

**Induction de la reproduction  
par manipulation de facteurs externes et hormonaux  
chez le Loup Dicentrarchus labrax (L)  
en Martinique**

GILBERT BARNABE  
AQUAMAR S.A., Pointe-Lynch  
97231 Le Robert, Martinique

POSITION DU PROBLEME

Des essais de maturation décalée ont été entrepris depuis plus d'une décennie en Méditerranée (Barnabe, 1974), et ultérieurement en Atlantique (Girin et Devauchelle, 1978) sur la base des données biologiques acquises sur cette espèce.

L'étude de la sexualité des loups de la région de Sète (Barnabe, 1972, 1973) avait montré que spermatogénèse et vitellogénèse surviennent durant l'automne en Méditerranée occidentale, soit en photopériode et température décroissantes; mais malgré un échantillonnage significatif (2 000 individus) une seule femelle en cours de ponte, avait pu être repérée et l'histologie confirmait un blocage de l'ovaire en fin de vitellogénèse tandis que les mâles spermiantes étaient fréquents dans l'échantillon, pendant toute la période de fraie (Decembre à Mars).

La reconstitution en bassin des conditions naturelles de température et de photopériode jointe à l'utilisation d'HCG pour déclencher l'ovulation et la ponte, ont permis l'obtention fiable de la reproduction en captivité pendant la période normale de reproduction, à partir de 1971 (Barnabe, 1971; Barnabe et Rene, 1972), puis des pontes avancées, à partir de 1974, par action conjuguée de la température et la photopériode.

C'est la modulation de ces deux facteurs externes et l'utilisation d'HCG pour déclencher la ponte qui avait été retenue à AQUAMAR, pour obtenir des pontes en milieu tropical.

Malheureusement, la diminution progressive de la température n'était pas suffisante (elle était stoppée à 20°C) pour induire une maturation valable et, à une exception près, il n'y eut que des pontes abortives jusqu'en 1984, malgré l'importance du cheptel utilisé (plus de 100 femelles). Les études en milieu naturel (revue in Barnabe, 1980), montrent en effet, que si l'époque de la ponte est variable, elle survient toujours lorsque la température est comprise entre 9 et 13°C.

Un protocole calqué sur celui que nous avions mis en place à Sète, et qui a démontré sa fiabilité depuis 1980, (Barnabe et Paris, 1984) a été mis en oeuvre à partir de mars et jusqu'en juillet 1985 à AQUAMAR. Notre optique n'était pas l'étude de la maturation en soi, mais la définition d'une technique fiable sur la base des connaissances biologiques disponibles.

MATERIEL ET METHODES

AQUAMAR S.A. est doté d'une unité de maturation unique

comportant trois salles séparées dans chacune desquelles est installé un bassin circulaire de  $73 \text{ m}^3$  (1,8 m de haut pour 7,4 de diamètre) fonctionnant en circuit quasi fermé. Une lampe à vapeur de mercure (400 W) pilotée par une horloge, permet de régler la photopériode, tandis qu'un climatiseur assure le refroidissement progressif de l'air, et par échange thermique, de l'eau. Le fait de fonctionner en circuit fermé en grand volume engendre une importante inertie thermique. L'étude de la sexualité de tels stocks a été exposée par ailleurs (Kamoun, ce volume).

Le filtre périphérique (0,44 m de large) est constitué de  $5 \text{ m}^3$  de bandes de film plastique. L'eau traverse ce filtre de haut en bas et est reprise par 12 exhausteurs à air qui engendrent un léger courant circulaire dans le bassin (fig. 1).

De 60 à 100 géniteurs sont stockés par bassin (poids: 0,6 à 1,5 kg). Ils sont nourris 2 fois par semaine, ad libitum, de poisson congelé broyé.

Le débit d'eau nouvelle est de l'ordre de 60 l/h soit un renouvellement en 50 jours.

Dans ces conditions, une abondante faune de copépodes s'installe sur les parois et le substrat filtrant; l'eau prend parfois une légère teinte verte. Les valeurs des paramètres physico-chimiques limitants ( $\text{NH}_4$ ,  $\text{NO}_2$ ) sont très en dessous des seuils toxiques, ainsi que le pH proche de 8.

La descente en température et en photopériode entamée le 13 mars s'est déroulée selon le calendrier rapporté sur le tableau 1 jusqu'au 30 juin. Il n'a pas été possible d'obtenir de façon constante une température inférieure à  $16^\circ\text{C}$  et à fortiori d'approcher les  $12^\circ\text{C}$ . L'installation a en effet été dimensionnée en fonction des objectifs initiaux ( $T^\circ = 20^\circ\text{C}$ ).

