COMPTE-RENDU SOMMAIRE DE LA CAMPAGNE 1972-1973 DE REPRODUCTION CONTROLEE DU LOUP A SETE

Par

G. BARNABE 1)

INTRODUCTION

-Avant d'entrer dans le vif du sujet, je voudrais d'une part préciser les objectifs de cette campagne et d'autre part indiquer les conditions dans lesquelles elle s'est déroulée.

Un an plus tôt, nous avions pour la première fois réussi à obtenir 12 000 alevins de Loup à partir de géniteurs captifs. Il fallait démontrer que ces expériences étaient reproductibles et qu'elles pouvaient être adaptées à une production de masse devant conduire à la mise en grossissement de 30 000 à 50 000 alevins ; Ce sont les termes mêmes du contrat de collaboration entre le CNEXO et la Station de SETE.—

Au point de vue technique, la construction d'un hall expérimental d'aquaculture dans l'enceinte de la Station, au cours de l'automne 1972 et de l'hiver 1972-1973 posa un problème technologique auquel il fallut consacrer beaucoup de temps, puis un problème pratique inhérent aux inconvénients propres à la construction (coupures d'électricité, d'eau, pollution etc...).

Au point de vue matériel, des contingences locales nous interdisaient l'achat de géniteurs en provenance du milieu naturel. C'est donc à partir de géniteurs stockés depuis la campagne précédente, c'est-à-dire ayant effectué un cycle sexuel complet en captivité, que nous avons expérimenté.

Un premier lot de dix loups, d'un poids compris entre 300 et 963 g, fut transféré le 9 septembre 1972 d'un bassin de stockage de 24 m 3 en plein air, dans un bac de 5 m 3 placé dans une salle thermorégulée.

Cette expérience consistait à réduire à deux mois la baisse de température qui a lieu dans le milieu naturel entre septembre et janvier - et qui est synchrone de la maturation. La température fût abaissée de 18,5° à 10°C à raison de deux degrés par semaine, puis maintenue entre 10 et 12°C de manière à essayer d'obtenir une maturation avancée.

Nous avions entamé l'expérimentation sur l'induction de la ponte le 15 novembre 1972 : quatre de ces dix géniteurs d'un poids compris entre 760 et 963 g

¹⁾ Station de Biologie Lagunaire - 34 SETE

reçurent une injection intramusculaire de 1 500 Unités Internationales de Gonadotrophine chorionique "Endo". Le cinquième individu retenu était un mâle devenu fluent sans injection.

Trois des poissons injectés montrèrent un <u>important gonflement abdominal</u> 48 heures plus tard et la ponte fut déclenchée le 17 novembre à 19 heures, soit 52 heures après l'injection.

Moins de 3 % des oeufs entrèrent en développement après mise en contact avec le sperme du mâle fluent, et il n'y eut que quelques éclosions.

La majorité du stock composée de 87 individus d'un poids moyen de 900 à 1 200 g (poids extrêmes 350 et 3 680 g) a subi le cycle thermique naturel jusqu'au mois de décembre, époque à laquelle la température du bassin de stockage a été stabilisée à 13 - 14°C.

L'expérimentation sur l'induction de la ponte a donné des résultats positifs entre le 2 décembre 1972 et le 16 mars 1973, soit sur trois mois et demi. Aucun travail n'a été envisagé sur les pontes naturelles qui échappent à tout planning.

Sans entrer dans le détail des vingt quatre séries d'injections, les réponses à ces injections peuvent être scindées en deux.

Du 2 au 22 décembre 1972, six séries portant sur un total de vingt deux poissons ont permis d'obtenir 1 490 g d'oeufs, soit d'après nos comptages 1 490 000.

Les taux de survie étaient trop bas (1 à 5 %) pour justifier la mobilisation des quelques bassins disponibles à cette époque dans nos anciennes installations et la mise en place d'une alimentation adéquate. Les survivants ont donc été abandonnés.

Quatre causes principales pouvaient être évoquées pour expliquer cet échec :

- la précocité des injections (puisque les pontes ne débutent qu'aux premiers jours de l'hiver dans le milieu naturel);
- le confinement en bassin ;
- la nature du produit injecté;
- le régime alimentaire.

Ce dernier a été modifié dès le 10 décembre 1972 en ajoutant des crustacés à la ration uniquement composée de poissons, et l'hypophyse de carpe liophylisée a été substituée à la gonadotrophine chorionique à partir du 20 décembre 1972.

