

DK478692

BA TH598

CIRAD-EMVT
Campus International de Baillarguet
B.P. 5035
34032 MONTPELLIER Cedex 1

Ecole Nationale Vétérinaire
D'Alfort
7, avenue du Général de Gaulle
94704 MAISONS-ALFORT Cedex

Institut National Agronomique
Paris-Grignon
16, rue Claude Bernard
75005 PARIS

Muséum National d'Histoire Naturelle
57, rue Cuvier
75005 PARIS

DIPLOME D'ETUDES SUPERIEURES SPECIALISEES PRODUCTIONS ANIMALES EN REGIONS CHAUDES

MEMOIRE DE STAGE

GESTION DES BACK-CROSS CHEZ L'HYBRIDE DE TILAPIA (MOLIBICUS) ET EVALUATION DE SA RESISTANCE A LA SALINITE

par

Yann GUILLOT

CIRAD-Dist
UNITÉ BIBLIOTHÈQUE
Baillarguet

Année universitaire 1999-2000



CIRAD

000008562

**DIPLOME D'ETUDES SUPERIEURES SPECIALISEES
PRODUCTIONS ANIMALES EN REGIONS CHAUDES**

**GESTION DES BACK-CROSS CHEZ L'HYBRIDE DE
TILAPIA (MOLIBICUS) ET EVALUATION DE SA
RESISTANCE A LA SALINITE**

par

Yann GUILLOT

Lieu de stage : Philippines

Organisme d'accueil : CIRAD-EMVT

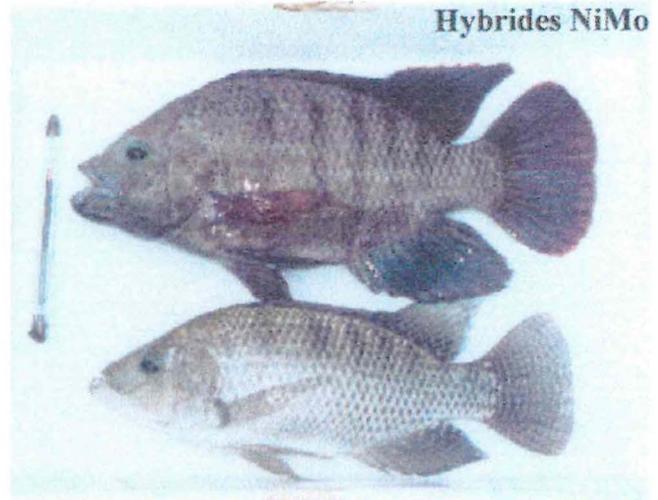
Période de stage : mai-octobre 2000

Rapport présenté oralement le : 8 décembre 2000

Hybrides MoNi



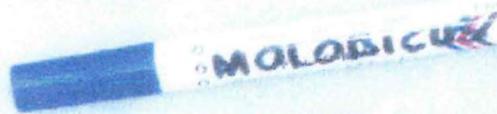
Hybrides NiMo



Gestion des back-cross chez l'hybride de tilapia Molobicus et évaluation de sa résistance en milieu salin



Back-cross MoNi x MoMo



Yann GUILLOT

Maître de stage
Pierre Morissens



RESUME

Les Philippines (archipel du Sud-Est asiatique) sont situées au 9^{ème} rang mondial des productions aquacoles. La pisciculture et l'élevage du tilapia plus particulièrement y sont très développés. Dans le cadre d'une coopération active entre le BFAR de Dagupan (Philippines), le CIRAD-EMVT (France) et d'autres organismes français et philippins, un projet d'hybridation et de sélection d'une souche de tilapia à croissance rapide en eau saumâtre a été lancé. Deux espèces ont été employées : *Oreochromis niloticus* (croissance) et *O. mossambicus* (résistance à la salinité).

Ce rapport synthétise six mois de travaux réalisés dans le cadre de ce projet Molobicus. Après une présentation du projet et de ses enjeux, un état des lieux exhaustif est établi. Il permet de faire un bilan sur les stocks de poissons, la généalogie, le système d'élevage pour la production de géniteurs, la gestion des reproductions et l'organisation générale du travail.

L'analyse et l'identification des contraintes a permis d'apporter des améliorations sur les plans génétique, zootechnique et organisationnel.

Le travail réalisé a permis également de mener un test scientifique afin d'évaluer les capacités des hybrides produits à survivre en milieu salin (aspect physiologique). Enfin, les enjeux de ce projet ainsi que ceux de la coopération sont abordés en fin de rapport.

Mots-clés : Philippines, poisson, tilapia, *Oreochromis*, génétique, hybridation, sélection, salinité, croissance, zootechnie, biométrie, coopération.

REMERCIEMENTS

Le bon déroulement de ce stage aux Philippines n'aurait pas été possible sans le soutien de personnes que je tenais à remercier particulièrement.

Voilà **Pierre**, tu es le premier sur la liste... Je voulais te remercier pour tes conseils avisés, ta générosité et ta bonne humeur qui m'auront beaucoup aidé durant ces six mois inoubliables. Je prendrais beaucoup de plaisir à te rencontrer à nouveau si nos routes se croisent... Je garde bien à l'esprit que "La diversité des fleurs fait la beauté du jardin"...

Second, I have a special dedication for **Sir Westly**. I want to say thank you (*Maraming salamat !!*) to have provided for my material need (room, merienda, ...) during six months. You were so nice with me, that, deeply in my heart, it's impossible to forget that. Say thank you also to your wife... an exceptional woman !

Je tenais à remercier également all the **BFAR team** and particularly Del, Fe, Efren & Joey, Jany, Jenny & Sole (OCC) and all the workers like Mr & Madam Gamboas, Manang, Jojo, Johanes, Vic, Roberto, Geronimo, Carmi, Eves, Paul, Jean-Paul, Tita, Maymay, Mangoy,... and all the others that I forget.

Special thanks also for **Rolly Edra**. Take care of the Molobicus project !

Je voulais également remercier **Alice & Hélène** pour m'avoir fait partager leur compagnie enrichissante et **Sébastien** pour m'avoir accompagné dans mes pérégrinations philippines.

Merci sincère à **Jérôme** pour sa bonne humeur et sa gaieté aux Philippines ainsi que ses conseils attentionnés concernant l'avenir professionnel toujours incertain.

Merci également à toute l'**équipe du GAMET** pour m'avoir accueilli dans le cadre d'un stage pratique sur le tilapia. Brigitte (honneur aux dames !) est bien sûr au centre de ces remerciements ainsi qu'Alain, Martial et Fred.

Je remercie également **Xavier Rognon** pour m'avoir consacré une partie de son temps à l'INAPG.

Je remercie **Jean-François Baroiller** pour m'avoir accueilli à Rennes dans son bureau et m'avoir consacré une partie de sa journée de travail.

Je n'oublie pas non plus de remercier **Marie-Caroline** et **Brigitte** (secrétaires au CIRAD-EMVT) pour leur gentillesse.

Enfin, je voulais dire un merci plus qu'amical à ce sacré **Jean-Charles** qui reste un très bon copain et à tous les camarades de promo comme **Alice**, **Loïc**, **Alex**, **Jérôme**, **Delphine**, **Sophie** et j'en passe !

Mes derniers mots vont à **Anabelle**, à sa beauté, son exotisme, son sourire, sa délicatesse et sa joie de vivre...

Paalam filipino. Kita tayo mamaya. I miss you.

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE.....	1
1. CADRE DU TRAVAIL.....	2
1.1 Les Philippines et la place de la pisciculture dans ce pays.....	2
1.2 Le centre BFAR : un centre de développement avant tout.....	2
1.2.1 Informations générales.....	2
1.2.2 Fonctions.....	4
1.2.3 Projets majeurs.....	4
1.2.4 Département laboratoire.....	4
1.2.5 Equipements.....	4
1.3 Le projet HIT et sa composante Molobicus.....	5
1.3.1 Le projet HIT.....	5
1.3.2 Présentation du projet Molobicus.....	7
1.3.2.1 Présentation succincte.....	7
1.3.2.2 Nomenclature adoptée.....	7
1.3.2.3 Le protocole général de Molobicus.....	9
1.3.2.4 Schéma de croisement par familles.....	11
1.3.2.5 Aspect génomique.....	13
1.3.3 Précautions prises pour la pérennité du projet Molobicus.....	13
1.3.3.1 Pourquoi choisir l'hybridation ?.....	13
1.3.3.2 Choix des espèces et des souches.....	13
1.3.3.3 Ajout de variabilité.....	15
1.3.3.4 Croisements réciproques.....	15
1.3.3.5 Séparation des stocks de géniteurs hybrides et d'espèces pures.....	16
1.3.3.6 Méthode de sélection adoptée.....	16
2. ETABLISSEMENT D'UN PROGRAMME DE STAGE.....	18
2.1 Etat des lieux.....	18
2.1.1 Etat des lieux sur l'avancement du projet : un projet démarré deux ans auparavant.....	18
2.1.2 Installations en place.....	18
2.1.2.1 Un laboratoire humide.....	18
2.1.2.2 Partie couverte à l'extérieur du laboratoire humide.....	21
2.1.2.3 A l'extérieur de la partie couverte.....	21
2.1.3 Organisation en place.....	21
2.2 Propositions liées aux domaines zootechnique, génétique, physiologique et organisationnel.....	23
2.2.1 L'aspect zootechnique.....	23
2.2.2 L'aspect génétique.....	23
2.2.3 L'aspect physiologique.....	23
2.2.4 L'aspect organisationnel.....	23
3. REALISATION DU STAGE.....	24
3.1 Description exhaustive de l'état des lieux : manipulations effectuées, travail réalisé.....	24
3.1.1 Nourrissage.....	24
3.1.1.1 Nourrissage des larves.....	24
3.1.1.2 Nourrissage des alevins.....	24
3.1.1.3 Nourrissage des poissons en bacs cimentés.....	24
3.1.1.4 Nourrissage des géniteurs en aquariums.....	26
3.1.2 Nettoyage.....	26
3.1.2.1 Les incubateurs pour l'éclosion.....	26
3.1.2.2 Les aquariums pour les reproducteurs.....	27
3.1.2.3 Bacs bétonnés, bacs circulaires en extérieur.....	27
3.1.2.4 Bassins cimentés avec hapas.....	27

