation au programme ECOTRON 1975 et 1976 établi par le CNEXO).

.../...

---

+ Directeur technique SATMAR.



La Société Atlantique de Mariculture est constituée depuis 1972 à partir de capitaux privés dans le but de réaliser la production industrielle de naissains de mollusques bivalves.

#### CARACTERISTIQUES DU MILIEU D'IMPLANTATION DU LABORATOIRE.

##### Situation et site.

Le laboratoire se trouve à la pointe Nord-Est du Cotentin, à 30 km de Cherbourg et à 3 km de Barfleur. Le centre ostréicole le plus proche, Saint-Vaast-la-Hougue, est à 13 km.

Le bâtiment est construit sur une dune qui sépare la mer d'un plan d'eau de 3 ha, la "Saline". Une digue fermée par une vanne permet d'y maintenir un niveau moyen d'un mètre en faisant entrer l'eau extérieure pour des marées de coefficient supérieur à 60. Deux petits cours d'eaux s'y déversent en période de pluie. Les terrains voisins sont occupés par des prairies ou des cultures maraîchères.

##### L'approvisionnement du laboratoire en eau de mer.

Il y a une double origine : d'une part la côte Est qui permet d'obtenir une eau du large, d'autre part la saline qui fournit une eau riche en nourriture pour le naissain.

En mer fonctionnent une pompe immergée de 15 CV distante du rivage de 300 m et une pompe aspirante de 7 CV éloignée de 450 m.

L'eau de la saline arrive aux installations grâce à deux pompes immergées de 8 CV.

##### Le traitement de l'eau de mer.

L'eau utilisée à l'extérieur du laboratoire pour la nurserie ne subit pas de traitement particulier mais à l'intérieur trois cas sont à envisager.

Après une filtration grossière par filtre sac qui est commune pour toute l'eau qui va être utilisée, l'eau est reprise par trois pompes qui alimenteront soit la partie phytoplancton, soit la partie larves, soit la partie naissain.

Pour le phytoplancton l'eau est filtrée à 1  $\mu$ , pour les larves elle est filtrée à 5  $\mu$  puis chauffée jusqu'à 25-28° dans des échangeurs à tube pyrex tandis que pour le naissain elle est suivant les besoins passée dans un filtre à sable puis chauffée à 20°.

#### LES MOYENS.

##### Le matériel.

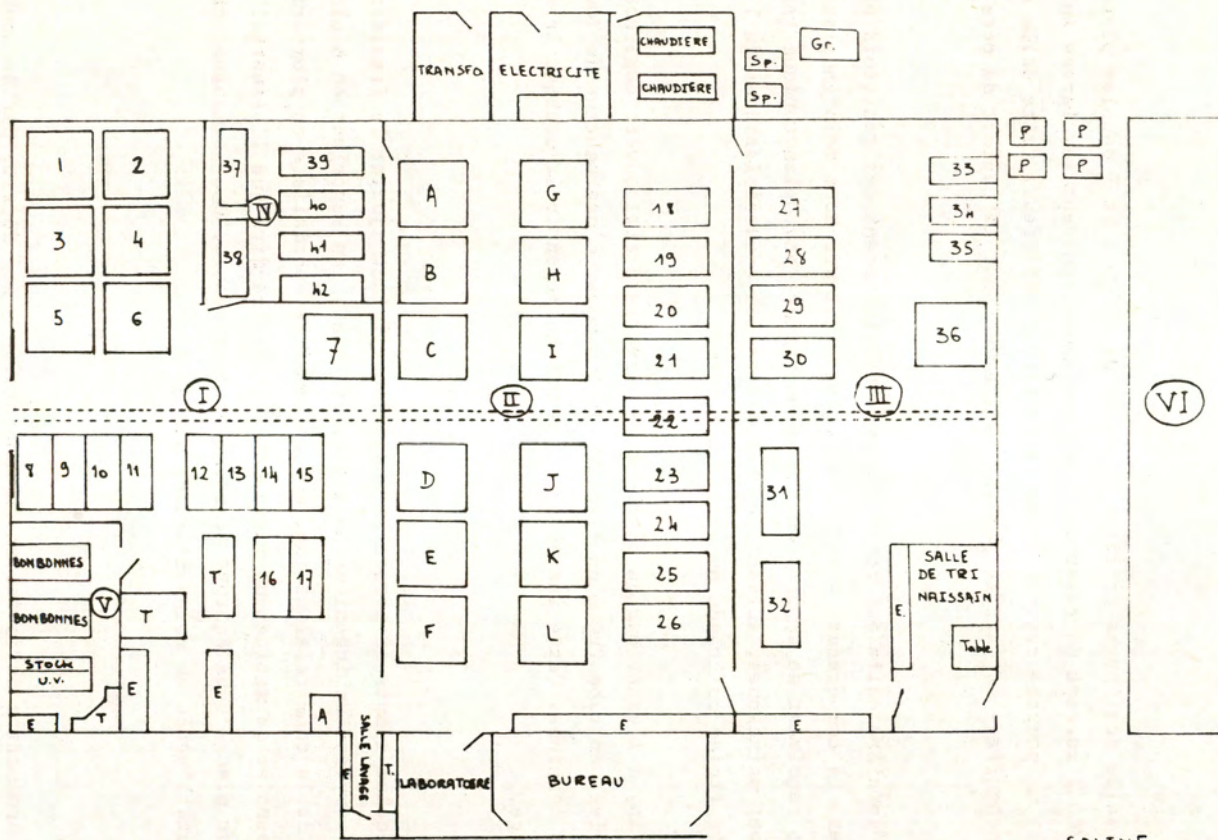
Le bâtiment de 880 m<sup>2</sup> est divisé en trois parties dont les températures ambiantes sont différentes.

.../...



PLAN D'ENSEMBLE DU LABORATOIRE

- I. Salle d'Algues
  - II. Salle Larves
  - III. Salles
  - IV. Naissain
  - V. Salle repiquages
  - VI. Installation de grossissement (extérieur)
- 1.6. Bacs Algues 5000 P.
  - 7. Bac rinsage 5000 P.
  - 8-17. Bacs algues 1500 P.
  - A. L. Bac larves 7000 P.
  - 18-26. Systèmes pour la fixation
  - 27-30. Circuits continus chaud
  - 31-32. Circuits continus froid
  - 33-35. Conditionnement adultes
  - 36. Circuit semi-ouvert
  - 37-42. Circuit fermé
- T. Tables
  - E. Etagères
  - P. Pompes
  - Gr. Groupe électrogène
  - Sp. Surpresseurs
  - A. Autoclave



↑ MER ↑  
P P

SALINE  
P P  
↓ ↓



La partie réservée aux cultures d'algues comprend une salle climatisée à 20°C et contenant les cultures en petits volumes (Erlenmeyer de 500 ml et bonbonnes pyrex de 18 l). Le reste de l'espace est consacré aux bacs de 1 700 l et aux grands volumes de 5 000 litres. La répartition en volumes est ainsi faite : 130 bonbonnes de 18 l, 8 bacs de 1 700 l, 6 bacs de 5 000 l.

La salle des larves contient 12 cuves de 7 000 l et 9 doubles plateaux posés sur 9 cuves de 1 700 l servant de réservoir. Ces plateaux reçoivent les larves au moment de la métamorphose et un pompage recycle l'eau du réservoir inférieur. Cette salle est climatisée à 25° mais le chauffage est arrêté pendant la journée pour le confort du personnel qui y travaille.

La dernière salle est consacrée au conditionnement des géniteurs et à la croissance des post-larves. La température y est de 18°. Les géniteurs sont maintenus en circuit ouvert réglé à 20° et reçoivent un apport continu de nourriture phytoplanctonique tandis que les post-larves sont maintenues, suivant les besoins et les caractéristiques de l'eau extérieure, en eau courante froide ou chaude ou en circuit fermé.

Enfin, à l'extérieur du bâtiment la nurserie à ciel ouvert comprend actuellement 200 tamis réalisés en tube PVC d'un diamètre de 500 mm et d'une hauteur de 500 mm alimentés en circulation continue. Cette installation va prochainement voir doubler le nombre de ses unités d'élevage.

#### Le personnel.

L'équipe compte 10 personnes auxquelles il faut ajouter le Président Directeur Général. Elle comprend un ingénieur halieute, un technicien supérieur en biologie, une secrétaire chargée de la commercialisation, un contremaître spécialiste en plomberie, un électricien, un charpentier de marine, un maçon, etc... c'est-à-dire que l'essentiel de la formation est assurée sur place. Deux équipes se relaient pour assurer une permanence car l'écloserie fonctionne toute l'année au moins 8 heures par jour.