L'interférence entre ces divers facteurs n'a pas été étudiée, mais une excellente ponte induite a été obtenue le 30 décembre 1972.

Une femelle de 890 g a pondu par pression abdominale 122 000 oeufs dont le taux d'éclosion a été estimé à 95 %. Ces 105 000 larves ont permis d'obtenir 12 000 alevins dans un bac de 3 mètres de diamètre renfermant 7,5 mètres cubes d'eau : une partie de ces individus est en cours d'élevage au COB.

A partir de cette date et jusqu'au 16 mars 1973 les 61 géniteurs utilisés ont produit 8 200 g d'oeufs, soit 8 200 000.

Environ six millions de larves ont éclos.

Après saturation des trois bassins de 7 m³ de nos anciennes installations, cinq bassins de 17 et 21 m³ ont été mis en place dans le nouveau hall, au fur et à mesure que progressait la construction et malgré les risques (absence de chauffage, chute de matériaux divers dans les bacs d'élevage etc...).

Lors de la livraison de ce bâtiment, le 27 janvier 1973, les cinq bassins

étaient occupés par des oeufs ou des larves.

Les techniques d'incubation des oeufs, d'élevage, et de nutrition larvaire utilisées un an plus tôt ont été réemployées et étendues à des volumes supérieurs. Elles ont été décrites et ne seront pas réexposées ici.

Nous avons eu de très nombreuses mortalités totales de larves dans ces installations au cours des quatre premiers jours de vie larvaire, c'est-à-dire avant tout stade critique. Les mortalités spécifiques au nouveau bâtiment semblent résulter de la toxicité des matières plastiques neuves et plus encore des diverses colles et mastics utilisés dans leur assemblage.

Un million de larves ont survécu plus de cinq jours après l'éclosion.

Leur nutrition nous mit aux prises avec ce qui doit être considéré comme le problème majeur actuel des reproductions contrôlées de poissons : la production ou la récolte de proies vivantes. Il faut en fournir entre 100 et 500 par jour et par poisson en fonction de l'espèce et selon l'âge des larves.

On dispose actuellement de deux sources fiables. Le nauplius d'Artemia d'obtention facile mais qui ne peut constituer l'unique source de nourriture et ne convient pas aux très jeunes larves et le Rotifère Brachionus plicatilis. Si son élevage à haute densité (plus de 200 individus) est réalisable dans des bacs de 700 litres à condition d'en assurer un nettoyage fréquent pour maintenir des conditions optimales de milieu, il n'en a pas été de même dans les bassins de 17 m³. Le cycle de parthénogénèse thélytoque qui correspond à la cadence de multiplication la plus rapide est supplanté par une phase de reproduction sexuée lorsque les conditions de milieu s'altèrent légèrement.

Les problèmes sont un peu identiques pour le cilié Fabrea salina dont une souche a été adaptée à une salinité normale par notre collaborateur Monsieur Goguenheim.

Quant aux Copépodes leur élevage intensif n'est pas encore au point. Nous avons utilisé les ressources locales en récoltant l'espèce Eurytemora velox qui abonde en hiver dans les lagunes profondes entourant Sète.

Le passage sur aliment inerte réalisé au-delà du trentième jour après l'éclosion a été facilité par l'utilisation d'un petit appareil très simple (cf. annexe).

L'intérêt de ce système est de diffuser des particules alimentaires sur une surface relativement importante et de conditionner les larves habituées à trouver leur nourriture uniformément répartie dans le milieu, à se rassembler.

En ce qui concerne les résultats globaux de la campagne, une estimation réalisée courant avril indiquait que nous avions 105 000 loups de plus de trente jours en cours d'élevage.

Un bon nombre d'alevins ont péri au cours du mois de mai vraisemblablement par suite de carences alimentaires puisqu'une rectification du régime permit de sauver une bonne partie du stock.

Malgré ces accidents le nombre de jeunes loups produits est de 40 000 dont 12 000 âgés de quarante à soixante jours, et 28 000 alevins de plus de soixante jours.

Nous avons eu, après la saison de ponte, des mortalités de géniteurs qui semblent dûes au parasitisme : un ver Monogène Diplectanum aequens, parasite des branchies réaliserait la totalité de son cycle dans les bacs de stockage. Leur nombre a été estimé au laboratoire de Parasitologie de notre Université à 100 000

par individu. La mort survient par asphyxie et épuisement.