3.1.3 Reproductions entre tilapias.....	27
3.1.3.1 Reproduction artificielle : création d'hybrides interspécifiques.....	27
3.1.3.2 Reproduction naturelle.....	31
3.1.4 Transfert des poissons.....	31
3.1.5 Le marquage des poissons utilisés dans les croisements.....	31
3.1.5.1 Méthode employée pour le marquage des géniteurs.....	31
3.1.5.2 Collecte d'échantillons de nageoires.....	33
3.1.6 Echantillonnage biométrique des poissons.....	33
3.2 Analyse, identification des contraintes.....	36
3.2.1 Diagnostic des problèmes rencontrés sur le plan zootechnique.....	36
3.2.1.1 Pathologies rencontrées.....	36
3.2.1.2 La nourriture et les pratiques de nourrissage.....	37
3.2.1.3 Les incubateurs.....	39
3.2.1.4 Problème dans les reproductions.....	41
3.2.1.5 Intérêt d'un échantillonnage biométrique.....	44
3.2.1.6 Données sur les mortalités au cours des différents transferts.....	51
3.2.2 Problèmes rencontrés au niveau de l'organisation.....	57
3.2.2.1 La sauvegarde des données.....	57
3.2.2.2 L'organisation générale de l'équipe.....	58
3.3 Améliorations apportées dans différents domaines.....	58
3.3.1 Quelques solutions envisagées.....	58
3.3.1.1 Traitements réalisés.....	58
3.3.1.2 Amélioration de la nourriture.....	60
3.3.1.3 Les incubateurs.....	63
3.3.1.4 Le stockage : prévisions.....	65
3.3.2 Activités réalisées pour améliorer l'organisation.....	65
3.3.2.1 Le recours à l'informatique.....	65
3.3.2.2 Points débattus lors des réunions.....	73
3.3.2.3 Réorganisation des hapas.....	74
3.4 Evaluation de la qualité des hybrides produits : le test de salinité.....	75
3.4.1 Description des tests de salinité.....	75
3.4.1.1 But de ces tests.....	75
3.4.1.2 Matériel.....	75
3.4.1.3 Protocole commun.....	75
3.4.1.4 Conditions particulières.....	76
3.4.2 Résultats des expérimentations.....	77
3.4.2.1 Taux de survie en fonction de l'âge à 35 ‰ de salinité.....	77
3.4.2.2 Taux de survie en fonction de différentes salinités.....	84
3.4.2.3 Taux de survie à 26 ‰.....	84
3.4.3 Interprétation des résultats.....	89
3.4.3.1 Taux de survie en fonction de l'âge à 35 ‰.....	89
3.4.3.2 Taux de survie en fonction des différentes salinités.....	89
3.4.3.3 Taux de survie à 26 ‰.....	89
3.4.4 Discussion.....	90
3.4.4.1 Pertinence des tests menés.....	90
3.4.4.2 Précision des résultats.....	90
3.4.5 Conclusion sur ces tests.....	90

4. QU'EST-CE QUE LA COOPERATION AUX PHILIPPINES ?

(DANS LE CADRE DU PROJET MOLOBICUS).....	92
4.1 Savoir s'inclure au sein d'une équipe et d'un pays.....	92
4.2 Rester en arrière plan dans un projet.....	92
4.3 Appropriation du projet par les représentants philippins.....	93

5. DISCUSSION : APPRECIATION SYNTHETIQUE SUR LE PROJET, PERSPECTIVES.....

94

6. CONCLUSION.....

95

LISTE DES ABREVIATIONS ET SIGLES

BFAR : Bureau of Fisheries and Aquatic Resources

BFAR-NIFTDC : Bureau of Fisheries and Aquatic Resources - National Integrated Fisheries Technology Development Center

FAO : Food and Agricultural Organization (United Nations)

ICLARM : International Center for Living Aquatic Resources Management

IFREMER : Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique

GAMET : Groupe Aquaculture Continentale Méditerranéenne et Tropicale

PCAMRD : Philippine Council for Aquatic and Marine Research and Development

Introduction générale

La population des pays en voie de développement s'accroît de plus en plus rapidement. Les pays d'Asie et plus particulièrement les Philippines ne font pas exception à la règle (taux de fécondité des Philippines autour de 5). L'aquaculture et plus précisément la pisciculture y sont très développées. Cette activité contribue pour une grande part à l'alimentation des populations locales.

Dans cette optique, les poissons faciles à élever et présentant des exigences alimentaires peu importantes (poissons à chaîne alimentaire courte) sont privilégiés. Le groupe des tilapias qui rassemble les genres *Oreochromis*, *Sarotherodon* et *Tilapia* (famille des Cichlidés) présente ces qualités. Ce groupe est l'un des plus produits dans les piscicultures d'eau douce tropicale. Sa production pour 1997 est de 900 000 tonnes et ce chiffre est en augmentation constante (données FAO). Les 85 % de cette production se déroulent dans la zone asiatique (Chine, Philippines,...) bien que les espèces utilisées soient originaires du continent africain.

La grande plasticité du tilapia lui permet de s'adapter à de nombreux milieux et c'est en partie cette faculté qui explique le succès de son élevage un peu partout dans le monde.

L'archipel philippin dispose d'une surface de 240 000 hectares d'étangs de pisciculture en eau saumâtre. La conquête et la valorisation de telles zones présente un intérêt majeur pour réduire la pression exercée par le secteur piscicole sur le domaine dulcicole. En effet, l'eau douce est plus facilement exploitable pour les activités humaines (prélèvement d'eau potable notamment).

Dans ce contexte, l'idée d'un tilapia adapté au milieu saumâtre associé à de bonnes performances de croissance a germé dans de nombreux esprits. La littérature est remplie des différents essais tentés pour arriver à ce but. Les recherches dans ce sens ont visé dans un premier temps à effectuer l'inventaire des espèces de ce groupe susceptibles de permettre un développement piscicole intéressant. Par la suite, des hybrides F_1 ont été fabriqués de façon assez désordonnée. Les résultats de ces croisements n'ont pas toujours été à la hauteur des espérances des pisciculteurs. En effet, les performances de ces F_1 sont intermédiaires à celles de leurs parents et les caractères des hybrides ne sont pas transmissibles aux générations suivantes (implique une dépendance des pisciculteurs vis-à-vis des écloséries pour l'approvisionnement en alevins).

De la coopération France-Philippines est né en 1998 un projet à même de répondre de façon plus réaliste aux attentes des pisciculteurs. Le projet Molobicus (dénommé ainsi par la fusion des deux noms d'espèces : *mossambicus* et *niloticus*) est un programme original d'hybridation, de back-crossing successifs et de sélection à partir de deux espèces de tilapias : *Oreochromis niloticus* et *Oreochromis mossambicus*. L'*O. niloticus* a été choisi pour ses bons caractères de croissance et l'*O. mossambicus* pour sa résistance en milieu salin.

Dans ce rapport seront abordés tous les problèmes rencontrés dans l'élaboration d'un tel programme et les améliorations envisagées et testées dans le contexte philippin.

1. Cadre du travail

1.1 Les Philippines et la place de la pisciculture dans ce pays

Situé à l'écart du reste de l'Asie du Sud-Est, l'archipel des Philippines s'étend entre 4°23' et 21°25' de latitude Nord, 116° et 126°30' de longitude Est, baigné au Nord par la mer de Chine méridionale, à l'Est par l'océan Pacifique (mer des Philippines), au Sud par la mer de Célèbes et au Sud-Ouest par la mer de Sulu (voir **figure 0**).

Le pays qui s'étale sur une longueur de 2 000 km, a une superficie d'environ la moitié de celle de la France. Ses 7 100 îles ou îlots constituent un archipel montagneux et volcanique au climat chaud et humide.

Le développement des côtes atteint 23 000 km soit presque celui des côtes des Etats-Unis. Les produits de l'océan et de la pêche ont une place déterminante dans le régime alimentaire des Philippines.

L'aquaculture est en forte croissance : les Philippines sont classées au 9^{ème} rang mondial en 1996. Le secteur piscicole y contribue pour une part importante : 954 000 tonnes de poissons ont été produits en 1998. Les élevages de tilapias se multiplient et leurs productions sont évaluées pour l'année 1998 à 72 000 tonnes.

A cela s'ajoute une forte production de milkfish (*Chanos chanos*) évaluée à 162 000 tonnes pour 1998 (données FAO, 1999).

1.2 Le centre BFAR : Un centre de développement avant tout

Avant de démarrer dans les détails plus ou moins techniques du protocole d'hybridation, une présentation succincte du centre d'accueil et des installations de ce projet aux Philippines paraissait inévitable.

1.2.1 Informations générales

Le centre d'accueil BFAR (Bureau of Fisheries and Agricultural Research) est situé à Bonuan Binloc, Dagupan City. De façon plus globale, celui-ci se trouve dans le golfe de Lingayen (province de Pangasinan) au Nord de l'île de Luzon (île située au Nord des Philippines).

Ce centre est un complexe moderne pour la recherche aquacole, la production et la formation des aquaculteurs. Ce centre localisé près de la mer de Chine s'étend sur une surface de 24 hectares (**figure 1**).

Les opérations d'installation des équipements ont débuté en 1985. Sous accord bilatéral avec le JICA (Japan International Cooperation Agency, Japon), les équipements et l'assistance technique ont été fournis par ce dernier jusqu'en septembre 1996. Les équipements ont été légués ensuite au BFAR en mai 1997.

Appartenant à l'un des six principaux centres BFAR des Philippines, le centre de Dagupan a été qualifié de NIFTDC (Integrated National Fisheries Technology Development Center).

Ce centre sert à promouvoir le développement des pratiques aquacoles, la reproduction de poissons en tous genres, la propagation des crustacés et mollusques, la production d'algues rouges (*Porphyra spp.*) et les technologies de transformation des produits alimentaires.



Carte 1



Carte 2

Document 1
LES PHILIPPINES

Carte 1 : Localisation géographique des Philippines.

Carte 2 : Carte des Philippines.

Carte 3 : Carte de l'île de Luzon.



1.2.2 Fonctions

- Conseils pour permettre le développement des industries piscicoles du pays.
- Servir de centre de recherche pour les poissons d'eau douce et marins comme les milkfish (*Chanos chanos*), siganidés (*Siganus spp.*), mérours (*Epinephelus spp.*), ludong (*Cestreaus plicatilis*), tilapia ; fruits de mer tels que huîtres, palourdes, crabes, *Macrobrachium*, et autres espèces à haute valeur économique.
- Servir de centre d'approvisionnement en nourriture naturelle (phytoplancton) afin d'alimenter les écloséries gouvernementales et privées.
- Fournir des services techniques et de contrôle de laboratoires pour évaluer la santé des poissons, la qualité de l'eau et la microbiologie.
- Conduite de surveillances environnementales de baies et d'estuaires.
- Etablir, maintenir et gérer des projets pilotes.
- Conduite de formation et d'assistance ou conseils techniques aux institutions piscicoles gouvernementales et privées, aux pêcheurs et étudiants.
- Lancer des programmes de pisciculture en coopération avec des agences nationales et internationales.