#### LA PRODUCTION.

La production de juvéniles en laboratoire a été décrite par de nombreux auteurs depuis plusieurs années ou même dizaines d'années et pourtant de nombreuses écloseries ont dû fermer à la suite de leur incapacité à fournir des quantités suffisantes de naissain : tous les problèmes ne sont donc pas résolus. S'il est en effet relativement facile d'obtenir quelques milliers d'individus d'une espèce donnée, des problèmes apparaissent quand il s'agit de produire des dizaines de millions d'animaux pendant plusieurs mois consécutifs.

Ces problèmes concernent l'approvisionnement en eau et en nourriture mais surtout les épidémies qui peuvent se propager très rapidement parmi les larves ou le naissain et anéantir toute la production.

.../...



Comme la solution idéale ne semble pas encore avoir été découverte (si l'on considère les résultats des écloséries existant actuellement dans le monde) il faut donc sans cesse affiner les techniques pour contourner les difficultés rencontrées.

#### Production phytoplanctonique.

C'est une des premières étapes à maîtriser. Dans le cas de la SATMAR la capacité de production est supérieure aux besoins du laboratoire et le volume consacré aux cultures a été volontairement réduit. Il est obtenu quotidiennement 12 bonbonnes de 18 litres, 2 bacs de 1 700 l et un bac de 5 000 l de solution algale d'une densité de plusieurs millions de cellules au millilitre.

Les espèces principalement utilisées sont :

- Monochrysis lutheri*
- Isochrysis galbana*
- Pseudoisochrysis paradoxa*
- Thalassiosira pseudonana* (*Cyclotella nana*)
- Skeletonema costatum*
- Chaetoceros calcitrans*

#### Production en larves.

La concentration larvaire est de 5/ml en début d'élevage et 1/ml au moment de la métamorphose. A ce dernier stade la capacité théorique totale des cuves de larves est encore de 80 millions de larves.

Les résultats obtenus pour les élevages larvaires à 25° sont les suivants :

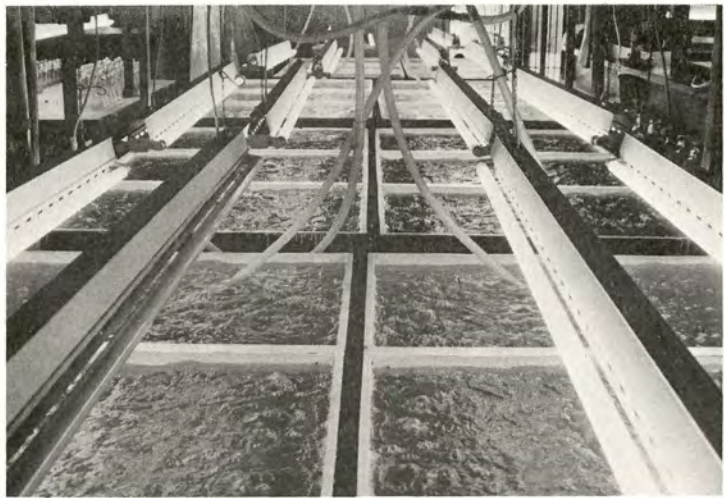
- *Crassostrea gigas* : 30 % des larves initiales atteignent le stade de la métamorphose en 15 à 18 jours, le reste des larves est volontairement éliminé par tamisage.
- *Ostrea edulis* : 80 % des larves émises atteignent la métamorphose en 8 à 10 jours.
- *Mercenaria mercenaria* : 80 - 90 % des larves atteignent la métamorphose en 15 jours.
- *Venerupis decussata* et *Venerupis semidecussata* : 80 - 90 % des larves arrivent à la métamorphose en 15 jours.
- *Venus verrucosa* : (un seul élevage réalisé à ce jour) : 70 % des larves atteignent la métamorphose en 12 jours.

Depuis octobre 1976 tous les élevages larvaires entrepris ont été menés à bien suivant les modalités ainsi décrites ; 211 millions de larves sont parvenues à la métamorphose pendant cette période.

.../...



*Cultures d'algues  
en volumes de 1 500 l.*



*Naissain d'huîtres plates  
Ostrea edulis produit par la  
SATMAR.*

*Naissain de palourdes  
Venerupis semidecussata  
produit par la SATMAR.*





### Production en naissain.

La métamorphose : les neuf plateaux qui lui sont réservés peuvent recevoir chacun 2 à 4 millions de larves. La métamorphose dure de 1 à 5 jours avec un succès variable selon les espèces : 70 % pour *C. gigas*, 90 % pour *O. edulis*, 100 % pour *M. mercenaria*, 20 à 80 % pour *V. semidecussata*, 60 % pour *Venus verrucosa*.

Tout ceci a pour résultat la production de dizaines de millions de post-larves d'une taille de 300  $\mu$  à 600  $\mu$ ... qui ne sont cependant pas encore commercialisables par les écloséries. Il faut ajouter un à six mois d'élevage avant la vente du produit et cette période pose encore de gros problèmes.

En effet, si la résistance du naissain aux épidémies augmente généralement avec sa taille, les quantités d'eau et de nourriture nécessaires à son élevage augmentent également dans des proportions énormes. Par exemple si des améliorations techniques ont permis d'assurer actuellement une production de 10 millions de post-larves par semaine, les installations de la nurserie extérieure ne peuvent pour l'instant accueillir que 15 millions de naissain de 2 mm.

Il reste donc un important champ d'investigations dans ce domaine car si la survie des post-larves était assurée à 50 % jusqu'à une taille de 8 mm une éclosérie comme celle de la SATMAR produirait en 8 mois de l'année 150 millions de naissains de cette taille. Ces taux de survie s'obtiennent pour certains lots et notre problème actuel est de les étendre à l'ensemble de la production.

En 1976 la technique appliquée aux élevages larvaires n'était pas fiable et la production a été de 10 millions de naissains de palourdes *V. semidecussata*, 3 millions d'*O. edulis* variété "pied-de-cheval", 5 millions d'*O. edulis*, 3 millions de *C. gigas* et 2 millions de *M. mercenaria*

Compte tenu des très bons résultats obtenus pour les larves, en 1977 la production devrait nettement dépasser ces chiffres.

### CONCLUSION.

#### Rôle des écloséries.

Avec une production ne dépassant pas dans le meilleur des cas la centaine de millions de naissains de taille commercialisable, une éclosérie peut sembler devoir jouer un rôle marginal dans un marché qui atteint en France 2 milliards d'unités. Il faut cependant tenir compte des caractéristiques particulières de la production des écloséries.

a/ Elles peuvent fournir des individus de petite taille facilement transportables sur de très longues distances sans majoration importante du prix : 100 000 naissains de 2 mm ne pèsent pas plus d'1 kg.

.../...



b/ Elles fournissent des lots de taille homogène, où le nombre de naissains est connu avec précision, ce qui permet une meilleure gestion des stocks.

c/ Dans le cas des huîtres il s'agit de naissain en "une à une", ce qui supprime les opérations de détroquage qui exigent beaucoup de main-d'oeuvre.

d/ La période de vente est étalée sur une durée plus longue que celle du naissain capté en mer, ce qui permet une meilleure adaptation aux conditions locales de "pousse" des centres ostréicoles, en vue d'obtenir la taille désirée pour la vente à la période choisie.

e/ La production en laboratoire permet de choisir avec précision les géniteurs selon les critères retenus (origine géographique, variété, etc...)

f/ Les écloseries permettent d'obtenir du naissain d'espèces non fixées comme les vénériidés pour lesquelles toute collecte de naissain est problématique.

En France par exemple la SATMAR permet un renouveau de l'élevage des palourdes en fournissant aux professionnels des millions de naissains que la pêche ne pourrait procurer. On doit également envisager de suppléer à la production naturelle quand celle-ci est insuffisante à la suite de conditions défavorables. C'est le cas des huîtres certaines années, des coquilles St-Jacques, des praires. Certains envisagent aussi de recréer des bancs naturels devenus improductifs à la suite d'une trop grande dispersion des reproducteurs en concentrant en certains points les animaux obtenus en écloserie.

Enfin dans le cas d'épizootie frappant toute une espèce comme ce fut le cas de *Crassostrea angulata*, tous les moyens doivent être mis en oeuvre pour fournir aux professionnels le naissain d'une autre espèce afin qu'ils puissent poursuivre leurs activités.

Les écloseries sont un prolongement naturel des laboratoires marins car elles fournissent quotidiennement un champ d'expérimentation unique par la dimension de l'échantillon qui peut être pris en considération. En 1975 et 1977 la SATMAR a ainsi participé au programme ECOTRON établi par le CNEXO en étudiant d'une part les cultures phytoplanctoniques monospécifiques en volumes importants, et d'autre part la comparaison du grossissement de naissains de bivalves en eau de mer et en eau lagunaire.