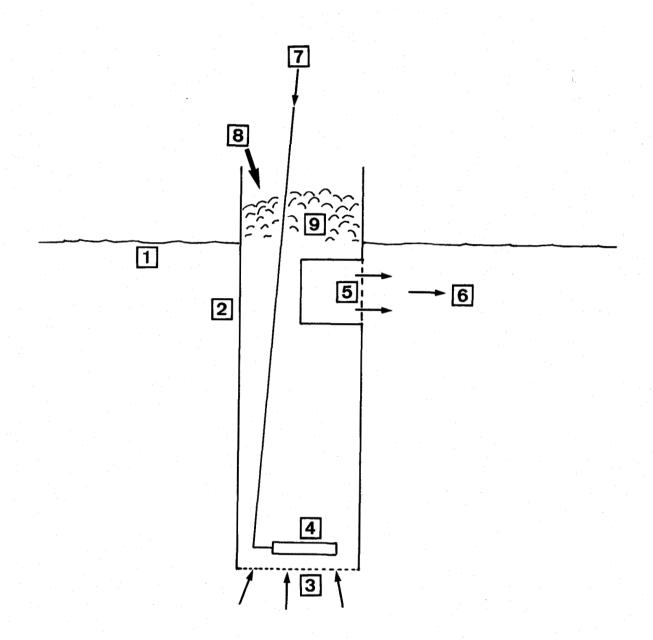
En conclusion, cette campagne, à mi-chemin entre l'expérimentation et la production a permis d'entrevoir quelques-uns des problèmes qui ne manqueront pas de se poser au niveau de l'exploitation industrielle et qu'un travail à l'échelle du laboratoire n'aurait jamais permis de soupçonner.

Le plus important concerne la nourriture larvaire : les procédés de production et de récolte de proies ne semblent pas immédiatement transposables à une production à très grande échelle (de l'ordre du million de larves) même si leur dimensions sont multipliées en conséquence.

Parallèlement à l'amélioration de ces élevages, il paraît souhaitable d'entreprendre dans l'immédiat un certain nombre de recherches dans des voies tout à fait différentes (absorption directe, microcapsules, etc...) car les techniques actuelles relèvent de l'artisanat.

Pour la première fois, on note l'apparition d'un problème grave de parasitisme, prédit par les spécialistes et résultant de la concentration de poisson en milieu confiné.

Figure 1 - Dispositif utilisé pour émietter, calibrer et distribuer les particules alimentaires.



- 1 Niveau de l'eau dans le bac d'élevage 2 Tube de P V C
- 3 Toile à plancton
- 4 Diffuseur d'air (les bulles qu'il débite créent un courant d'eau ascendant à l'intérieur du tube)
 5 - Lumière découpée dans la paroi du tube et recouverte d'une grille
 6 - Courant d'eau emportant des particules alimentaires

- 7 Air comprimé
- 8 Introduction de nourriture (exemple : pain congelé de poisson broyé)
 9 Bulles et écume. Le contact entre air et eau chargée de déchets azotés aboutit à la formation d'écume. L'élimination de celle-ci (par un trop-plein non dessiné sur la figure) permet, en conséquence, l'évacuation de ce type de déchets.

DISCUSSION

GIRIN: Quelles sont les concentrations moyennes en poissons par litre d'eau qui sont employées à 1 jour, 1 mois, 2 mois et 3 mois ?

BARNABE : Les concentrations sont rapportées à une surface, parce que lorsqu'on place les oeufs en incubation ils se répartissent en surface ; les meilleurs résultats ont été obtenus avec des concentrations de l'ordre de 200 000 oeufs pour un bac de 3 mètres de diamètre. On laisse les poissons dans le même bac, et la population diminue par suite des mortalités. Les poissons sont mis dans des bacs différents à partir de 35 jours, à haute concentration. Je crois que le volume ne joue pas tellement, il faut plutôt parler de quantité d'eau disponible et de renouvellement. Dans les bassins de grand volume qui ont été montrés, les alevins se répartissent préférentiellement à la périphérie, donc il y a une partie du volume qui n'est pas utilisée. Il est prévu de réaliser directement toute l'incubation et l'élevage dans des bacs de pisciculture, en obtenant une eau verte à l'intérieur. De toute façon, il y a une mortalité lorsque l'on pêche les alevins pour les transférer dans un autre bac. Le problème serait d'obtenir dans ces bacs au bout de 30 à 40 jours une concentration d'individus suffisante, c'est-à-dire de limiter la mortalité au cours de la vie larvaire de manière à obtenir une charge d'alevins suffisante.