1.2.3 Projets majeurs

- Production commerciale d'alevins et de juvéniles de *Chanos chanos* (milkfish).
- Production commerciale de *Macrobrachium rosenbergii* (crevettes d'eau douce).
- Elevage et reproduction de mérours, milkfish, rabbitfish, brème de mer (*Lates calcarifer*), carangues.
- Développement d'une pêcherie de Ludong au Nord de Luzon, dans le but de protéger cette espèce.
- Développement de stocks de reproducteurs pour différentes espèces de poissons.
- Propagation et culture de *Porphyra* (algue rouge).
- Développement d'un tilapia adapté au milieu saumâtre.
- Production de diverses espèces ornementales de poissons.
- Production commerciale de loches de rivières (*Misgurnus spp.*).
- Elevage et reproduction intensive d'huîtres.
- Suivi de la qualité de l'eau des zones de production d'huîtres et des fronts de mer dans le golfe de Lingayen.
- Développement de produits piscicoles et mise à l'essai de nouveaux produits sur le marché.

1.2.4 Département laboratoire

- Analyse hydrologique : température, salinité, oxygène dissous, pH, matières en suspension, chlorophylle a et nutriments tels que ammoniacque, nitrite, phosphate.
- Analyse de sols : sulfites d'hydrogène totaux, macro-benthos, texture du sol, etc.
- Tests microbiologiques : eau/nourriture, coliformes totaux, test pour évaluer les eaux potables, *Salmonella*, *Vibrio*, test pour le virus *Monodon Baculo* (recommandé pour les juvéniles de crevettes).

1.2.5 Equipements

- Laboratoire de microbiologie.
- Laboratoire de production de nourriture naturelle.

- Laboratoire de limnologie et de qualité eau/sol.
- Equipements pour la production d'algues (*Porphyra*).
- Cages marines pour la production de reproducteurs de poissons en tous genres à Sual.
- Station expérimentale d'huîtres.
- Aquariums et bacs de reproduction pour les poissons d'aquariums.
- Prototypage d'épuration pour les bivalves (unité de stérilisation par les UV).
- Ecloseries pour poissons avec tout l'équipement tel que systèmes d'aération, bacs, laboratoires, filets, ...
- Complexe pour la production des alevins de *Chanos chanos*.
- Etangs de piscicultures cimentés ou non, eau saumâtre/eau douce.
- Bâtiment pour l'élaboration de produits agro-alimentaires.

Cette station placée sous la tutelle du ministère de l'agriculture philippin accueille environ 200 employés incluant des stagiaires venus pour apprendre des nouvelles techniques.

Le mode de fonctionnement d'une équipe de travail reste très imprégné par le respect de la hiérarchie. En ce sens, la réalisation de certaines activités ne se fera pas de la même façon qu'en France (point développé au 4).

La multiplicité des projets au sein d'une même structure rend parfois complexe l'organisation (point développé au 3.2.1.6).

1.3 Le projet HIT et sa composante Molobicus

1.3.3 Le projet HIT

Le stage proposé par le CIRAD a été réalisé au sein du projet Molobicus. Il s'inclut dans le cadre de la coopération franco-philippine. Le projet Molobicus fait partie intégrante d'un projet plus vaste : le projet d'Hybridation Intergénérique des Tilapias (HIT).

Les principaux objectifs du projet HIT sont doubles :

1. Analyse de l'association et de la ségrégation de caractères parentaux (zootechniques, enzymatiques et moléculaires) dans des hybrides intergénériques et interspécifiques de tilapia.
2. Faisabilité de la création de souches résistantes au milieu salin par hybridation et sélection génétique.

Outre leur intérêt zootechnique, les hybrides intergénériques de tilapias constituent d'un point de vue génétique « des modèles originaux et adaptés à l'analyse de l'association et de la ségrégation des caractères parentaux » (Baroiller, 1997.).

En effet, les nombreuses différences entre les espèces parentales (croissance, reproduction, comportement parental, résistance à la salinité...) et les nombreux marqueurs moléculaires identifiés chez les tilapias (plus de 130 microsatellites décrits) permettent un bon suivi des caractères génétiques au cours des générations.

Deux programmes ont été élaborés en parallèle pour répondre à l'objectif de faisabilité de création d'une nouvelle souche résistante au milieu salin.

L'un d'eux est réalisé dans les locaux du GAMET (Groupe Aquaculture Continentale Méditerranéenne et Tropicale) de Montpellier, sous l'égide du CIRAD-EMVT. Il s'agit d'un programme d'hybridation entre les deux espèces *Sarotherodon melanotheron* et *Oreochromis niloticus* (production d'hybrides F₁, F₂ ...).



Photo 1 : Le centre BFAR de Dagupan (Philippines) et ses infrastructures.



Photo 2 : Le projet Molobicus et ses infrastructures en extérieur.

L'autre programme nommé Molobicus est réalisé au centre BFAR des Philippines.

1.3.4 Présentation du projet Molobicus

1.3.2.1 Présentation succincte

Ce projet réalisé en coopération avec le CIRAD, l'INRA, l'INAPG, l'IFREMER pour les organismes français, et le PCMARD, l'ICLARM, le BFAR - NIFTDC pour les organismes philippins, cherche à créer une souche de tilapia à forte croissance capable de vivre en milieu saumâtre (**figure 2**).

Pour arriver à ce résultat, un programme d'hybridation d'une durée de 6 ans a été lancé entre deux espèces du genre *Oreochromis*.

La première espèce employée - *Oreochromis niloticus* – (**figure 3**) est réputée à travers le monde pour :

- sa bonne croissance,
- sa robustesse,
- ses facilités de reproduction,
- mais, une mauvaise résistance au stress salin,

Dans son continent d'origine (Afrique), ce tilapia est plus communément nommé "tilapia du Nil". Son élevage est très répandu, et la majeure partie de sa production en aquaculture, se fait en Asie où il a été introduit avec succès. Il a été introduit aux Philippines en 1972.

La deuxième – *Oreochromis mossambicus* – (**figures 4 & 5**) possède :

- une croissance médiocre,
- une couleur foncée peu appréciée par le consommateur dans certains pays (ce n'est plus le cas actuellement aux Philippines),
- une bonne résistance au stress salin (27 ‰ en transfert direct et 120 ‰ en transfert graduel),
- des caractères de reproduction extrêmement intéressants. (grand nombre d'œufs, âge de maturité sexuelle précoce...) Ce tilapia peut s'avérer envahissant dans certains cas (invasion d'étangs de pisciculture destinés à la production d'autres espèces).

Ce tilapia est lui aussi originaire d'Afrique où il possède la capacité de vivre en zone lagunaire.

Son introduction aux Philippines date des années 50. Celle-ci a été faite par le Dr Diogracias V. Villadolid. Ses mauvaises caractéristiques de croissance ont très vite amené les Philippines à le considérer comme une espèce peu valorisable voire même nuisible dans la grande majorité des cas.

Après cette présentation succincte des deux espèces employées dans le projet, nous allons voir à présent comment s'articule de façon plus précise le protocole de celui-ci.

1.3.2.2 Nomenclature adoptée

Un système d'abréviation a été mis en place pour simplifier au maximum les appellations pour les poissons et les différentes fratries.

Les noms en vigueur sont donc les suivants :

Le croisement entre une femelle *O. mossambicus* x mâle *O. niloticus* donne en descendance des individus appelés MoNi.



Photo 3 : L'*Oreochromis niloticus* est un poisson du groupe des tilapias qui présente des bonnes performances de croissance et des exigences alimentaires peu importantes.



Photo 4 : L'*Oreochromis mossambicus* (ici un mâle) présente des mauvaises performances de croissance, mais il est capable de vivre en milieu salin.



Le croisement entre un mâle *O. mossambicus* x femelle *O. niloticus* donne en descendance des individus appelés NiMo, la première partie du nom étant donnée par la femelle. Les individus issus du croisement mâle *O. mossambicus* x femelle *O. mossambicus* sont appelés MσMo.

Les différentes générations sont comptabilisées de la manière suivante :

- G0 pour les parents d'espèces pures,
- G1 pour les hybrides de première génération,
- G2 pour les individus issus du premier back-cross,
- G3 pour les individus issus du deuxième back-cross ...

Les individus hybrides de première génération sont appelés H1, ceux de deuxième génération H2,...

Les individus purs *O. mossambicus* de première génération sont appelés M1, ceux de deuxième M2,...

Un exemple pour ceux qui seraient perdus : le croisement en G0 entre une femelle *O. niloticus* x mâle *O. mossambicus* donne un hybride F1 autrement appelé NiMo, mais aussi H1 (hybride de première génération).

1.3.2.3 Le protocole général de Molobicus

D'un point de vue technique, cette opération bien planifiée peut se décomposer en deux phases bien distinctes.

Première étape : Les croisements proprement dits.

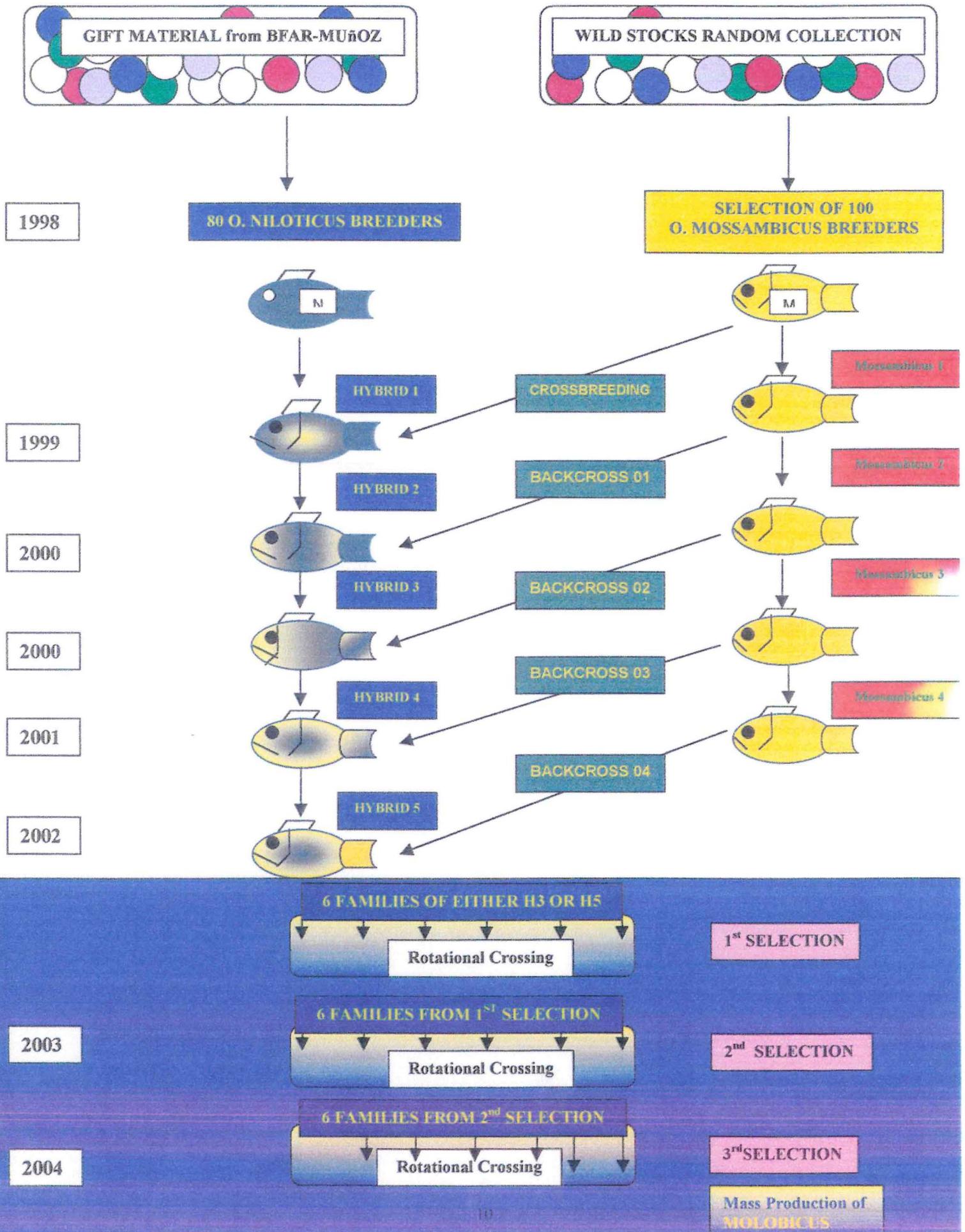
- Des croisements entre *Oreochromis niloticus* (caractères de bonne croissance) et *O. mossambicus* (bonne résistance au stress salin) sont effectués dans les deux sens (obtention d'hybrides F₁ et F₁[']).
- Ces groupes d'hybrides de première génération sont sélectionnés sur un caractère de croissance (sélection massale : choix des individus les plus gros).
- Ces individus sont croisés en retour (back-cross) avec des géniteurs d'*O. mossambicus* pendant quatre à cinq générations.
- Ce croisement permet l'introgression de gènes de résistance à la salinité.
- Grâce à un test de salinité, les capacités d'adaptation au milieu salin sont évaluées pour chaque génération (G0, G1, G2, ...).
- Si les individus ne présentent pas un niveau d'adaptation à la salinité voisin d'*O. mossambicus*, un ou deux cycles d'introgression supplémentaires sont nécessaires.