Au terme de cette phase on déclenchera la ponte, après récupération de lots successifs de poissons à l'aide d'une petite seine puis d'une épuisette.

Ces poissons anesthésiés dans un bidon à l'aide de 1-2 propanediol (0,3 ml/l) subissent une légère pression abdominale. Les mâles, naturellement spermiant, sont placés dans le bassin de ponte (3 m de diamètre, 1,2 m de haut,  $8 \text{ m}^3$ ); tous les poissons non spermiant sont considérés comme femelles et subissent soit 2 injections intramusculaire d'HCG (800 UI/kg) espacées de 6h soit 1 injection intramusculaire de LH-RH (10 à  $30 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) avant d'être placés avec les mâles (Barnabe, 1976). Ponte et fécondation surviennent sans autre intervention. Les oeufs rassemblés par le flux d'eau circulante dans un incubateur, seront récupérés avec une petite épuisette, pesés et distribués dans les bacs d'élevage larvaires. L'eau du bac de ponte est également recyclée mais l'obtention de température inférieure à  $16^\circ\text{C}$  est difficile pour les mêmes raisons que précédemment.

## RESULTATS

Des pontes spontanées d'oeufs viables, au moins en partie, ont été constatées dans le bassin de maturation à compter du 04-07-1985. Le phénomène prémonitoire de la ponte est constitué par un

FIG 1

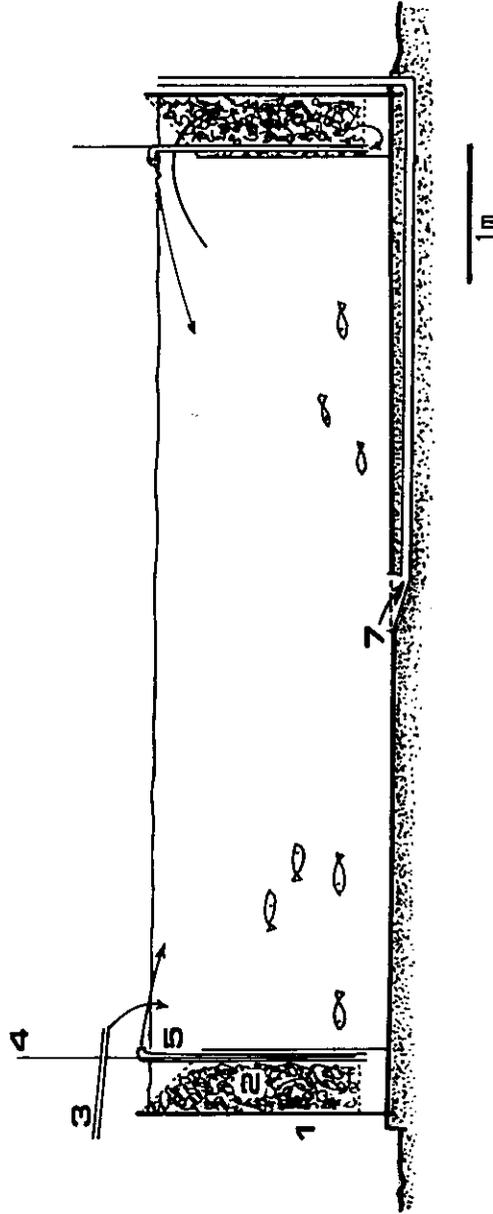


Figure 1. Schema en coup d'un bassin de maturation. [1 - Paroi du bassin circulaire; 2 - Filtre biologique périphérique; 3 - Arrivée d'eau nouvelle; 4 - Arrivée d'air; 5 - Exhauteur (Air'lift"); 6 - Eclairage; 7 - Evacuation].

énorme gonflement connu sous le nom d'hydratation; il est repérable au moins 24 h avant la ponte. Trois femelles hydratées ont été observées ce jour là, et le 07-07-1985 la densité d'oeufs en développement était de 6/l soit un minimum de 360 000 pour l'ensemble du bassin de maturation. Le nombre devait en fait être très largement supérieur, puisque certains oeufs benthiques étaient en développement et surtout parce que le système de filtration est un véritable piège à oeufs qui interdit la récupération des pontes spontanées.

En fait, l'hydratation et le comportement caractéristique de la fraie (Barnabe, 1976) fut régulièrement observé durant tout le mois de juillet et concerna un minimum d'une dizaine de femelles (soit 30%). La présence de larves confirma la viabilité d'une fraction des oeufs mais l'agencement du bassin (avec reprise des eaux de surface dans le filtre bactérien), ne permet l'évaluation précise, ni de la quantité d'oeufs pondus et fécondés, ni de leur viabilité.