GIRIN: Quelle est la concentration en proies, en particulier au début de l'alimentation?

BARNABE: Le plus possible, 200 par millilitre si l'on peut. On peut envisager de réaliser antérieurement à l'introduction de la ponte un élevage de rotifères, mais ce n'est pas rentable puisque l'optimum du rotifère est à 28°C et que l'incubation se déroule entre 16 et 18°C. Une concentration très élevée en proies ne s'est jamais révélée nocive.

JALABERT: A propos de la tentative de reproduction avancée qui s'est soldée par un échec dans la mesure où il y a eu un développement embryonnaire relativement peu important, vous avez effectué des injections de HCG aux femelles, considérant que les mâles fluents étaient mûrs. Je pense que c'est une erreur assez répandue de penser que parce qu'un mâle produit des spermatozoïdes, ces spermatozoïdes sont forcément fécondants. Nous avons tout lieu de penser que chez le mâle il y a un phénomène qui est le pendant de la maturation et de l'ovulation chez la femelle, et qui se traduit par une hydratation extrêmement importante et une activation et une potentialisation des spermatozoïdes à la fécondation. Je fais cette remarque parce qu'on a tendance à dire très souvent pour expliquer les échecs que les oeufs n'étaient pas matures. Mais il y a aussi le risque que cela vienne du mâle.

BARNABE: Il y a eu un pourcentage de fécondation relativement bas, mais des oeufs sont entrés en développement et très peu ont éclos, donc quelques spermatozoïdes étaient valables. J'insiste sur le fait que cette expérience ne peut pas être interprétée parce que, d'une part nous avons eu des résultats négatifs en utilisant des géniteurs qui n'avaient pas été soumis au cycle thermique, peut-être aussi parce que l'alimentation n'était pas adaptée. Il y a encore de nombreux facteurs inconnus.

QUESTION (?) : A quelle salinité a lieu le développement des larves ?

BARNABE: La salinité n'est pas tellement importante au niveau des larves. Par contre pour avoir des oeufs pélagiques, il faut travailler au-dessus de 35 pour 1 000. On n'a pas fait d'étude spécifique sur la salinité. Comme on travaille 20 ou 30 jours en eau stagnante, il y aurait plutôt une sursalure.

QUESTION (?) : Que pensez-vous de l'observation de DIEUZEIDE, selon laquelle en Algérie, cet auteur a observé la reproduction du Bar et du Bar tacheté dans des estuaires, en eau douce ?

BARNABE: Dans les estuaires, il existe une couche d'eau superficielle douce et au fond, en remontant très loin dans l'estuaire, une couche d'eau qui est vraiment de l'eau salée. Il est donc impossible de préciser l'observation de DIEUZEIDE. Par contre, les alevins résistent à l'eau douce, si on les acclimate progressivement: on arrive à descendre à 1 pour 1 000 et peut-être à éliminer toute trace de sel marin.

QUESTION (?) : Pensez-vous que la reproduction peut avoir lieu en eau à salinité variable ?

BARNABE: Le problème du rendement de la reproduction est lié au fait que l'on obtient de meilleurs résultats avec des oeufs pélagiques, parce que lorsque les oeufs sont benthiques il y a des problèmes de pollution, de bactéries, de champignons etc... qui ne se posent pas avec des oeufs pélagiques.

MICHEL: Est-ce que vous comptez toujours dans l'avenir utiliser de l'eau verte pour faire des élevages de larves? Est-ce que vous ne pensez pas passer à des techniques en eau qui ne contienne pas de phytoplancton, ce qui offre un avantage au point de vue contrôle bactérien?

BARNABE: Au contraire, on a trouvé que l'incubation puis l'élevage en eau verte était un facteur de simplification puisque au cours de l'incubation l'eau verte semble limiter la prolifération bactérienne d'une part, et ensuite, cette eau verte qui se trouve en place lorsqu'on démarre l'alimentation larvaire, peut servir à nourrir les proies que l'on met dans le bac. Elle a donc plusieurs rôles complémentaires et la production d'eau verte en grand volume ne pose pas de problème.

MICHEL: Les Japonais semblent s'orienter vers une technique où ils n'emploieront plus l'eau verte, pour l'élevage des larves de daurades en particulier.