Deuxième étape : Sélection plus fine et production à grande échelle.

- Une sélection intragroupe sur le caractère de croissance est réalisée en dernier lieu pour ne garder que les reproducteurs avec le meilleur potentiel.
- Six groupes de ces reproducteurs sont croisés ensemble. Durant trois générations, des croisements entre ces individus à haut potentiel sont effectués.
- La production massive de ce nouveau tilapia (but principal de ce projet) est lancée si les caractères attendus (bonne croissance et résistance à la salinité) sont bien présents.

Le document 2 résume ce protocole en image.

Schematic Diagram of the Genetic Selection for a Salinity Tolerant Tilapia Through Hybridization



Tout au long du projet, le suivi des reproducteurs est possible grâce à la pose de marques magnétiques incluses dans la musculature du poisson (Cf. marquage 3.1.5). La généalogie de tous les poissons a été établie de façon à synthétiser tous les croisements effectués dans ce programme (Cf. document 9).

1.3.2.4 Schéma de croisement par familles

Après ce protocole général, nous allons maintenant voir de façon plus précise comment doivent se dérouler les différents croisements (document 3).

En génération G0

- Six *Oreochromis niloticus* (3 mâles et 3 femelles) servent à produire les six familles d'hybrides de première génération. (H1A à H1F) Ces hybrides ont été nommés également MoNi (si la mère est une *O. mossambicus*) et NiMo (si la mère est une *O. niloticus*).
- Six *Oreochromis mossambicus* (3 mâles et 3 femelles) sont utilisés pour produire les hybrides H1.
- Douze *O. mossambicus* (6 femelles et 6 mâles) servent à produire des purs *O. mossambicus* (autrement appelés MoMo).

En génération G1

- Les femelles des familles H1A, H1B et H1C (autrement appelées MoNi1, MoNi2, MoNi3) sont sélectionnées pour produire respectivement H2A, H2B, H2C.
- Les mâles des familles H1D, H1E et H1F (autrement appelés NiMo1, NiMo2, NiMo3) sont sélectionnés pour produire respectivement H2D, H2E, H2F.
- Les mâles des familles M1A, M1B, M1C (autrement appelés MoMo1, MoMo2, MoMo3) sont sélectionnés pour produire respectivement H2A, H2B, H2C.
- Les femelles des familles M1D, M1E, M1F (autrement appelées MoMo4, MoMo5, MoMo6) sont sélectionnées pour produire respectivement H2D, H2E, H2F.
- Les individus sélectionnés dans les familles M1A à M1F sont croisés entre eux pour produire les familles M2A à M2F (une rotation est organisée à l'intérieur de ces croisements).

Les générations G2-G3

- Les croisements s'effectuent de la même façon qu'en G1 en respectant une alternance mâle / femelle au cours des générations (point développé dans le 1.3.3.4, croisements réciproques.).

En génération G4

- Les croisements s'effectuent de la même façon que pour les générations précédentes, mais on ne produit plus d'individus purs *O. mossambicus*.

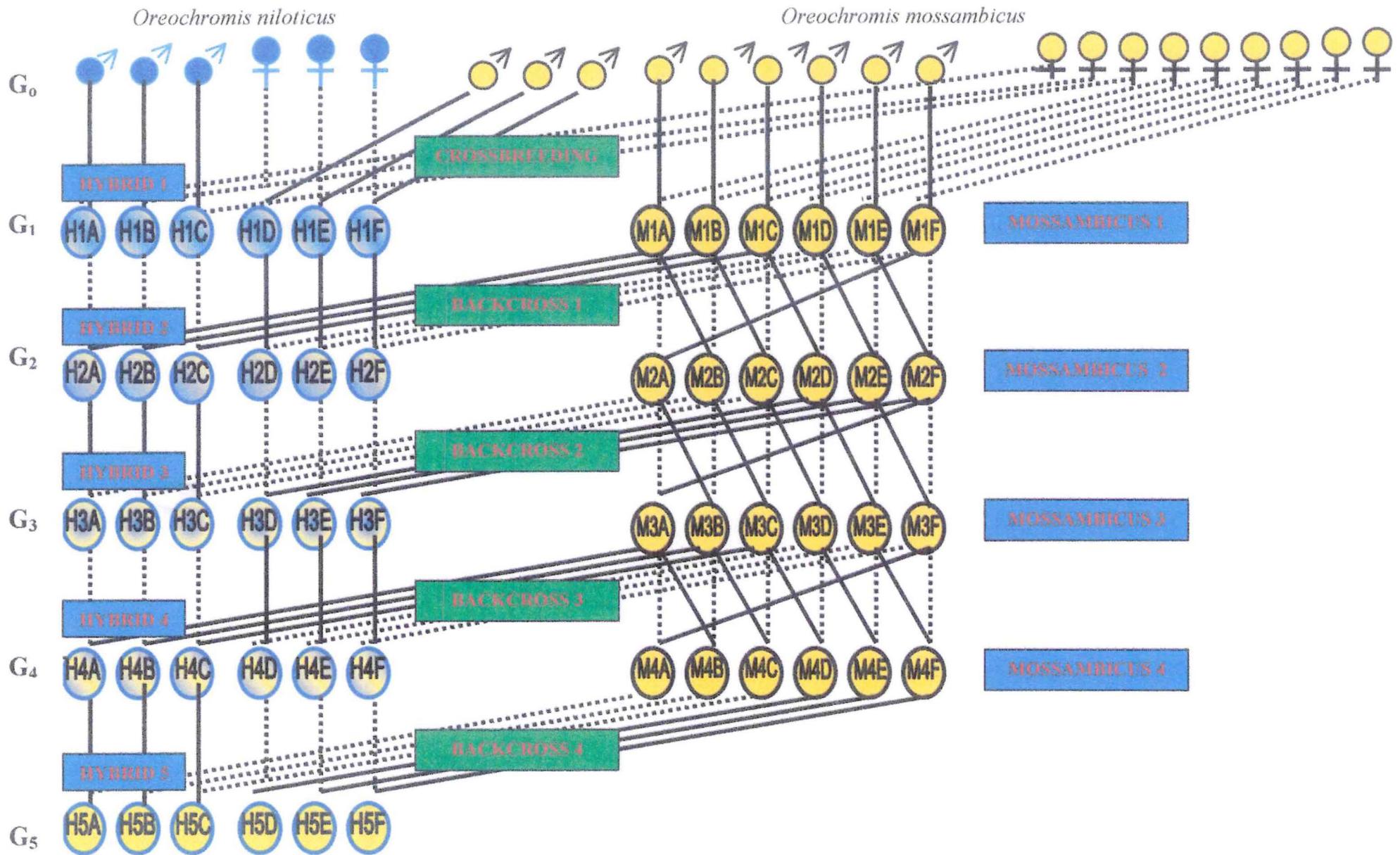
En génération G5

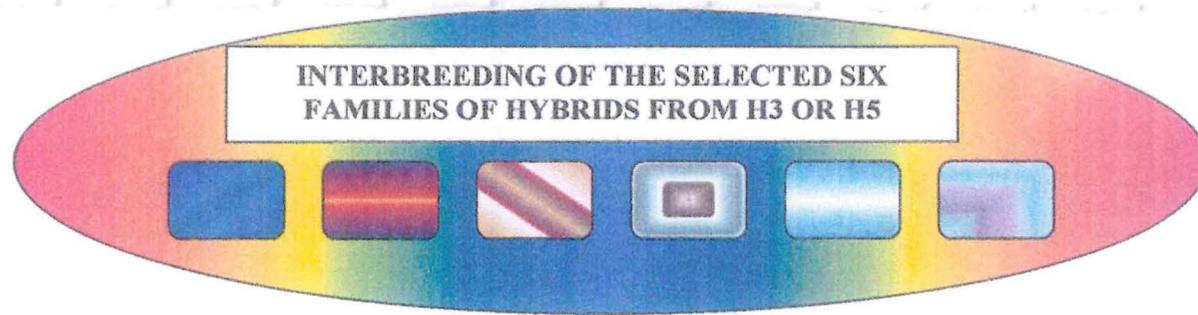
- Les six familles d'hybrides sont croisées entre elles.

Sélections sur le caractère de croissance.