L'écloserie-nurserie est donc un auxiliaire indispensable de la profession conchylicole et un outil de travail pour la connaissance des phénomènes de biologie marine.



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4 : 361-370.

CULTURE OF ALGAE FOR FEEDING LARVAL AND JUVENILE MOLLUSCS  
IN CONTROLLED AQUACULTURE

by

Ravenna UKELES

National Marine Fisheries Service, Northeast Fisheries Center, Milford Laboratory, Milford,  
Connecticut 06460, U.S.A.

ABSTRACT.

*The commercial controlled aquaculture of molluscs requires that simple inexpensive techniques be available for the large-scale culture of unicellular algal foods. Larval and juvenile stages consume large quantities of specific species of unicellular algae as a source of nutrition. Methods of culturing these food sources at the Milford Laboratory and elsewhere are discussed. Recent work that is directed at assisting hatcheries with programs of controlled algal culture is presented. The two areas of experimentation are : (1) the cryopreservation of axenic algal strains by freezing in liquid nitrogen for long-term storage, and (2) the culture of algae in a seawater medium with low levels of phosphate, nitrate and vitamin enrichment to effect a cost reduction in the operation.*

RESUME.

*L'aquaculture commerciale contrôlée des mollusques demande que des techniques de production à grande échelle, simples et économiques, d'algues unicellulaires soient disponibles. Les stades larvaires et juvéniles consomment de grandes quantités d'espèces particulières d'algues unicellulaires comme source alimentaire. Les méthodes de culture de ces aliments employées au laboratoire de Milford et ailleurs sont discutées. Les travaux récents, qui ont été orientés vers l'assistance aux écloséries avec des programmes de cultures d'algues contrôlées, sont présentés. Les deux domaines d'expérimentation sont : (1) la cryopréservation de souches axéniques par congélation dans l'azote liquide, pour stockage de longue durée, et (2) la culture en eau de mer dans des milieux à faibles taux de phosphates, nitrates, et vitamines, pour réduire les coûts de production.*



## INTRODUCTION.

In 1973 Idyll stated that since a number of distinctly different procedures are referred to as aquaculture (or mariculture), care should be taken to define the process with each use of the term so that confusion in communication is avoided. This author classified aquaculture into four major types; the method I will refer to in this discussion falls into the fourth and, what he considers, the most sophisticated type. This procedure is one in which brood stocks of adult animals conditioned for spawning are induced to release their eggs and sperm in the controlled environment of a laboratory or hatchery. Fertilized eggs are reared through the larval stages to metamorphosis in containers of various sizes at an optimum temperature with a regime of water changes and controlled feedings (see details in Loosanoff and Davis, 1963). Seed are maintained in the hatchery until they reach an appropriate size for placing outdoors in an estuary. This is the procedure practiced in coastal regions of the United States for aquaculture of the American oyster, Crassostrea virginica, and the hard clam, Mercenaria mercenaria.

The availability of a system that provides larval and juvenile molluscs with a source of nutrition is essential to this type of aquaculture. The fact that unicellular algae serve as satisfactory food sources for normal growth and development of molluscan larvae has been known for some time (see Review, Ukeles, 1971). The technology of culturing algae for this purpose has oftentimes been considered a serious impediment to the development of commercial aquaculture to its fullest potential. A prototype model for algal food culture was developed at the Milford laboratory, which has had wide application in research and commercial molluscan aquaculture. In accordance with the avowed purpose of this meeting, i.e., to report on methodologies significant to the rearing of brood stocks and juveniles in controlled farming, I will describe the salient points of our methods and discuss some results of recent research.

At the outset, I would like to say a few words about our philosophic attitude to a practical problem. Given the correct physical conditions (illumination, temperature, pH control, O<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub> concentrations, salinity) and chemical conditions (source of N, P, minerals, growth factors) in the absence of competitors or toxic chemicals, unicellular algal populations usually will be stimulated to increase in cell numbers. Some methods of algal culture are sophisticated and some simple, often seeming to be more of an art than a science. In the past and even now, the culture of unicellular algae is sometimes carried out under rough and undefined conditions. Although these methods appear at times to yield satisfactory results, there can be no long-range benefit to this type of work. For successful development



of molluscan aquaculture, the most important criteria in the production of food cultures must be good yields in the absence of potentially toxic chemicals, and the reliability and reproducibility of the harvest. If problems arise, it should be possible to isolate and examine all factors involved so that the source of the difficulty can be identified and corrected. Such a capability is, in my opinion, far more important for the future of aquaculture than sporadic high yields of food cultures and molluscan growth obtained in undefined systems.

Before discussing the methods developed and now in use at the Milford laboratory, I would like to mention briefly some other procedures that also have been used to produce foods for molluscs in aquaculture.

#### Past and Present Methods of Food Culture.

In 1942, large volumes of algae were cultured outdoors in a 3000-gallon tank containing untreated seawater enriched with garden fertilizer (Loosanoff and Engle, 1942). This method was simple, inexpensive, and often produced high yields. However, the phytoplankton composition in the culture tank was often erratic and not suitable as food for larval or juvenile molluscs. A later development in outdoor culture, utilizing sunlight as an energy source, was more controlled and more successful (Ukeles, 1965). Fiberglass tanks containing an enriched artificial seawater medium were inoculated with a laboratory culture of a particular algal species of either larval or juvenile food organisms. This system was satisfactory but the cost benefit of utilizing sunlight and simple equipment over electric illumination and expensive temperature control was partially lost in the cost of the artificial sea salts. Recent work in culturing algae on sewage effluent (Ryther et al., 1972) may eventually become a useful method but, at present, the possibility of introducing non-degradable pollutants and viruses to the food chain presents a danger (Vaughn and Ryther, 1974). Another method of outdoor culture that has received attention in recent years is one in which naturally rich water, obtained by an artificial upwelling process, is used as a culture medium (Roels et al., 1971; Sunderlin et al., 1975). While this method avoids some of the previously mentioned pitfalls, the great expense of engineering and the limited geographical sites to which the method is applicable do suggest that it will not be universally practical.

A procedure known as the Glancy method was popular for a short while in some Long Island hatcheries and is still used in certain isolated locations (Castagna, 1975). This procedure relies on the natural population of phytoplankton as food. Seawater is clarified



of large particulates by centrifugation or filtration and the natural phytoplankton encouraged to "bloom" under sunlight and slightly elevated temperature in a greenhouse type of location (Glancy, 1965). The advantage of this method is that the problems and expense of algal culture are avoided. However, at certain times of the year and in certain locations the production of phytoplankton foods is not reliable enough for commercial aquaculture.

#### Milford Laboratory Methods.

Work at the Milford laboratory has been directed toward the culture of selected algal species experimentally determined to be good food sources. We prefer to work along the lines of classical culture techniques with some necessary adaptations for the mass culture requirements of hatcheries. Commercial hatcheries have adapted and extrapolated these procedures with success, but certain aspects have often been identified as problem areas for hatcheries. Two of these are: techniques of pure stock culture maintenance and the cost of nutrient enrichments for algal cultures. Culture methodologies now being used will be discussed, followed by some aspects of our work in progress that is addressing itself to the above-mentioned problems.

All strains of unicellular algae are maintained as axenic stock cultures in an illuminated incubator at 20°C. We developed a system of sequentially increasing volumes of container sizes for stock cultures so that the culture system producing foods can be rapidly accelerated, allowed to remain stationary, or diminished as the demand for food cells varies from time to time. Glassware is washed in dilute detergent solution, thoroughly rinsed, and steam-sterilized. The growth medium is either steam- or filter-sterilized. We utilize Erdshreiber medium for diatom cultures and an enriched seawater (E) formulation (see Ukeles, 1971) for other species. The liquid growth medium is prepared in 150-mm test tubes, 125-ml or 50-ml Erlenmeyer flasks, and 3-liter Fernbach flasks. Stock cultures are also maintained as streaks on the surface of solid media made with an agar base in the enriched natural seawater. Cultures are periodically subcultured on a schedule of 4-8 weeks during which tests are conducted for bacterial contamination. Incubation takes place at 20°C and illumination with cool-white fluorescent lamps. The largest volume of stock culture (1,500 ml in Fernbach flasks) is utilized for inoculating carboys in the main food production unit. Axenic cultures in Fernbach flasks are always available for several species. These will remain in good condition for as long as 4 months without shaking or supplementary aeration if care is taken to provide a good surface-to-volume relationship in each flask.