BARNABE : C'est possible. On réalise l'eau verte avant de mettre les oeufs en incubation, c'est pour cette raison qu'il faut planifier les pontes de manière à

prévoir les volumes d'eau verte. Ensuite, il semble que les déchets du métabolisme des oeufs et des larves soient utilisés par les algues. Dans des bacs où on réalise des élevages, on maintient une eau verte pendant très longtemps, alors que si on a une eau verte sans zooplancton ou sans oeuf, on ne la maintient pas aussi longtemps. Par exemple on a utilisé les pontes qui n'étaient pas valables en les plaçant dans un sac et en les utilisant comme engrais.

PARIS : Je voudrais ajouter qu'on ne connaît presque rien de la physiologie des algues unicellulaires, et c'est un problème pourtant très important.

MICHEL: A l'époque actuelle, on ne sait utiliser que cette technique et je crois qu'il est beaucoup plus difficile d'obtenir des résultats reproductifs avec de l'eau verte qu'avec de l'eau parfaitement claire.

RENE: Le Loup comme la Daurade sont des poissons qui restent toujours pélagiques; il n'y a pas de stade benthique et notamment au niveau des proliférations bactériennes, c'est une différence importante avec la reproduction des mollusques et même celle des Turbots. A la limite les problèmes de parois nous importent beaucoup moins que dans le cas d'autres élevages. En conséquence, je crois aussi que le passage sur eau claire se fera un jour ou l'autre.

CECCALDI: A la Station Marine d'Endoume, un groupe qui s'occupe de physiologie d'algues unicellulaires (BERLANT, MAESTRINI) a montré récemment que certains produits azotés pouvaient être utilisés directement par les algues sans passer par les bactéries et que des algues pouvaient avoir comme sources d'azote, de l'urée, de la glucosamine directement. Donc, avoir de l'eau verte, c'est déjà une grosse sécurité parce que cela produit certains antibiotiques et cela récupère les produits d'excrétion.

MICHEL: Il faut être sûr que cette eau verte est de bonne qualité. Généralement, les gens qui utilisent de l'eau verte ont quand même des problèmes de temps en temps avec un phytoplancton anormal qui se développe et qui fait qu'ils ont de grosses mortalités qu'ils attribuent peut-être à d'autres causes mais qui sont peut-être dues simplement à ce que le phytoplancton est différent.

BARNABE: Je crois que l'on a, à Sète, l'avantage d'avoir dans le milieu naturel beaucoup de lagunes dans lesquelles il y a de très nombreuses populations d'algues diverses et nous utilisons une culture polyspécifique qui doit être composée d'une succession de populations. Cet avantage nous permet peut-être de ne pas avoir trop de problèmes avec les eaux vertes.

HONG: Je crois qu'il y a une confusion quand on utilise le mot "eau verte". Par exemple, dans les élevages de Penaeides, ce n'est pas de l'eau verte, c'est de l'eau brune et on a tendance à confondre l'eau verte qui est utilisée dans l'élevage intensif de l'anguille, qui est un *Microcystis* utilisé justement comme un moyen d'épuration du milieu très efficace pour métaboliser les déchets d'aliments. Quelles sont les espèces principales présentées dans votre eau verte ?

BARNABE: Il y a des *Nannochloris*, des *Tetraselmis* et des Cyanophycées qui n'ont pas encore été déterminées, mais il y a une forte proportion de Cyanophycées en chaîne. En ce qui concerne la couleur, on a un démarrage qui est jaune-vert, une phase optimale avec un vert-bleu qui correspond justement à la prolifération des Cyanophycées, puis une petite altération qui fait tourner à la couleur kaki.

HONG: Comment faites-vous pour fertiliser votre eau verte?

BARNABE: On part d'une eau verte, soit prélevée dans le milieu naturel soit provenant d'une culture antérieure: l'inoculum doit être à peu près égal au cinquième ou au tiers du volume total. On enrichit avec des formules diverses. En principe on respecte la proportion: 1/5 de phosphate et 4/5 de nitrate. Actuellement, on opère avec les engrais industriels. Quand on a des oeufs, on les utilise, mais c'est seulement pour profiter du matériel que l'on a.

RENE : Je pense qu'on a l'avantage incomparable à la Station biologique de Sète de disposer en fonction des courants, d'une part d'une eau d'étang et d'autre part d'une eau marine. La forte proportion de matière organique dissoute dans l'eau d'étang donne des développements d'algues assez différents lorsqu'on utilise de l'eau d'étang par rapport à ceux qu'on obtient en utilisant de l'eau de mer. Si on engraisse l'eau avec des matières chimiques, on n'obtient pas toujours la même population que celle obtenue avec des matières organiques. Mais ce phénomène n'est pas connu quantitativement.