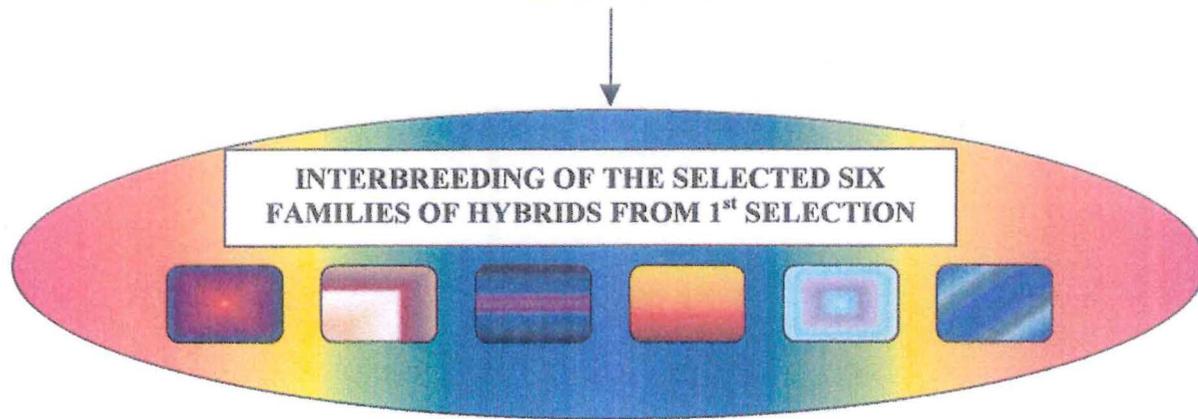
- Durant trois générations, les individus sont croisés entre eux et les individus avec la meilleure croissance sont conservés.

ROTATIONAL BACKCROSSING SCHEME TO DEVELOP A SALINE TOLERANT TILAPIA

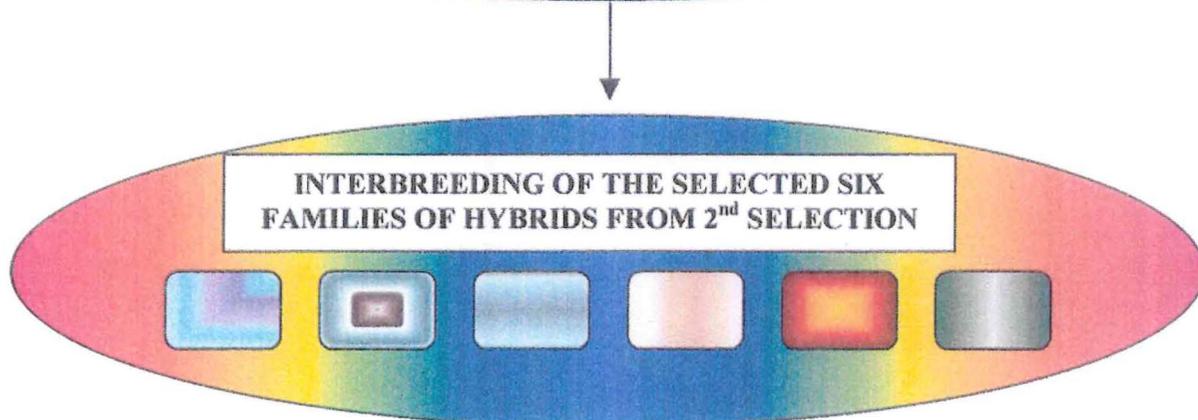




1st SELECTION FOR GROWTH



2nd SELECTION FOR GROWTH



3rd SELECTION FOR GROWTH

MASS PRODUCTION OF MOLOBICUS

Production finale

- La production massive de cette nouvelle souche de tilapia à bonne croissance et résistante à la salinité est lancée.

Ce protocole expérimental étant expliqué, il est intéressant à présent de regarder quelques points de génomique.

1.3.2.5 Aspect génomique (document 4)

Au cours des différentes générations d'hybrides, la part de gènes d'*O. mossambicus* dans le génome total augmente (résultat des back-cross successifs avec *O. mossambicus*).

Les parts respectives du génome d'*O. mossambicus* et d'*O. niloticus* au fur et à mesure des générations sont représentées dans le **document 4**.

A la fin du schéma de croisement, la part de gènes d'*O. mossambicus* dans le génome de l'hybride de cinquième génération sera de 96,825 %. La ressemblance avec un pur *O. mossambicus* sera donc importante.

1.3.3 Précautions prises pour la pérennité du projet Molobicus

1.3.3.1 Pourquoi choisir l'hybridation ?

Une question toute simple pourrait être soulevée à la vue du projet Molobicus. Pourquoi s'être lancé dans un programme d'hybridation et non pas dans un programme de sélection ?

Tout d'abord, il faut savoir que l'hybridation permet d'améliorer rapidement une souche et la mise en place de tels programmes ne nécessite pas une technologie élevée. De plus, les techniques de management sont moins exigeantes par rapport aux programmes de sélection qui se font sur du long terme (Gjerde, 1998).

Ensuite, le phénomène d'hybridation augmente l'héritabilité pour un caractère donné grâce à un ajout de variance génétique additive (Tave, 1986). Ceci accélère l'amélioration d'une souche au cours des générations.

Cependant, avant le lancement de ce projet, de multiples précautions ont été prises pour s'assurer de sa réussite.

1.3.3.2 Choix des espèces et des souches

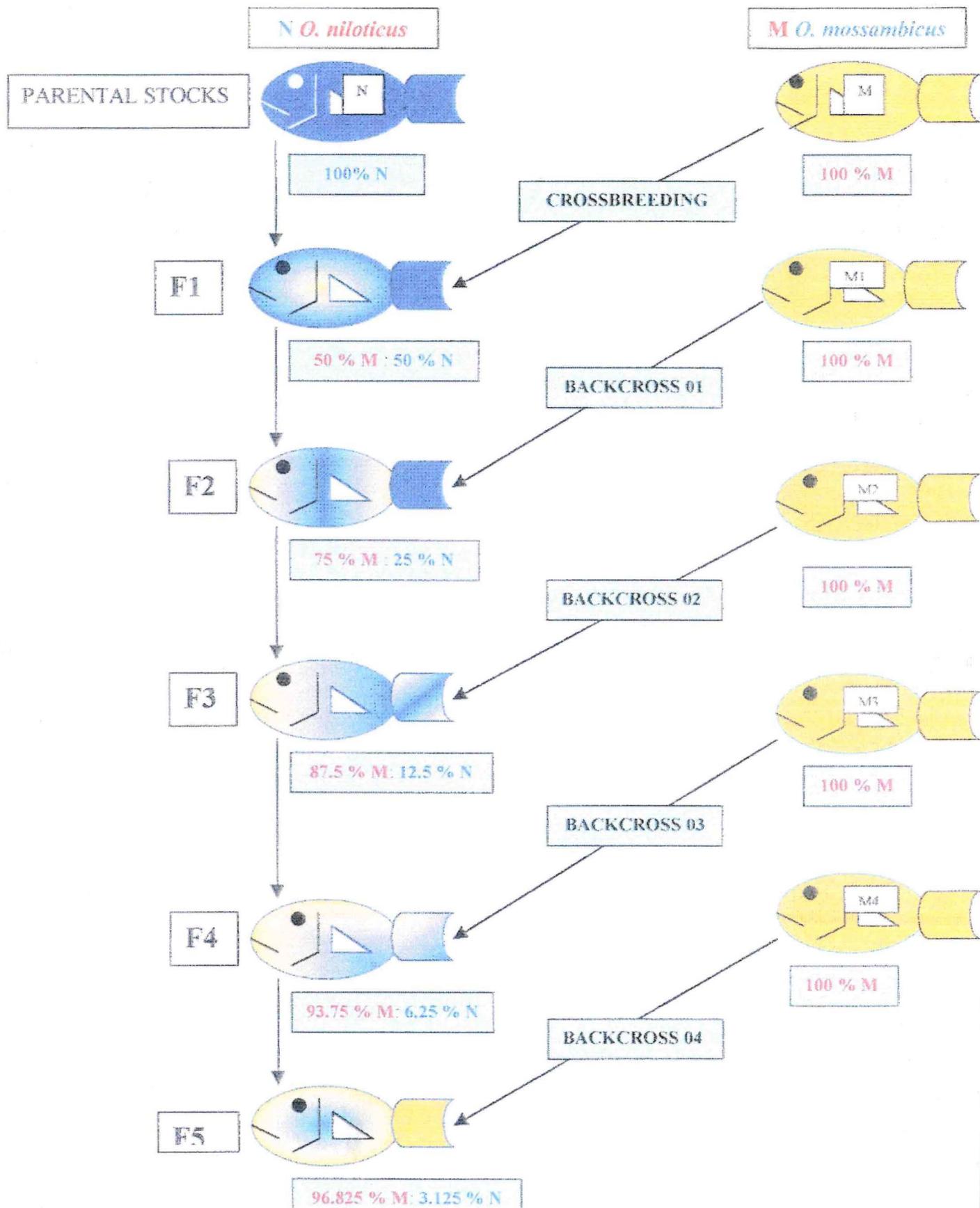
L'*Oreochromis niloticus* a été choisi pour ses bons caractères de croissance et une souche de ce tilapia provenant de Muñoz a été utilisée. Cette souche de tilapia appelée GIFT (Genetic Improvement of Farmed Tilapia) est une souche améliorée d'*O. niloticus* grâce à une méthode d'élevage sélectif au sein d'une même famille.

Cette souche synthétique issue de sept années de sélection sur le critère de croissance à partir de huit souches différentes de ce tilapia (quatre originaires d'Afrique et quatre originaires d'Asie) provient d'un projet de collaboration entre l'ICLARM, le BFAR, le FAC-CLSU (Freshwater Aquaculture Center of the Central Luzon State University) et le Norvégain Institute of Aquaculture Research de Akvavorsk.

La croissance de cette souche est 50 à 60 % supérieure, si on la compare aux souches locales philippines.

L'*Oreochromis mossambicus* a été choisi pour ses caractères de résistance à la salinité. En transfert direct, ce tilapia survit à 27 ‰ et en transfert graduel à 120 ‰. Le tilapia *Sarotherodon melanotheron* possède des meilleures performances pour cet aspect. Il fait actuellement partie intégrante d'un programme d'hybridation réalisé en parallèle avec Molobicus au CIRAD de Montpellier (France).

Part relative des génomes de *O. mossambicus* et de *O. niloticus* au cours des différents croisements



Le choix de l'*O. mossambicus* aux Philippines a été effectué plus pour des raisons pratiques que scientifiques. En effet, depuis les années 50, l'*O. mossambicus* fait partie du paysage philippin. De ce fait, d'un point de vue purement administratif, l'utilisation de cette espèce était plus pratique. (problème toujours épineux de l'introduction d'une espèce étrangère au pays : action sur les faunes locales...)

La souche d'*O. mossambicus* utilisée pour le projet Molobicus est issue de trois localisations dans la province de Pangasinan.