The next stage in the process of food production is the inoculation of 5-gallon (18-liter) Pyrex carboys. Similar carboys of 4 or 9 liters can also be used when space in a large autoclave is not available. Carboys are outfitted with a rubber stopper containing several openings, one of which is an inoculating port. A sterilized carboy is inoculated through this port with approximately 3 liters of dense Fernbach flask culture and sterile growth medium. The glassware and inoculation procedures have been described in detail (Ukeles, 1973). Illuminated culture carboys are incubated at  $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}$ , and allowed to increase in density. After about 10 days of incubation, harvesting of cultures through the outflow siphon takes place on a predetermined schedule. Our practice is to harvest about 1/2 the volume of the carboy once or twice a week and store harvested cultures in a refrigerator ( $5^{\circ}\text{C}$ ) for several days. During this period, aliquots are removed to feed (daily) the larval or young juvenile molluscs. The carboy cultures are maintained as semi-continuous cultures, i.e., the harvested volume is replaced with sterilized growth medium. Carboy cultures are tested for bacterial contamination weekly and carboys that appear to be bacterized under conditions of our test are removed from the system. This occurs infrequently, at which time the bacterized culture is replaced with sterile carboys and reinoculated. The following species have been cultured in this carboy system: larval foods, Monochrysis lutheri, Isochrysis galbana, and Dicrateria sp; juvenile foods, Phaeodactylum tricornutum, Dunaliella euchlora, Cryptomonas sp, Chlorella sp, and Platymonas sp.

Open 1500-liter tank cultures of mixed algal species are also maintained in the laboratory at  $20^{\circ}\text{C}$  as a food supply for juvenile and adult animals. The medium is an enriched commercial artificial seawater (Rila Marine Mix, Rila Products, Teaneck, N. J.) (Ukeles, 1971); cultures are artificially illuminated and aerated. The algae are cultured for a few days until a good density is achieved and then allowed to flow by gravity feed into animal holding trays at a constant flow rate of about 300-400 ml/min. No attempt is made to maintain these tank cultures for more than 1 week so that extensive deterioration and contamination are avoided. After each tank is emptied it is washed and a new culture started.

#### Commercial Hatcheries

In commercial hatcheries the volume of food needed to supply larval and juvenile populations is usually much greater than can be supplied by carboy cultures alone. Therefore, open fiberglass tanks of several-thousand-gallon capacities, illuminated by fluorescent lamps, are used as culture containers. Natural seawater is filtered and enriched with



nutrients. Cultures remain relatively clean if they are aerated, illuminated, rapidly moved to larval tanks, and consumed. Juvenile food cultures are sprayed continuously over spat-holding trays or tanks. Oyster seed of several millimeters, as well as adult animals, are almost always placed outdoors in a sheltered bay where they grow and survive on natural phytoplankton.

Axenic Stock Culture Maintenance

Recent work in our laboratory is directed towards the previously mentioned problems. Maintaining a source of pure algal cultures may be facilitated by the method developed for culturing algae on substrates of paper moistened with culture media (Ukeles and Bishop, 1976). The advantages of this method for commercial hatcheries are several: a minimum amount of skill and equipment is needed - a small sterilizer or pressure cooker, small dishes or test tubes, small volumes of growth media, and filter paper (which may be purchased pre-sterilized). Another advantage is that long-term storage of viable cultures is possible, thus avoiding the time-consuming process of frequent subculturing, as well as the danger of potential contamination.

Experiments are now in progress to investigate the potential of cryopreservation of algal cells as another method for the long-term preservation of viable axenic strains. Although this study is still in progress (details will be published elsewhere), the preliminary results are encouraging. With appropriate cryoprotectorants, the following species have been preserved in liquid nitrogen at -60° C and also stored at -70° C (table I) : *Chlorella autotrophica*, *Phaeodactylum tricorutum*, *Tetraselmis maculata*, and *Chlorococcum* sp.

Test species	Cryoprotective agents		
	1% skim milk	10% dimethyl sulfoxide (DMS)	5% glycerol
<u>Phaeodactylum tricorutum</u>	0	0*	+
<u>Chlorella autotrophica</u>	+	+	+
<u>Chlorococcum</u> sp	0	+	0
<u>Isochrysis galbana</u>	0	0**	±
<u>Tetraselmis maculata</u>	0	+	0

TABLE I : Survival after freezing at -60° C and storing at -70° C for as days.  
 + *P. tricorutum* survives freezing in 1 %, 5 % and 10 % dimethyl sulfoxide before storing.  
 ++ *I. galbana* partially survives freezing in 5 % DMS. .../...



### Growth Medium

The cost of producing juvenile and larval foods on a commercial scale can present a formidable economic problem for a small hatchery. A considerable part of this expense is due to the cost of the nutrient enrichment in the algal growth medium, particularly the vitamins. Some years ago we attempted to adapt several strains of algae to concentrations of vitamins lower than normally used. It was possible to culture several juvenile algal foods in the absence of a vitamin supplement in an artificial seawater medium (ASP<sub>2</sub>, Provasoli et al., 1957). These strains have been periodically subcultured in this medium during the past five years and recently were introduced into an enriched natural seawater medium without vitamin supplements. Growth rates and maximum populations were slightly reduced from those observed in the presence of vitamins in almost all species studied but, in a few cases, no differences were noted (figure 1). Larval food species, as *M. lutheri* and *I. galbana*, have an absolute B<sub>12</sub> and thiamine requirement and, consequently, could not survive beyond the third subculture in the vitamin-depleted medium. Experiments have also been conducted to determine if larval and juvenile food species could be cultured in lower concentrations of phosphate and nitrate than normally used. Thus far, our results show that a 50% reduction in concentration of the KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (from 2 to 1 mg%) and NaNO<sub>3</sub> (from 30 to 15 mg%) can be tolerated by strains in vitamin-free (figure 2 A, B) and vitamin-enriched growth media (figure 3 A, B). Strains are now being maintained in reduced enrichment medium to determine if survival over a long period of subculturing will be satisfactory.

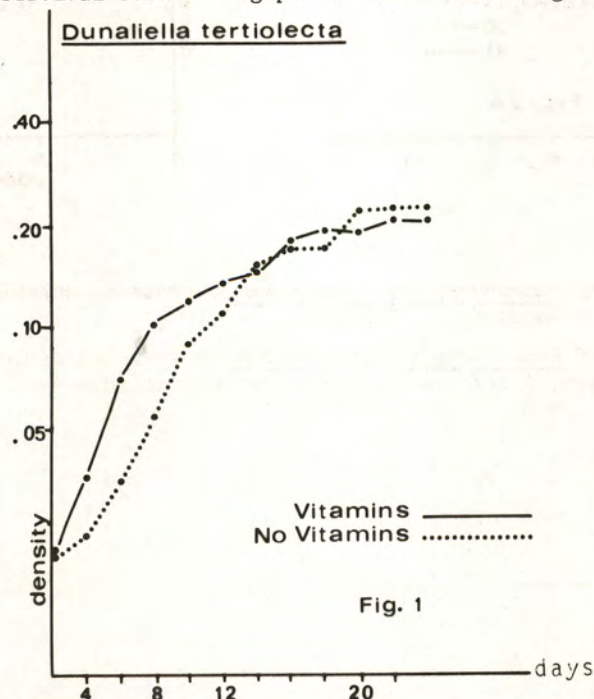


FIGURE 1 : Growth of *Dunaliella tertiolecta* in seawater media with and without vitamin enrichment (thiamine, B<sub>12</sub>, biotin)



Our work has led us to believe that pursuit of the culture of unicellular algae under controlled conditions can have a fundamental role in the successful development of molluscan aquaculture. These pigmented "protists" can have a significance in our efforts to increase the world's food supply through aquaculture similar to that which other microorganisms have had in medicine and industry.