L'écloserie n'étant pas disponible pour accueillir les oeufs, deux séries seulement d'inductions hormonales de la ponte furent entreprises, l'une au tout début de la période supposée de reproduction (04 juillet), l'autre à la fin supposée de cette période (17 août 1985).

Les problèmes de régulation thermique ne permirent pas d'obtenir une température inférieure à 16°C dans le bassin de ponte et celle-ci resta le plus souvent proche de 16,5°C.

Les résultats sont rapportés sur le tableau 1 et 2.

Tableau 1. Conditions de maturation

Date	Photoperiode	Thermoperiode souhaitée	Thermoperiode observée
15 mars 1985	12 H	20°	20°
31 mar	11 H	20°	20°
15 avril	10 H	18°	18°
30 avril	9 H	16°	16°
15 mai	8 H	14°	15°
30 mai	7 H	13°	15°
15 juin	7 H	12°	16°
30 juin	6 H	12°	16°

## DISCUSSION

On remarque, à la fois dans les essais antérieurs menés à 20°C et conduisant à l'obtention d'oeufs abortifs et dans notre expérience, que la vitellogénèse (ainsi que la spermatogénèse) se déroulent de façon satisfaisante en photopériode décroissante et à température relativement élevée ( $\geq 16^\circ\text{C}$ ). En effet, l'hydratation est toujours obtenue alors qu'elle ne se produit pas lorsque la vitellogénèse est insuffisamment avancée.

Tableau 2. Induction de la ponte par injections hormonales

Date Produit Dos/kg	Nombre de femelles	T° (C)	Nombre d'oeufs	% oeufs viables
04-07-85 HCG 1 600 UI	4	16	>2,1.10	87
17-08-85 LH-RH HCG 20 ug 300 UI	4	16,2	-1.10 <sup>6</sup>	38

Par contre, une seule ponte viable est obtenue lorsque la température minimale est de 20°C. La fréquence des pontes viables induites ou spontanées est significative à 16°C (nous l'estimons empiriquement à 30-40% du nombre total de femelles stabulées), mais n'atteint pas les résultats obtenus en Méditerranée de 1980 à 1983 (Barnabe et Paris, 1984). Si l'évolution photopériodique est identique, la température au moment de l'obtention de la ponte est beaucoup plus à Sète (12 à 14°C).

Une observation réalisée à Sète au cours de la vague de froid qui marqua l'hiver 1984-1985, mérite d'être rapportée (Kentouri, comm. pers.). Elle concerne des géniteurs placés en maturation avancée qui, ayant pondu au milieu de novembre 1984, avaient été stabulés dans un bassin extérieur de 24 m<sup>3</sup> en circuit ouvert. La température descendit à 0° pendant 48 h le 20 janvier 1985 et les poissons étaient inertes sur le fond mais vivants. Ils ont été remontés jusqu'à 12,7°C en 48 heures. Six jours plus tard, la présence de 1,5 à 1,8.10<sup>6</sup> larves écloses de 3 jours était constatée dans le concentrateur d'oeufs. On ne pourrait mieux démontrer l'influence de la variation à la baisse de la température.

Ce faisceau de données converge avec les observations précitées concernant la reproduction en milieu naturel et permet d'appréhender les bases biologiques d'une technique de maturation compatible avec les exigences d'une production (obtention fiable de plusieurs millions d'oeufs à des époques déterminées).

Nous avons précisé (Barnabe, 1976) les corrélations existant entre une nutrition active, la constitution de réserves lipidiques, le rapport hépato-somatique et gonado-somatique qui relie la maturation à l'ensemble du métabolisme. L'absence de maturation chez les poissons amaigris, en eau dessalée, à des températures trop basses (<8°C) ou trop élevées (>25°C) traduit les exigences métaboliques de l'espèce.

Elles concernent d'abord son état interne (présence de réserves, état du foie, standards sanguins, etc...), très dépendant d'une alimentation qualitativement et quantitativement

adéquate. Remarquons que cela suppose des conditions externes favorables, en particulier au niveau thermique et que l'alimentation artificielle induit au niveau thermique et que l'alimentation artificielle induit au niveau hépatique des pathologie qui peuvent retentir sur la reproduction. Une alimentation ad libitum, à base de poissons et crustacés à des températures comprises entre 15 et 24°C pendant plusieurs mois constitue le préalable à toute maturation induite. L'appétit des poissons, leur comportement général et un abdomen convexe constituent alors les critères externes permettant d'apprécier leur condition.

Le déclenchement de l'entrée en maturation de tels sujets peut alors être entrepris, en eau de mer, par diminution de la photopériode (de 16-24 h à 8-6 h) et si possible de la température bien que ce facteur paraisse moins significatif (Barnabe et Paris, 1984, Devauchelle, 1984) s'il n'est limitant (pas d'entrée en maturation au-dessus de 25°C et au-dessous de 8°C).