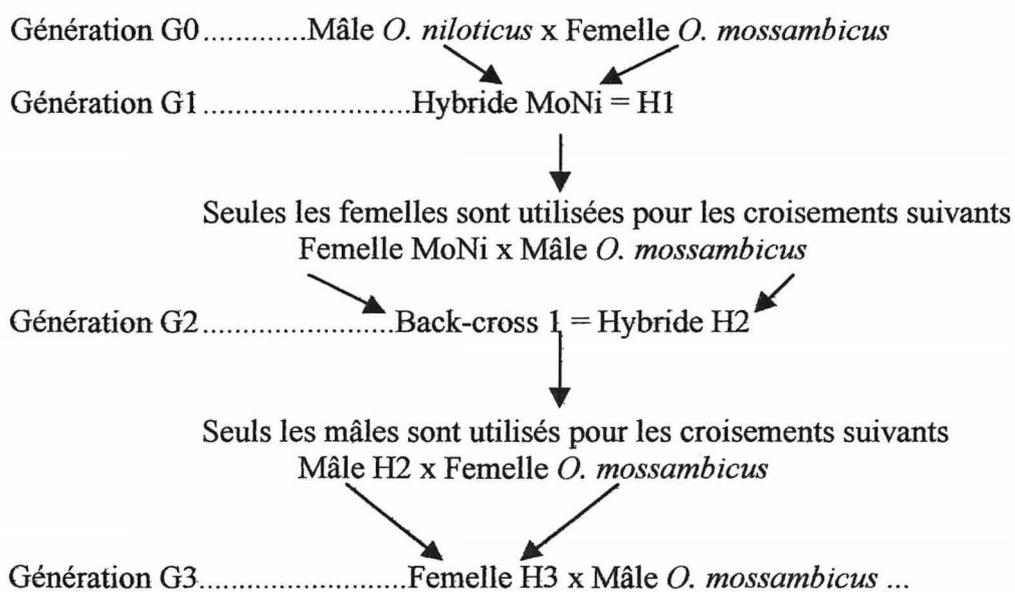
- Bonuan Binloc, Dagupan City. (eau saumâtre)
- Binmaley. (eau saumâtre)
- Lucap, Alaminos. (eau de mer)

1.3.3.3 Ajout de variabilité.

Le deuxième point sur lequel les décideurs de ce projet ont été attentifs, c'est celui d'éviter au maximum les croisements consanguins et d'ajouter de la variabilité au fur et à mesure des générations. Pour cela (dans la mesure du possible) le même géniteur n'est pas utilisé plusieurs fois dans des croisements. A partir de la génération G3, un ajout de variabilité est réalisé en fécondant la ponte d'une femelle par le sperme de trois mâles.

1.3.3.4 Croisements réciproques.

Dans un programme d'hybridation, si les croisements réciproques ne sont pas effectués, le risque de rater l'hybride le plus performant est important. De plus, l'avantage d'un hybride sur l'autre tient souvent à un effet paternel ou maternel des souches parentales de l'hybride. Le protocole du projet Molobicus tient compte de cette contrainte. Ainsi, les croisements dans les deux sens - femelle *O. niloticus* x mâle *O. mossambicus* = NiMo et femelle *O. mossambicus* x mâle *O. niloticus* = MoNi - ont été effectués. Pour palier à un quelconque effet maternel ou paternel qui pourrait supprimer le caractère de résistance à la salinité ou de croissance, les back-cross au cours des générations successives sont réalisés de la manière suivante :



De cette façon, le croisement avec *O. mossambicus* s'effectue une fois avec une femelle, une fois avec un mâle.

1.3.3.5 Séparation des stocks de géniteurs hybrides et d'espèces pures

Au BFAR, les précautions sont prises pour éviter les mélanges entre les hybrides et les poissons d'espèces pures. Même en cas d'erreur, il est possible de différencier un hybride par rapport aux espèces parentales ainsi que de distinguer un hybride MoNi d'un hybride NiMo avec un peu d'entraînement (figures 6 & 7).

Concrètement, ces poissons sont élevés dans des hapas (filets) placés soit dans des bacs bétonnés (concrete ponds), soit dans des étangs de pisciculture (fishponds). L'organisation de ces hapas a été réalisée de la façon suivante :

- Une rangée de bacs bétonnés avec les purs *O. mossambicus* sur la gauche.
- Une rangée de bacs bétonnés avec les hybrides sur la droite.

Les individus appartenant à la même famille sont placés à l'intérieur d'un même bac cimenté. (possibilité de placer trois hapas à l'intérieur)

Pour les individus élevés en étang de pisciculture, des filets ont été placés sur le dessus des hapas afin d'éviter les pertes de poissons. (surtout en saison des pluies où le niveau d'eau peut changer brusquement)

Des contrôles réguliers (lors des échantillonnages biométriques, Cf. 1.3.3.6) permettent aussi de s'assurer que tout est en ordre (pas de mélange entre hybrides et individus d'espèces pures).

1.3.3.6 Méthode de sélection adoptée

L'état du projet est tel que nous ne parlerons ici que de la sélection globale faisant partie de la première phase du protocole (Cf. 1.3.2.3).

De façon régulière, des pêches sont organisées afin d'évaluer la croissance des poissons dans les hapas. Tous les individus sont alors mesurés et pesés (Echantillonnage biométrique). Après traitement statistique des données par ordinateur, le choix d'un groupe de tilapia est effectué pour chaque famille. Les poissons qui ne présentent pas d'anomalies physiques et ayant les capacités de se reproduire sont choisis préférentiellement. La maturité des femelles s'apprécie facilement si celles-ci sont en train d'incuber des œufs (incubation buccale). Les mâles les plus gros (couleurs de parade caractéristiques) sont sélectionnés eux aussi.

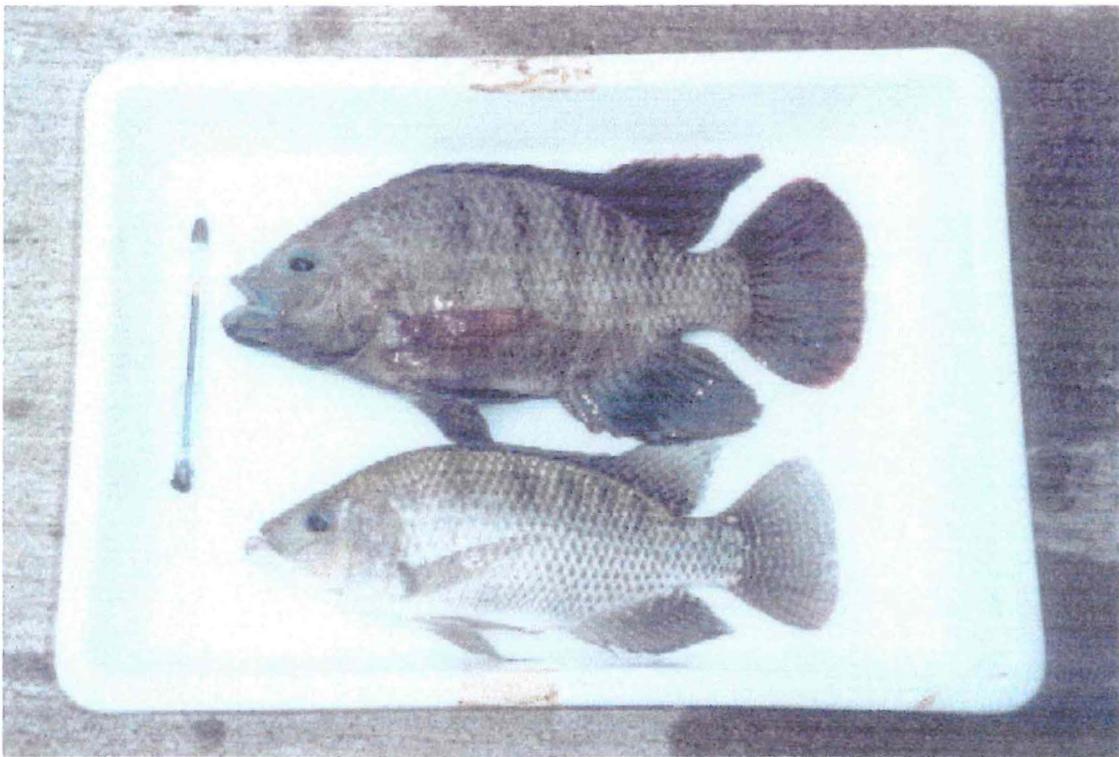


Photo 6 : Hybrides de première génération obtenus en croisant une femelle *O. niloticus* par un mâle *O. mossambicus*. (Hybride NiMo)
En haut le mâle, en bas la femelle.



Photo 7 : Hybrides de première génération obtenus en croisant une femelle *O. mossambicus* par un mâle *O. niloticus*. (Hybride MoNi)
En haut le mâle, en bas la femelle.

2. Etablissement d'un programme de stage

2.1 Etat des lieux

2.1.1 Etat des lieux sur l'avancement du projet : un projet démarré deux ans auparavant

Le projet Molobicus a commencé en 1998. Le travail de l'équipe a consisté dans un premier temps à mettre en place les incubateurs, les aquariums, les systèmes de filtration, les bacs de stockage des géniteurs ...

Durant la période précédant mon arrivée, les familles d'hybrides H1 (croisement *O. niloticus* x *O. mossambicus*) ainsi que les familles de purs *O. mossambicus* (M1) avaient été produites. Les premiers back-cross entre les hybrides H1 et les purs *O. mossambicus* étaient eux aussi bien avancés (**document 5**). C'est donc dans ce contexte d'étude que ce stage s'est déroulé.

Cette étude a été conduite suivant ces différentes étapes :

- ① Observation de la manière d'opérer.
- ② Estimation des problèmes rencontrés en posant le maximum de questions.
- ③ Proposition d'améliorations envisageables en fonction des moyens techniques et financiers disponibles.
- ④ Application de ces solutions.
- ⑤ Conservation ou non de ces nouvelles façons d'agir suivant leur efficacité et leur pertinence. (adaptées ou non à la situation)

2.1.2 Installations en place

Le projet Molobicus dispose des installations suivantes :

2.1.2.1 Un laboratoire humide comprenant

- 20 aquariums de reproduction de 200L destinés à placer les géniteurs pour produire les familles d'hybrides ou les familles pures d'*O. mossambicus* de la génération suivante (**figure 8**).
- 10 incubateurs en plastique de 4L proches des bouteilles d'incubation du type "Mac Donald" (**figure 9**).
- Système de filtration (**figure 10**) avec pompe réhausante pour ces incubateurs (fonctionnement en circuit fermé).
- Gros filtre biologique avec rampe UV et réservoir pour l'alimentation en eau des aquariums.

Schéma montrant l'avancement du projet.