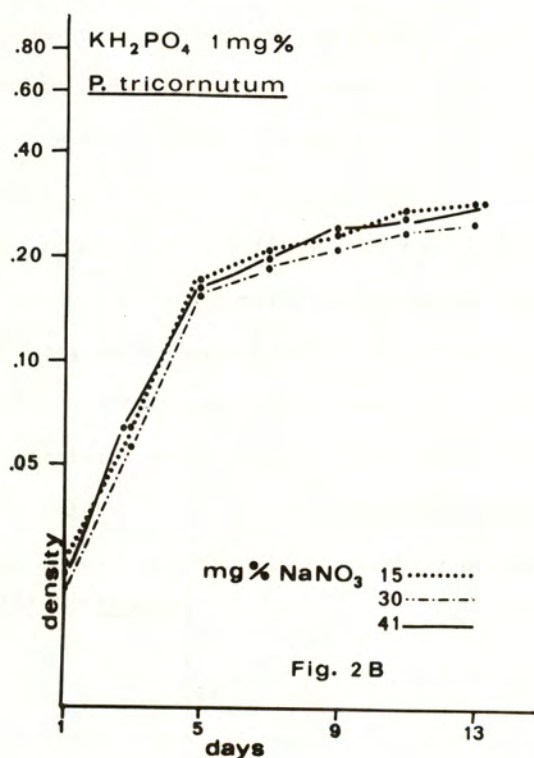
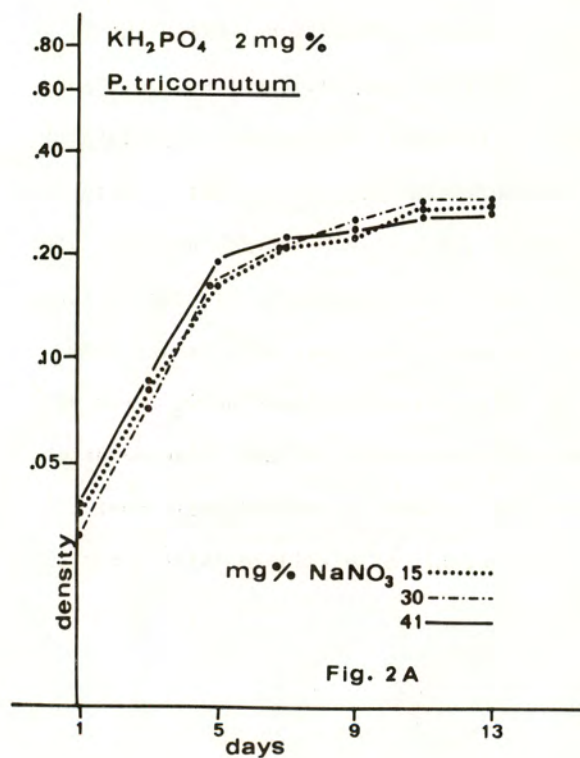


FIGURE 2 : (A) Growth of *Phaeodactylum tricornutum* in routine enriched seawater media with 2 mg% phosphate in 3 concentrations of nitrate.

(B) Growth of *Phaeodactylum tricornutum* in enriched seawater media with a reduced phosphate concentration in 3 different nitrate concentrations.



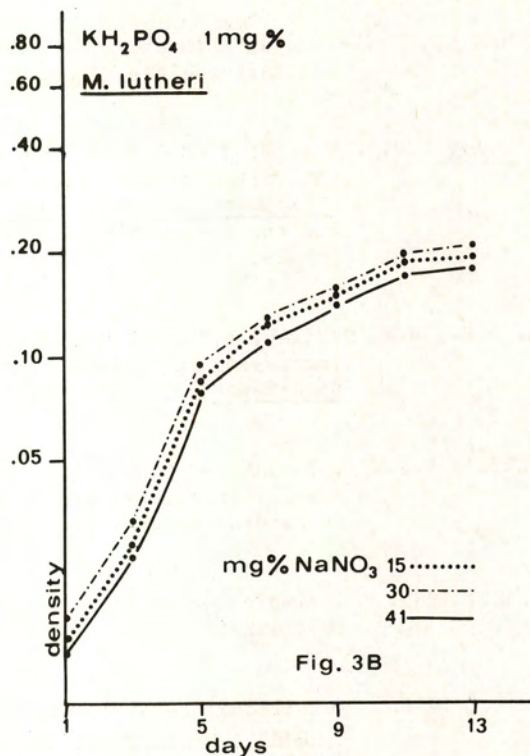
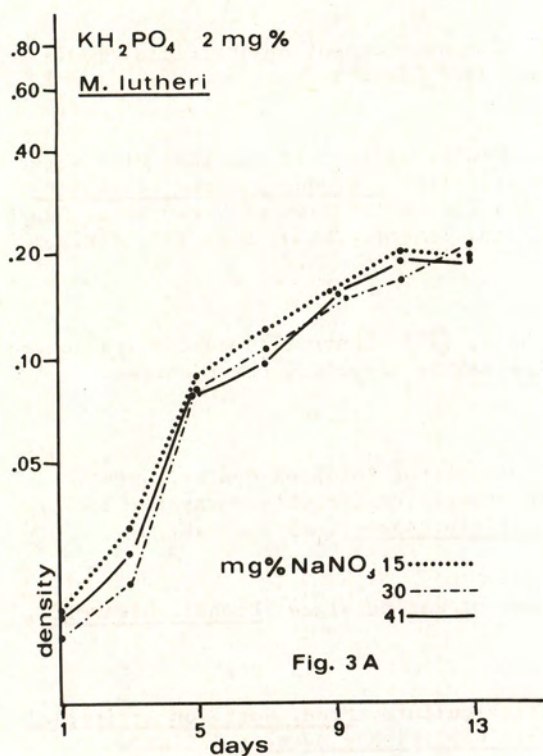


FIGURE 3 : (A) Growth of *Monochrysis lutheri* in routine enriched seawater media with 2 mg% phosphate in 3 concentrations of nitrate.

(B) Growth of *Monochrysis lutheri* in enriched seawater media with a reduced phosphate concentration in 3 different nitrate concentrations.

BIBLIOGRAPHY.

- CASTAGNA, M., 1975. Culture of the bay scallop *Argopecten irradians* in Virginia. Mar. Fish. Rev., 37 : 19-24.
- GLANCY, J.B., 1965. Method of raising shellfish seed in a simulated habitat. U.S. Patent Office, Patent N° 3,196,833.
- IDYLL, C.P., 1973. Marine aquaculture : problems and prospects. J. Fish. Res. Bd. Can., 30 : 2178-2183.
- LOOSANOFF, V.L. and H.C. DAVIS, 1963. Rearing of bivalve mollusks. Advances in Marine Biology (RUSSELL Ed.). Acad. Press., 1 : 1-136.

.../...



- LOOSANOFF, V.L. and J.B. ENGLE, 1942. Use of complete fertilizers in cultivation of microorganisms. Science, 95 : 487-488.
- PROVASOLI, L., J.J.A. McLAUGHLIN and M.R. DROOP, 1957. The development of artificial media for marine algae. Arch. Mikrobiol., 25 : 392-428.
- ROELS, O.A., L.V. VAN HEMELRIJCK, R.D. GERARD and J.L. WORZEL, 1971. Cold nutrient rich water : the most abundant resource of the deep sea. Colloque International sur l'Exploitation des Océans. Thème IV. The Exploration of Ocean Great Depths and the Possibilities of Exploitation. Tome 1. CNEXO, B.P. 107, Paris, France, 1-21.
- RYTHER, J.H., W.M. DUNSTAN, K.R. TENORE and J.E. HUGUENIN, 1972. Controlled eutrophication - increasing food production from the sea by recycling human wastes. BioScience, 22 : 144-152.
- SUNDERLIN, J.B., W.J. TOBIAS and O.A. ROELS, 1975. Growth of the European oyster, *Ostrea edulis*, in the St. Croix artificial upwelling mariculture system and in natural waters. Proc. Natl. Shellfish. Assoc., 65 : 43-48.
- UKELES, R., 1965. A simple method for the mass culture of marine algae. Limnol. Oceanogr., 10 : 492-495.
- UKELES, R., 1971. Nutritional requirements in shellfish culture. Proc. Conf. on Artificial Propagation of Commercially Valuable Shellfish - Oysters (PRICE and MAURER Ed.). Univ. Delaware, Newark, Delaware, 43-64.
- UKELES, R., 1973. Continuous culture - a method for the production of unicellular algal foods. Handbook of Phycological Methods (STEIN Ed.). Culture methods and growth measurements. Cambridge Univ. Press, 233-256.
- UKELES, R. and J. BISHOP, 1976. An unusual method for culture of unicellular marine algae. J. Phycol., 12 : 332-335.
- VAUGHN, J.M. and J.H. RYTHER, 1974. Bacteriophage survival patterns in tertiary sewage treatment - aquaculture model system. Aquaculture, 4 : 399-406.



**GENERAL**

*GENERAL*



3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.  
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4 : 371-381.

## OZONE AS A DISINFECTANT IN MARICULTURE

by

Walter J. BLOGOSLAWSKI

N.M.F.S., N.E.F.C., Milford Laboratory, Milford, Connecticut 06460, U.S.A.