L'obtention de mâles spermiantes et d'une vitellogénèse normale dans l'ovaire (ovocytes de plus de 500 µ de diamètre) est constatée en photopériode décroissante dans des conditions de température très variable (Etang de Thau 8°C, Bretagne 8°C, Martinique 20°C, selon les auteurs précités). Les résultats obtenus à ces niveaux thermiques ne sont cependant pas optimaux.

Le maintien des températures élevées (16-20°C) et de photopériodes courtes aboutit à des hydratations spontanées, le poisson restant souvent bloqué à ce stade. S'il pond, les oeufs sont exceptionnellement viables (cas constaté à AQUAMAR).

Des températures plus basses (10-14°C) et des photopériodes courtes entraînent peu d'hydratations et de pontes spontanées par contre, les poissons répondent à l'induction hormonale par la ponte d'oeufs viables (Barnabe et Paris, 1984).

Les basses températures bloquent l'ovaire parvenu en fin de vitellogénèse (Barnabe, 1972, 1976; Barnabe et Rene, 1972; Devauchelle, 1984) et les observations précitées de Kentourie et Devauchelle montrent que la remontée en température déclenche la ponte d'oeufs viables à des températures comprises entre 9,5 et 12,7°C, ce qui recoupe parfaitement les observations sur la reproduction en milieu naturel en divers lieux (revue in Barnabe, 1980).

Le rôle de la température dans l'obtention de pontes viables est donc prépondérant. Or, les résultats obtenue à AQUAMAR se situent à des niveaux thermiques relativement éloignés des températures considérés comme normales.

## CONCLUSIONS

Bien que des impératifs techniques ne nous aient pas permis d'ipérer dans des conditions thermiques optimales, plusieurs millions d'oeufs viables de Loup ont pour la première bien différente de celle de la fraie du stock européen d'origine.

La maîtrise de la reproduction du Loup par le contrôle des facteurs externes et l'induction hormonale de la ponte permettre désormais d'obtenir les millions d'oeufs nécessaires aux entreprises de production, comme celà est déjà le cas en Europe.

## BIBLIOGRAPHIE

- Barnabe G., 1971 - Premières inductions hormonales de la ponte chez le Loup Dicentrarchus labrax L. Rapport CNEOX: 10 p.
- Barnabe G., 1972 - Contribution à l'étude de la biologie du Loup (Dicentrarchus labrax L.) de la région de Sète Thèse Doct. Spéc. (3<sup>e</sup> cycle). Univ. Sc. Tech. Languedoc, Montpellier: 146 p.
- Barnabe G., 1973 - Contribution à la connaissance de la croissance et de la sexualité du Loup Dicentrarchus labrax L. de la région de Sète. Ann. Inst. Océanogr., Paris, 49(1): 49-75.
- Barnabe G., 1974 - Compte-rendu sommaire de la campagne 1972-1973 de reproduction contrôlée du Loup à Sète. 205-213 in: CNEOX (ed.), Colloque sur l'Aquaculture.
- Barnabe G., 1976 - Rapport technique sur la ponte induite et l'élevage des larve du Loup Dicentrarchus labrax (L.) et de la Dorade Sparus aurata (L.). Stud. Rev. C.G.P.M. (F.A.O.), 55: 63-116.
- Barnabe G., 1980 - Exposé synoptique des données biologiques sur le Loup ou Bar Dicentrarchus labrax (Linné, 1758). Synop. F.A.O. Pêches (126): 70 p.
- Barnabe G. et Rene F., 1972 (1976) - Procédé pour la production et l'élevage d'alevins de poissons marins. Brevet d'invention n° 72-20412, BNPI, Paris: 13 p.
- Barnabe G. et Paris J., 1984 - Ponte avancée et ponte normale du Loup Dicentrarchus labrax (L.) à la Station de Biologie Marine et Lagunaire de Sète. pp. 63-72 in: G.Barnabe et R. Billard (ed.), L'Aquaculture du Bar et des Sparidés, Publ. INRA, Paris 543 p.
- Devauchelle N., 1984 - Reproduction décalée du Bar (Dicentrarchus labrax) et de la Dorade (Sparus aurata). pp. 53-61 in: G.Barnabe et R. Billard (ed.), L'Aquaculture du Bar et des Sparidés, Publ. INRA, Paris.
- Girin M. et Devauchelle N., 1978 - Décalage de la période de reproduction par raccourcissement des cycles photopériodiques et thermiques chez les poissons marins. Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys., 18: 1059-1065.