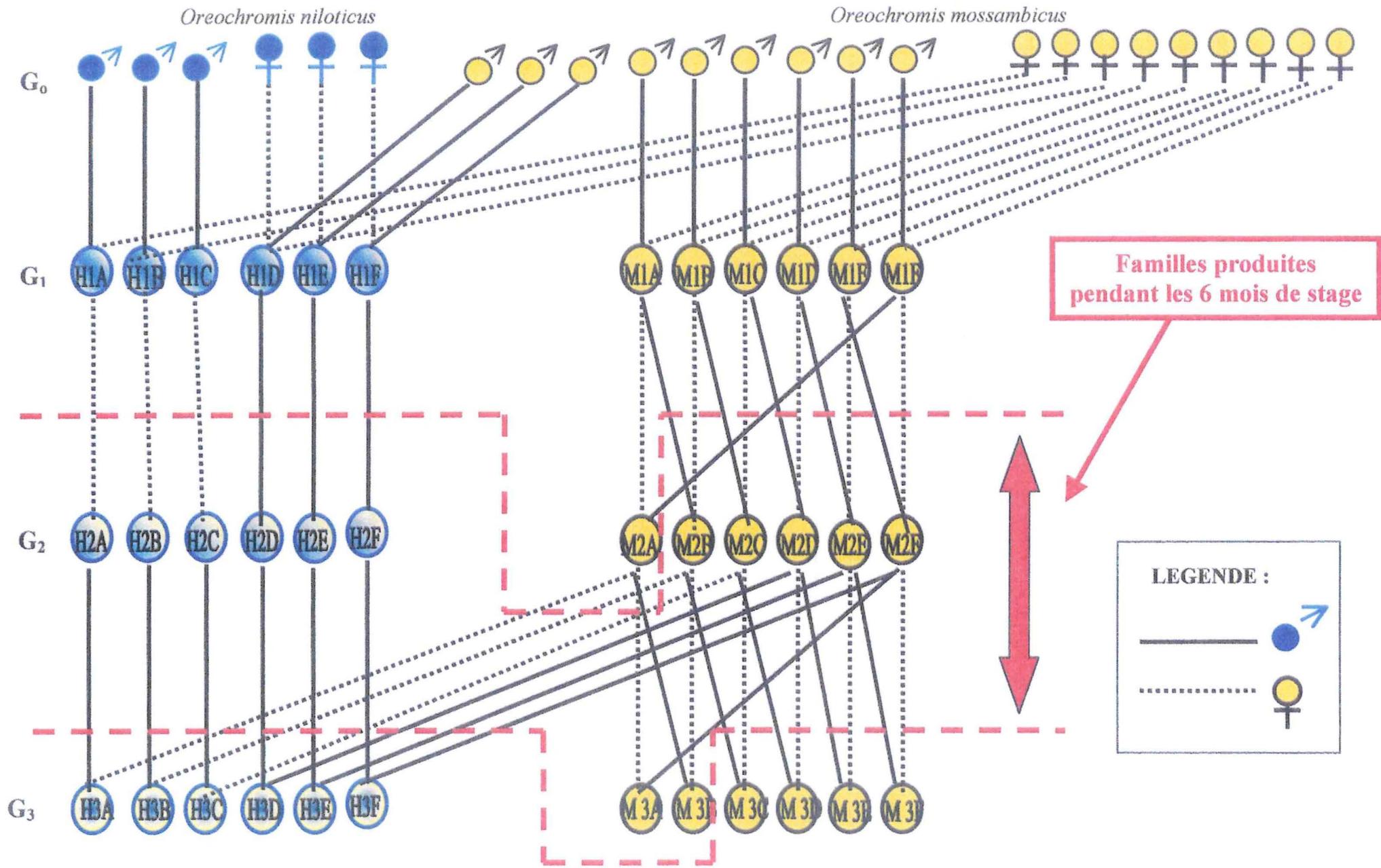




Photo 8 : Les 20 aquariums de reproduction de 200L dans le laboratoire humide.



Photo 9 : Les 10 incubateurs en plastique de 4L situés dans le laboratoire humide. Le système d'incubation est proche de celui des bouteilles d'incubation du type "Mac Donald".



Photo 10 : Le système de filtration des incubateurs utilisé pour les incubateurs. L'eau est recyclée en permanence : il s'agit donc d'un circuit fermé.

Photos 8, 9 et 10.
Le laboratoire humide du projet Molobicus.

2.1.2.2 Partie couverte à l'extérieur du laboratoire humide

- 10 cuves cimentées de 4 m³ chacune (dimension 2,6 x 1,5 x 1,1m) destinées à accueillir les familles sélectionnées pour les reproductions futures. Ces structures servent de stock de réserve de géniteurs (**figure 11**).

2.1.2.3 A l'extérieur de la partie couverte

- 20 bacs circulaires d'une contenance de 1m³ chacun. (1,5 m de diamètre par 0,7 m de profondeur) Ces structures servent au grossissement des premiers stades de vie (**figure 12**).
- 15 bassins cimentés d'une contenance de 25 m³ (9 x 3 x 1 m à une extrémité et par 0,7 m à l'autre extrémité). Le seizième bassin est utilisé pour un autre projet (**figure 13**).
- Des hapas (filets) de 2 x 2 x 1,5m placés dans les bassins cimentés. (jusqu'à 4 par bassin) Dans ces hapas les poissons sont élevés jusqu'à la sélection finale des reproducteurs (**figure 14**).

2.1.3 Organisation en place

Le projet Molobicus se décompose en deux parties bien distinctes :

- La production de masse d'hybrides MoNi (croisement d'une femelle *O. mossambicus* par un mâle *O. niloticus*).
- Le développement par hybridation et back-cross d'une nouvelle souche de tilapia.

Dans ces deux sous-ensembles, un responsable a été désigné pour s'occuper de la gestion des installations, du management des employés (stagiaires le plus souvent) et de celui des poissons.

Une journée de travail se décompose de la manière suivante :

8:00 à 9:00am : Observation des poissons en aquariums.

- Comportement reproducteur ou de ponte.
- Observation des femelles prêtes et prise de notes.
- Nourrissage.
- S'il y a des œufs en incubation, nettoyer les incubateurs. (enlever les œufs morts)

9:00 à 10:00am : Nettoyage des structures.

10:00 à 11:00am : Résumé des observations.

11:00 à 12:00am : Nourrissage.

1:00 à 5:00pm : Observation des poissons en aquariums.

- Comportement reproducteur ou de ponte.
- Observation des femelles prêtes et prise de notes.
- Stripping des reproducteurs.
- Fertilisation artificielle.
- Comptage des œufs.
- Incubation.

4:00 à 5:00pm : Nourrissage.

Vérifier tout : lumière, arrivée d'eau, incubateurs, aérateurs.



Photo 11 : Quatre des dix cuves cimentées situées dans la partie couverte des installations. Ces bacs cimentés de 4 m³ sont destinés à stocker les géniteurs sélectionnés pour produire les prochaines générations d'hybrides.



Photo 12 : Bacs circulaires de 1 m³ permettant le nourrissage des alevins (séparations prévues à cet effet afin de réduire le volume d'eau), puis le grossissement (séparations retirées) jusqu'à la taille fingerling. (taille de 5 à 6 grammes.)

Photos 11, 12 & 13.
Installations du projet Molobicus situées en extérieur.



Photo 13 : L'un des 15 bassins cimentés situés en extérieur. Ce bassin a une contenance de 25 m³ et peut accueillir jusqu'à 4 hapas de 4 m³ chacun. Ces structures sont nettoyées tous les mois.

D'un point de vue organisation de la sauvegarde des données relatives aux poissons : reproductions réalisées, reproducteurs employés, transferts, stock des poissons morts..., tout était archivé sur papier. Il n'existait pas de données synthétiques permettant d'accéder aux informations requises le plus rapidement possible.

2.2 Propositions liées aux domaines zootechnique, génétique, physiologique et organisationnel

Après cet état des lieux succinct, nous allons voir à présent quels sont les points sur lesquels un travail peut être effectué.

2.2.1 L'aspect zootechnique

Cette partie du programme de stage concerne tous les points ayant trait au domaine de l'alimentation, des capacités de croissance, des densités de stockage, mais aussi au domaine de la gestion des reproductions et de la pathologie.

2.2.2 L'aspect génétique

Cette partie du stage concerne tous les aspects relatifs à la gestion des fratries de tilapias, l'établissement d'une généalogie précise et la gestion des marquages des géniteurs.

2.2.3 L'aspect physiologique

Cette partie concerne l'établissement d'un test de salinité, effectué sur les hybrides de tilapias, dans le but d'évaluer leurs capacités de résistance en milieu salin.

2.2.4 L'aspect organisationnel

Cette partie regroupe toutes les activités permettant d'organiser la saisie des données, leur analyse et la gestion de l'équipe de travail.

3. Réalisation du stage

3.1 Description exhaustive de l'état des lieux : manipulations effectuées, travail réalisé

Cette partie du rapport regroupe les activités réalisées par l'équipe pendant la majeure partie de la journée de travail.

3.1.1 Nourrissage (fréquence, type de nourriture, mode de distribution ...)

Dans cette partie, toutes les habitudes de nourrissage adoptées par l'équipe lors de mon arrivée sont recensées. Par la suite des changements ont été apportés (Cf. 3.3.1.2).

3.1.1.1 Nourrissage des larves (*larval rearing*)

Les larves sont nourries *ad libitum* avec des nauplii d'*Artemia* avec une fréquence de 5 à 6 fois par jour. Dans la nature, les premiers stades de vie chez le tilapia se nourrissent d'algues unicellulaires ou de zooplancton. Les nauplii d'*Artemia* par leur comportement relativement statique sont facilement capturées et très attractives (nourriture proche de celle du milieu naturel).

3.1.1.2 Nourrissage des alevins (*figure 15*)

Les alevins sont nourris à 5 % de leur biomasse avec du "crumble" alevin pour tilapia/bangus (*Chanos chanos*) à une fréquence de 5 fois par jour.

Pour information, la composition de la nourriture employée est la suivante :

- protéines brutes : 31 %
- lipides bruts : 10 %
- fibres brutes : 8 %
- humidité : 13 %

Ingrédients : Tourteau de soja, farine de poisson, graisses végétales, farine de copra, graine de blé, son de riz d₁, calcaire, tricaphosphates.

Suppléments : Vitamines A, D, E, K₃, B₁, B₆, B₂, B₁₂, Biotine, d-panthoténate de calcium, chlorure de choline, acide folique, acide nicotinique, sulfate de cuivre, sulfate de fer, sulfate de manganèse, iodure de potassium, oxyde de zinc, anti-moisissure (acide propionique), antioxydant (éthoxyquine), furazolidone.

Recommandations (marquées sur l'étiquette): Pour des poissons de 2 à 30 grammes. Nourrir à 6-10 % de la biomasse avec une fréquence de 2 fois par jour.

Cette nourriture est donnée jusqu'à atteindre la taille de 5-6 grammes (taille de fingerling).

3.1.1.3 Nourrissage des poissons en bacs cimentés

Ces poissons sont nourris à 5 % de la biomasse avec des granulés flottants (tous poissons) pour une fréquence de 4 à 5 fois par jour suivant les cas (poissons adultes ou poissons en grossissement). Les poissons en grossissement donneront les futurs reproducteurs utilisables pour la suite du projet.