### ABSTRACT.

Presently, many mariculture facilities may operate in a reduced manner because of the high cost and limited success of disease control measures. Cultured animals are exposed to conditions of crowding and inadequate nutrition not encountered in nature which promote or aggravate a disease outbreak. Culture disease may be introduced into the culture system through an infected wild animal or through the use of contaminated water for the maintenance of cultured fish or shellfish. Mariculture facilities which use contaminated water must find a reliable and economic method for seawater disinfection to prevent disease outbreaks.

Ozone gas is an effective seawater sterilant which kills bacteria, fungi, and viruses more rapidly than other oxidants. Its efficacy in microbial control has been applied to many areas in disease prevention, including improved water quality, rapid depuration for contaminated animals, and marine toxin inactivation.

The present paper reviews some applications of ozone technology for a mariculture operation.

### RESUME.

Beaucoup d'installations de mariculture peuvent actuellement être conduites à ne fonctionner que de manière réduite, à cause du coût élevé, et du succès limité des mesures de contrôle des maladies. En élevage, les animaux sont exposés à un entassement, et des conditions de nutrition inadéquates, qui ne se rencontrent pas dans la nature, et peuvent provoquer, ou aggraver, des crises pathologiques. Les maladies liées à l'élevage peuvent être introduites dans les systèmes par des animaux infectés, ou par l'emploi d'une eau contaminée. Pour se protéger, les installations de mariculture qui utilisent une eau contaminée doivent trouver une méthode de désinfection fiable et économique.

L'ozone est un stérilisateur de l'eau efficace, qui tue les bactéries, les champignons, et les virus plus rapidement que les autres oxydants. Son efficacité en matière de contrôle microbien a été appliquée en de nombreux endroits pour la prévention des maladies, l'amélioration de la qualité de l'eau, l'épuration rapide d'animaux contaminés, et l'inactivation de toxines marines.

Cet article présente quelques applications de la technologie de l'ozone dans des opérations de mariculture.

.../...



## INTRODUCTION.

The attempt to rear fish and shellfish commercially for food purposes has had limited success due to the inefficiency and cost of present disease-control procedures. It has been estimated that nearly one-third of every dollar spent raising fish is used for disease treatment (KLONTZ, 1972). Since fish pathogens have been shown to transfer resistance plasmids to human pathogenic bacteria, negating the usefulness of antibiotics in disease treatment (FALKOW, 1975), and because of the economic losses generated by disease treatment in mariculture facilities, methods of disease prevention should be implemented in these operations. According to SINDERMANN (1968), infectious diseases are often present in fish from natural habitats and can readily establish an epizootic condition in artificial environments where diseases are transmitted from fish to fish confined to a small body of water. In addition, diet deficiencies, poor water quality, and higher environmental temperatures may aggravate disease conditions in cultured species.

A primary disadvantage encountered by some mariculture operations has been the necessity of using chemically or microbially contaminated water for the hatchery, either because of location or economics. Mariculture facilities drawing their water from contaminated areas should employ the most thorough, yet economically feasible method of seawater disinfection available. Biofouling of the physical plant and water-caused diseases in the stocks are thereby prevented.

Ozone gas is an excellent means of seawater sterilization. An allotropic form of oxygen, ozone rapidly oxidizes organic compounds present in seawater reducing the biological and chemical oxygen demand of recycled seawater. It is an effective sterilant, killing bacteria, fungi, and viruses more rapidly than other oxidants (FAUVEL, 1963). An ozone disinfection system allows the mariculturist microbial control which provides an effective means of disease prevention, improved water quality, a method of rapid and effective depuration for contaminated animals, and a proven system for marine toxin inactivation.

## MICROBIAL CONTROL.

In 1929, H. VIOLLE of the University of Marseille, France, noted that ozone could be considered an excellent sterilant for water supplies. He was the first investigator to report that seawater can be very easily sterilized with ozone. In this paper, several experiments were described showing the disinfection of sealed tubes of seawater seeded with coliform bacteria and exposed to a stream of ozone. He found that ozone sterilized seawater seeded with around  $1 \times 10^6$  cells/ml in a maximum of eight minutes.

More recently, BLOGOSLAWSKI *et al.* (1975 a) constructed a pilot system to ozonize seawater (figure 1). While monitoring this system, total counts of marine bacteria were observed to decrease by three logs as ozone dosage was increased. At a dissolved ozone concentration of 0.56 mg/liter, no marine microorganisms were detected (figure 2).

.../...



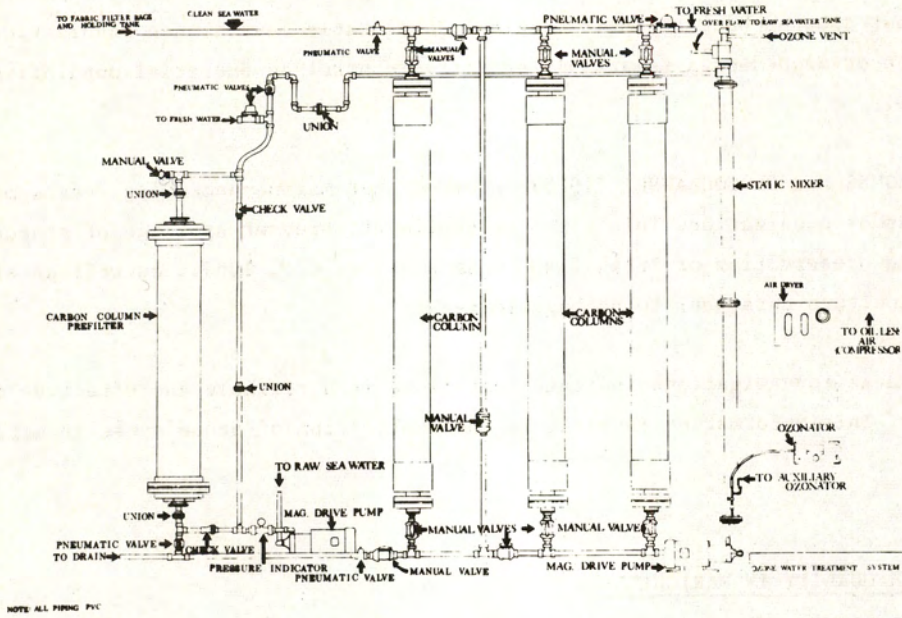


FIGURE 1 : Pilot system for seawater ozonization.

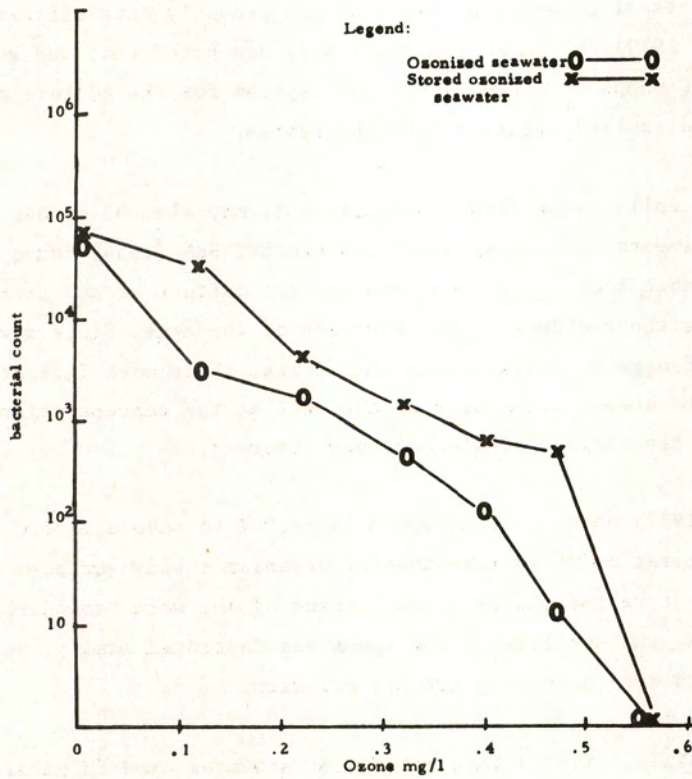


FIGURE 2 : Comparison of total plate count versus ozone concentration.

.../...



HONN and CHAVIN (1976), while using a closed, marine water system, found that bacterial populations increased greatly (from 1 to 3 logs within 24 hours), when ozonization was suspended, but dropped back to their original, acceptable levels when ozonization was resumed. They stated that ozone was a remarkably effective control on bacterial populations in a seawater system.

COMBS and BLOGOSLAWSKI (1975) reported that marine-occurring yeasts may be removed from seawater by ozonization. This might be applied to prevent spoilage of processed shellfish and assist in preservation of fresh fish (HARAGUCHI *et al.*, 1969), as well as eliminate exposure of mariculture personnel to pathogenic yeasts.

These investigations indicate that ozone is a reliable and effective disinfectant for seawater. This information is basic to the exploration of ozone's use in mariculture which now follows.

#### IMPROVE WATER QUALITY IN MARICULTURE.

Ozone has been acknowledged by several investigators as a reliable method for improving water quality in mariculture operations.

The degradation of dissolved organic compounds in a mariculture system may be accomplished by foam fractionation or oxidation (STOPKA, 1975). Ozone is more efficient than air in the oxidation of dissolved organic compounds and probably more efficient than air in ammonia removal (SPOTTE, 1970). H. BANKS EDWARDS (1974) has noted that the substitution of ozone for air in the lift pumps of a closed raceway system for the culture of penaeid shrimp effectively removes any dissolved organics from the system.

Ozone, in carefully controlled concentrations, may also be of use in the raising of marine animals for experimental purposes. GIESE and CHRISTENSEN (1954) found that ozonized seawater provided a suitable bacteria-free medium for the culture of sea urchin eggs (*Strongylocentrotus purpuratus*) without affecting the division of the eggs. Since division rates are excellent indicators of damage to nucleic acid components, their work indicated that ozone had not adversely affected the deeper structures of the cell at the concentrations used, though preliminary cytolysis on the surface of the eggs was observed.

TCHAKHOTINE (1937) noted that it would be useful to have a method which would allow the complete sterilization of an experimental organism's body surface. He used ozone bubbled into seawater to sterilize the external surface of the worm *Sabellaria*. In the course of his work, he found that the motility of the sperm was destroyed easily, permitting him to work with the unfertilized eggs necessary for his research.

SANDER and ROSENTHAL (1975) have noted that seawater used in mariculture facilities must be sterilized to prevent disease-causing organisms from entering the water system. After examining several alternate disinfection systems, they selected ozone as the most likely method  
.../...



to achieve successful sterilization without causing harm to the animals being cultured. In their paper, they reviewed several different methods of ozone-water contact systems. They found that sterilization could be achieved most effectively with a secondary ozone contact chamber. First stage ozonization removed large solids and proteinaceous organics by foam separation, while the second ozone stage provided complete sterilization.

HONN and CHAVIN (1976) have noted the need for a supplement to regular biological filtration in closed marine systems. Bacterial filtration is normally insufficient to cope with the large amounts of toxic ammoniacal and nitrogenous wastes which accumulate in such operations. In their study, they found that after increasing the biological load of the system, the filter bed became incapable of complete nitrification and the wastes reached the toxic stage within 24 hours. According to these authors, ozone was added to the system as a supplementary filtration method and found to be successful in rapidly stabilizing the system. They concluded that ozone increased oxidative "flexibility" in mariculture operations.

BLOGOSLAWSKI *et al.* (1975 a) constructed a seawater filtration system using ozone which effectively treated 13,000 gallons of seawater per day. A static contacting device allowed optimal ozone transfer and activated carbon filters removed all oxidized organic material. The ozonized seawater was sterilized and showed no ill effect to adult shellfish. However, the large ozone dose employed caused some abnormal mitotic division in oyster larvae and confirmatory studies concluded that ozone produces a residual which is detrimental to larval development when present in sufficiently high quantities (MACLEAN *et al.*, 1973). Similar results were noted by DEMANCHE *et al.* (1975) when they examined oyster larvae exposed to high levels of ozone. Later work has suggested that this residual is not ozone but a hypobromite ion formed during ozonization of seawater (MANGUM and MC ILHENNEY, 1975 ; BLOGOSLAWSKI *et al.*, 1976 ; PICHET and HURTUBISE, 1976). Similar toxic residuals have also been noted in seawater when chlorine is the applied oxidant (EPPLEY *et al.*, 1976 ; MACALADY *et al.*, 1977). Considering the long half-life of these toxic oxidant residuals (in excess of 24 hours), care must be taken not to exceed the dose required to produce them. Further, the design of mariculture facilities using ozone for water sterilization should incorporate methods of post-ozonization treatment for removal of these residuals. This precaution would permit the mariculturist to enjoy the benefits of the effective sterilizing action of ozone on seawater.

Ozone improves mariculture water quality through removal of organics and complete sterilization. Thus, water used in such a system will not adversely affect the health of the species being cultured. However, after ozone treatment, food nutrients, and other factors essential for growth and development must be incorporated into the system.

#### DISEASE PREVENTION MEASURES IN MARICULTURE OPERATIONS.

Animals which are held in close contact are more susceptible to diseases than animals in the wild. These diseases may be introduced by an infected animal or, more likely, by means of the water used to support the animals. A mariculture facility drawing its water from

.../...



a contaminated area must employ some method of disinfecting the water before supplying it to the cultured animals.

In a 1975 report, 2 German investigators, SANDER and ROSENTHAL, cited the specific need of mariculture facilities to sterilize their intake for disease prevention. To achieve this, they recommended ozone as the most efficient method.

A further application of ozone sterilization in mariculture is employed by the Monterey Abalone Farm (LOCKWOOD, pers. commun.<sup>+</sup>). There, algal mats, used as food for red abalone, are grown in large tanks of seawater sterilized by ozone, ensuring a food source uncontaminated by pathogenic bacteria for their cultured product.

Undesirable water conditions for mariculture are not always created by man. Blooms of toxic dinoflagellates occur periodically throughout the world in natural waters. These tiny toxic organisms, depending upon their species, can be concentrated in shellfish tissues causing the animals to become poisonous to man, or can act in such a manner so as to be lethal to fish. In 1962, LOOSANOFF reported that large blooms of *Prorocentrum micans* prevented spawning in oyster hatcheries.

In laboratory scale studies, dinoflagellate toxins from *Gonyaulax catenella*, *Gonyaulax tamarensis*, and *Gymnodinium breve* have been inactivated by ozone gas (BLOGOSLAWSKI, et al., 1973, 1975 b ; THURBERG, 1975 ; DAWSON et al., 1976) (Table 1).

ml O <sub>3</sub> /min	No. Mice	Death Time (min)	Survival (48 hr)
<u>Gymnodinium breve</u>			
110	10	-	100
65	10	146 - 178	80
40	5	96 - 166	40
20	5	18 - 40	0
0	10	7 - 10	0
<u>Gonyaulax tamarensis</u>			
220	5	-	100
110	10	-	100
55	10	12	90
27	10	12 - 14	20
0	20	5 - 6	0
<u>Gonyaulax catenella</u>			
110	15	-	100
55	15	-	100
27	10	5 - 7	0
0	20	5 - 7	0

TABLE 1 : Ozone-inactivation of Dinoflagellate toxins as determined by mouse bioassay.

.../...

+ George LOCKWOOD, Monterey Abalone Farm, Cannery Row, Monterey, California.



If the water source for a mariculture facility should originate from an area where a bloom of these toxic dinoflagellates occurred, all the animals held would become toxic or die. Ozone has been shown to inactivate the crude toxin from these blooms, as well as detoxify shellfish which had absorbed the toxin through their filter feeding (BLOGOSLAWSKI and STEWART in press). Therefore, the routine use of ozone to sterilize seawater circulated to the reared species in a mariculture facility might eliminate a public health threat and the economic loss which would normally result from a toxic bloom.

#### SHELLFISH DEPURATION.

If shellfish held under mariculture conditions should become contaminated, ozone can be used to depurate them quickly. Thus, shellfish, which would previously have been considered an economic loss, may still be marketed.

Contaminated shellfish can cleanse themselves of microorganisms when removed from the pollution source and exposed to clean seawater. However, this process involves a long waiting period while the shellfish depurate naturally as opposed to the rapid cleansing achieved with ozone.

VIOLLE (1929) was the first to find that ozone could quickly sterilize oysters which had been contaminated with coliform bacteria without altering the taste or appearance of the oyster. SALMON *et al.* (1973 a, 1937 b) expanded VIOLLE's work to a larger scale. Using contaminated oysters and mussels, they proved that those species held in ozonized seawater were rapidly and completely cleansed, while control animals, held in raw seawater, were not. The French government considered establishing ozone depuration stations to replace the existing shellfish holding stations where polluted animals are allowed to cleanse naturally in clean seawater. These older stations required one month to cleanse the contaminated animal, whereas ozone stations can depurate contaminated shellfish within 48 hours.

Yves FAUVEL (1963) was the first to publish the results of his experiments using ozone in shellfish depuration on a commercial scale (ANONYMOUS, 1972). This station, prototype for the nine existing depuration installations (LE PAULOUE, pers. commun.<sup>+</sup>), can ozonize up to 1400 kg/day of shellfish.

Ozonized seawater, therefore, can be of great benefit to the mariculturist, both as a disease-prevention measure and as a therapeutic method for cleansing a contaminated system and stock.

.../...

---

+ Jacques LE PAULOUE, Trailigaz, 29-31 Bld. de la Murette, 95140 Garges-Les-Gonesse, France.



SUMMARY.

Mariculture is a promising method for providing supplementary, protein-rich sources to a world which can no longer rely solely upon the availability of land-based crops.

The advantages of mariculture operation -simple food requirements, lack of large and complex support system, and great potential energy for animal growth- easily outweigh the problems encountered which are inherent in any water-based system. A principal area of concern to the mariculturist is that the seawater used in his facility remain free of pollutants, whether the contamination be induced by man or incurred via a natural phenomenon.

Successful mariculture operations must use preventive measures to avoid disease and the subsequent economic losses and hazards to human health which might result from a contaminated seawater supply. Ozone gas is one method to ensure disinfection of seawater. While the use of ozone in seawater does not have a lengthy history, the first known reference dating from 1929, it has continually proved to be a successful, reliable, and safe disinfection method which has several applications in a mariculture operation.

Preliminary studies have demonstrated ozone's efficacy in microbial control. Its powerful oxidizing action also guarantees a decrease in most of the organic materials which are present, permitting cleaner seawater to be circulated to the species being raised.

If care is taken to avoid the use of high levels of ozone when dealing with larval and juvenile growth stages, or a proper post-ozonization system for residual removal is employed, the problems experienced in the past with an ozone-seawater residual should be alleviated.

Ozone disinfection of the water supply in a mariculture facility ensures the prevention of diseases caused by contaminated water. In areas subject to toxic dinoflagellate blooms, ozonization of the water before it is circulated to the held species would most likely prevent any of the ill effects normally associated with the toxin, as ozone has successfully inactivated all marine poisons tested to date.

Should shellfish introduced to or held in a mariculture facility be contaminated by natural or human sources, ozone can be used to accelerate the depuration process.

Thus, when properly used, ozone gas can be of great benefit to a mariculture operation. The advantages and basic applications of ozone should be considered by mariculturists. Further exploration of ozone's potential uses in this vital and expanding industry should be encouraged and the results obtained from these studies examined and implemented in progressive mariculture operations.



REFERENCES.

- ANONYMOUS, 1972. Use of ozone in seawater for cleansing shellfish. Effluent and Water Treatment J., 12 : 260-262.
- BLOGOSLAWSKI, W.J., C. BROWN, E.W. RHODES and M. BROADHURST, 1975 a. Ozone disinfection of a seawater supply system. Proc. First International Symposium on Ozone for Water and Wastewater Treatment, International Ozone Institute, pp. 674-687.
- BLOGOSLAWSKI, W.J., L. FARRELL, R. GARCEAU and P. DERRIG, 1976. Production of oxidants in ozonized seawater. Proc. Second International Symposium on Ozone Technology, International Ozone Institute, pp. 671-681.
- BLOGOSLAWSKI, W.J. and M.E. STEWART, in press. Paralytic shellfish poison in *Spisula solidissima* : anatomical location and ozone detoxification.
- BLOGOSLAWSKI, W.J., F. THURBERG and M. DAWSON, 1973. Ozone inactivation of a *Gymnodinium breve* toxin. Water Res., 7 : 1701-1703.
- BLOGOSLAWSKI, W.J., F. THURBERG, M. DAWSON and M. BECKAGE, 1975 b. Field studies on ozone inactivation of a *Gymnodinium breve* toxin. Environmental Letters, 9 (2) : 209-215.
- COMBS, T.J. and W.J. BLOGOSLAWSKI, 1975. Effects of ozone on a marine-occurring yeast, *Sporobolomyces*. Aquatic Applications of Ozone, International Ozone Institute, pp. 43-49.
- DAWSON, M., F. THURBERG, W.J. BLOGOSLAWSKI, J. SASNER, JR. and M. IKAWA, 1976. Inactivation of paralytic shellfish poison by ozone treatment. Proc. Food-Drugs from the Sea Conf., 1974, Marine Technology Society, pp. 152-157.
- DEMANCHE, J.M., P.L. DONAGHAY, W.P. BREESE and L.R. SMALL, 1975. Residual toxicity of ozonized seawater to oyster larvae. Oregon State Univ. Sea Grant Publ. N° ORESU-T-75-003.
- EDWARDS, H.B., 1974. Closed raceway system for mariculture. Presented at World Mariculture Society, Charlestown, S. Carolina. H. Banks Edwards Co., P.O. Box 25126, Houston, Texas 77005.
- EPPLEY, R.W., E.H. RENGER and P.M. WILLIAMS, 1976. Chlorine reactions with seawater constituents and the inhibition of photosynthesis of natural marine phytoplankton. Estuarine and Coastal Marine Science, 4 : 147-161.
- FALKOW, S., 1975. Infectious multiple drug resistance. London : Pion., Ltd., 300 pp.
- FAUVEL, Y., 1963. The use of ozone as a sterilizing agent in seawater for the depuration of shellfish. International Commission for the Scientific Exploration of the Med. Sea, Monaco, Reports and Verbal Proc., 17 (3) : 701-706.
- GIESE, A.C. and E. CHRISTENSEN, 1954. Effects of ozone on organisms. Physiol. Zool., 27 (2) : 101-115.

.../...



- HARAGUCHI, T., U. SIMIDU and K. AISO, 1969. Preserving effect of ozone to fish. Bull. Jap. Soc. Scient. Fisheries, 35 (9) : 915-919.
- HONN, R.V. and W. CHAVIN, 1976. Utility of ozone treatment in the maintenance of water quality in a closed marine system. Mar. Biol., 34 : 201-209.
- KLONTZ, G.W., 1972. Veterinaty medical aspects of maintaining the health of aquatic food animals. J. Amer. Vet. Med. Assoc., 161 : 1489-1491.
- LOOSANOFF, V.L., 1962. Oysters : Long Island Sound spawning and setting observations, summer 1961. Comm. Fish. Rev., 24 (2) : 35-37.
- MACALADAY, D.L., J.H. CARPENTER and C.A. MOORE, 1977. Sunlight-induced bromate formation in chlorinated seawater. Science, 195 (4284) : 1335-1337.
- MACLEAN, S.A., A.C. LONGWELL and W.J. BLOGOSLAWSKI, 1973. Effects of ozone-treated seawater on the spawned, fertilized, meiotic, and cleaving eggs of the commercial American oyster. Mutation Res., 21 : 283-285.
- MANGUM, D.C. and W.F. MCILHENNEY, 1975. Control of marine fouling in intake systems -a comparison of ozone and chlorine. Aquatic Application of ozone, International Ozone Institute, pp. 138-153.
- PICHET, P. and C. HURTUBISE, 1976. Reactions of ozone in artificial seawater. Proc. Second International Symposium on Ozone Technology, International Ozone Institute, pp. 664-670.
- SALMON, J., J. LEGALL and A. SALMON, 1937 a. Preliminary note on some experiments purifying edible marine molluscs by ozonized seawater. Annales d'Hygiène Publique, Industrielle et Sociale, 15 : 44-50.
- SALMON, J., A. SALMON, J. LEGALL and A. LOIR, 1937 b. A depuration station for shellfish using ozonized seawater. Annales d'Hygiène, 15 : 581.
- SANDER, E. and H. ROSENTHAL, 1975. Application of ozone in water treatment for home aquaria, public aquaria, and for aquaculture purposes. Aquatic Applications of Ozone, International Ozone Institute, pp. 103-114.
- SINDERMAN, C.J., 1968. Disease and parasite problems in marine aquiculture. Marine Aquiculture, Oregon State Univ. Press, pp. 103-134.
- SPOTTE, S.H., 1970. Fish and invertebrate culture : water management in closed systems. New-York : Wiley-Interscience, 145 pp.
- STOPKA, K., 1975. European and Canadian experiences with ozone in controlled closed circuit fresh and salt water systems. Aquatic Applications of Ozone, International Ozone Institute, pp. 170-176.
- TCHAKHOTINE, S., 1937. The destructive action of ozone on sperm. Comptes rendus de société de Biologie, 126 : 1154-1156.



THURBERG, F.P., 1975. Inactivation of red-tide toxins by ozone treatment. Aquatic Applications of Ozone, International Ozone Institute, pp. 50-58.

VIOLLE, H., 1929. The sterilization of seawater by ozone : application of this method to the purification of contaminated shellfish. Revue d'Hygiène et de Médecine Préventive, 51 : 42-46.



*Imprimé par*  
*INSTAPRINT - Tours*

*Octobre 1977*

ISSN 0335-8259