Photo 14 : Quatre hapas de 2 x 2 x 1,5m ont été placés dans ce bassin cimenté. Des individus appartenant au même groupe d'une même famille sont placés à l'intérieur d'un filet bien précis. (ici le hapa BC-4 pour "Black Cage n° 4")



Photo 15 : Le nourrissage des alevins dans les bacs circulaires s'effectue de façon extrêmement régulière. Ce stade de développement des tilapias

La composition de la nourriture est la suivante :

- protéines brutes : 25 %
- lipides bruts : 4 %
- fibres brutes : 8 %
- humidité : 13 %

Ingrédients : Farine de poissons importés, farine de poissons locaux, farine de graine de soja, farine de blé, céréales, huile végétale, farine de copra, graine de blé, son de riz d₁, calcaire, tricaphosphates et premix de vitamines-minéraux.

Recommandations : Pour de poissons de 55 à 105 grammes. Nourrir à 3-5 % de la biomasse à donner en 3 fois (25 %, 50 %, et enfin 25 % de la ration totale).

Cette nourriture est la plus employée puisque distribuée à tous les poissons en phase de grossissement et les reproducteurs en phase de stockage (nourriture pour le maintien).

3.1.1.4 Nourrissage des géniteurs en aquariums

Ces géniteurs sont utilisés dans le cadre du projet pour effectuer toutes les reproductions. Ces individus sont donc les plus importants. Ils sont le résultat final de toutes les étapes de production précédentes.

Ces poissons sont nourris à 5 % de la biomasse avec des granulés adultes (nourriture qui coule) pour bangus (*Chanos chanos*) à une fréquence de 2 fois par jour.

La composition de la nourriture est la suivante :

- protéines brutes : 28 %
- lipides bruts : 10 %
- fibres brutes : 8 %
- humidité : 13 %

Ingrédients : Tourteau de soja, farine de poisson, graisse végétale, farine de copra, graine de blé, son de riz d₁, calcaire, tricaphosphates.

Suppléments : Vitamines A, D, E, K₃, B₁, B₆, B₂, B₁₂, C, Biotine, d-panthoténate de calcium, chlorure de choline, acide folique, acide nicotinique, sulfate de cuivre, sulfate de fer, sulfate de manganèse, iodure de potassium, oxyde de zinc, anti-moisissure (acide propionique), anti-oxydant (éthoxyquine), furazolidone.

Recommandations : Pour des poissons à partir de 81 grammes. Nourrir à 3 % de la biomasse en 2 distributions journalières.

Une bonne nourriture, distribuée correctement, assure un bon fonctionnement de la spermatogenèse et de l'ovogenèse chez les reproducteurs.

3.1.2 Nettoyage (fréquence, méthode employée ...)

3.1.2.1 Les incubateurs pour l'éclosion (hatching)

Les incubateurs en plastique utilisés pour les œufs de tilapias sont nettoyés régulièrement. Chaque fois qu'une nouvelle ponte doit être mise à incuber, ces derniers sont frottés avec du savon et rincés. Les œufs morts (qui apparaissent durant l'incubation) sont évacués manuellement à l'extérieur des incubateurs au moyen d'une pipette (travail long et fastidieux). Il n'existe pas de système de "trop plein" relié à un tuyau permettant d'éliminer les œufs morts directement. Le "trop plein" utilisé est une petite grille métallique sur laquelle viennent se coller les œufs morts. Ceci peut occasionner des débordements inopportuns si ces derniers ne sont pas évacués manuellement de façon régulière.

3.1.2.2 Les aquariums pour les reproducteurs

Les 20 aquariums dans lesquels se trouvent les géniteurs sont nettoyés de façon journalière. Ils possèdent un filtre commun.

La procédure de nettoyage s'effectue de la manière suivante :

- L'arrivée d'eau est coupée.
- L'eau est siphonnée à l'extérieur jusqu'à atteindre un niveau approximatif de 20 cm. Les excédents de nourriture sont aspirés à cette occasion.
- Après ajout d'eau, nettoyage des vitres à l'éponge et resiphonage, l'eau est remise en place et l'arrivée d'eau rétablie.
- Aucun traitement prophylactique n'est appliqué tous les mois comme c'est le cas à Montpellier (Traitement vert malachite/formol).

3.1.2.3 Bacs bétonnés (concrete tanks), bacs circulaires (tubs) en extérieur

Ces structures sont alimentées par de l'eau en circuit ouvert. L'aération s'effectue à l'aide de gros bulleurs. Toutes les semaines, l'eau est abaissée au maximum. Les parois et le fond sont frottés pour enlever les algues vertes qui se développent. Après évacuation des détritiques, l'eau est remise dans les bacs.

3.1.2.4 Bassins cimentés (concrete ponds) avec hapas

Ces bassins sont alimentés par une eau qui est passée sur un gros filtre biologique. L'arrivée d'eau est continue et des rampes de bulleurs assurent l'oxygénation. Tous les mois, les poissons sont transférés dans des bassines plastiques. Les bassins cimentés sont alors complètement vidés, nettoyés, puis remis en eau.

3.1.3 Reproductions entre tilapias

3.1.3.1 Reproduction artificielle : création d'hybrides interspécifiques

Le recours à la fécondation *in vitro* se justifie lorsque les géniteurs (d'espèces différentes) présentent des incompatibilités comportementales, mécaniques, etc. qui empêchent la reproduction. Dans la grande majorité des cas, la reproduction entre hybrides et *O. mossambicus* ne fonctionne pas de façon naturelle (exceptions observées toutefois). De plus, pour des raisons d'agressivité, il est beaucoup plus judicieux de séparer les mâles des femelles et de travailler *in vitro*.

D'un point de vue pratique, comment s'effectue cette reproduction artificielle ?

⇒ Identification des géniteurs et des moments propices pour le stripping

Cette étape d'observation est très importante (surtout pour les femelles) pour les raisons suivantes :

- Une femelle dont on récoltera les ovocytes trop tard repoussera la reproduction à une autre date (attente d'un autre cycle reproducteur).
- Si l'on récolte les ovocytes trop tôt, ceux-ci ne donneront pas d'alevins après fécondation par du sperme (réserves vitellines insuffisantes).

La récolte des ovocytes sera meilleure si la femelle présente les caractères suivants :

- papille uro-génitale dilatée,
- flancs rebondis,
- couleur claire et brillante (moins évident à observer),
- comportement un peu plus agressif que d'ordinaire.

La spermatogenèse s'effectuant en continu chez les mâles, la récolte du sperme ne présente pas les mêmes inconvénients. Si les individus mâles sont nourris correctement (Cf. 3.1.1.4) et maintenus dans un environnement adéquat, la récolte de sperme peut se faire régulièrement.

Les mâles doivent présenter les caractères suivants :

- papille apparente,
- caractère spermiant qui se vérifie lorsque l'individu est sorti de l'eau et "strippé" (Cf. point suivant : "le stripping").

⇒ **"Le stripping" proprement dit**

Cette étape correspond à la récolte des produits sexuels des différents géniteurs.

Le matériel nécessaire pour la réalisation de cette opération est très simple :

- Deux expérimentateurs.
- Deux seaux avec une bonne aération.
- Une serpillière propre pour maintenir le poisson.
- Un rouleau de papier fin essuie tout.
- Un bol en plastique.
- Des seringues de 5 mL.
- Une solution de NaCl (0,9 %)
- Un produit anesthésiant : du phénoxy-2 éthanol (ou éthylenglycol-monophényléther = $C_8H_{10}O_2$)
- Un chronomètre ou une montre avec trotteuse.

La réalisation de la manipulation doit se faire dans un laps de temps relativement court. Cela évite ainsi de stresser les reproducteurs (problème du stress soulevé dans la suite du rapport) et augmente le succès d'une reproduction artificielle.

Une partie de la manipulation reste commune aux deux sexes. Ensuite, suivant les spécificités de chaque sexe, le "stripping" ne s'opère pas de la même façon. La collecte des ovocytes s'effectue avant celle du sperme car ceux-ci sont plus résistants.

Préparation des géniteurs

- Le poisson est sorti de son aquarium au moyen d'une épuisette.
- Il est ensuite placé dans le seau rempli d'une solution avec 2 mL de phénoxy-2 éthanol pour 10 L d'eau (solution tranquillisante).
- Dès que le poisson semble être apaisé (3-4 minutes), il est sorti de l'eau, enveloppé dans la serpillière et séché.
- La papille génitale et les zones proches sont essuyées à l'aide du papier pour diminuer le contact de l'eau avec les produits sexuels (l'eau a tendance à diminuer leur durée de vie).

Stripping de la femelle

- Un des expérimentateurs maintient la femelle dans la serpillière, l'autre expérimentateur approche le bol plastique en dessous de la papille génitale.
- A l'aide du pouce et de l'index, une pression est exercée sur les ovaires en direction de la papille.
- Grâce à 3-4 mouvements de va-et-vient dirigé dans le sens ovaire – papille, la totalité des ovocytes est expulsée par groupes successifs (**figure 16**).
- Durant l'opération, le deuxième expérimentateur veille à empêcher la pollution des ovocytes par des fèces, urine ... (essuyage à l'aide du papier si présence)
- L'opération doit être stoppée si du sang apparaît lors du "stripping" ou si l'expulsion des ovocytes ne se fait pas avec aisance.
- En fin de manipulation, la femelle est placée dans le deuxième seau contenant de l'eau simple. L'aération est soutenue pour permettre une meilleure récupération du poisson. La femelle est ensuite replacée dans son aquarium avec ses congénères.

La récolte des ovocytes étant finie, le sperme du mâle est récupéré.

Stripping du mâle

- Un des expérimentateurs maintient le mâle dans la serpillière, l'autre expérimentateur approche la seringue remplie à 3 mL de NaCl (0,9%) près de la papille.
- A l'aide du pouce et de l'index, une pression est exercée sur les testicules en direction de la papille (par rapport aux ovaires, les testicules sont situés plus près de la colonne vertébrale).
- Durant l'opération, le deuxième expérimentateur veille à empêcher la pollution du sperme par des fèces, urine... (essuyage à l'aide du papier si présence) Une pression sur la vessie (quand celle-ci est décelée au toucher) est une bonne chose car elle permet d'expulser l'urine (évite de souiller le sperme avec l'urine).
- Grâce à des mouvements de va-et-vient avec le pouce et l'index, le sperme est expulsé puis récolté dans la seringue.
- La procédure de récupération physique du mâle après "stripping" est la même que pour la femelle.

⇒ Fécondation artificielle

- Le sperme est versé sur les ovocytes et ceux-ci sont agités pendant 2 minutes. La conformation du bol (fond arrondi) permet un bon brassage.
- Un ajout d'eau permet l'activation des spermatozoïdes.
- Les ovocytes sont agités pendant 2 minutes supplémentaires.
- Les ovocytes fécondés sont nettoyés deux fois par ajout et élimination d'eau.

⇒ Incubation

Les œufs sont placés dans les incubateurs. Le système de circulation d'eau est mis en route. Une dernière vérification permet de s'assurer que le mouvement d'oxygénation est correct et qu'aucune zone morte ne subsiste.

⇒ Eclosion

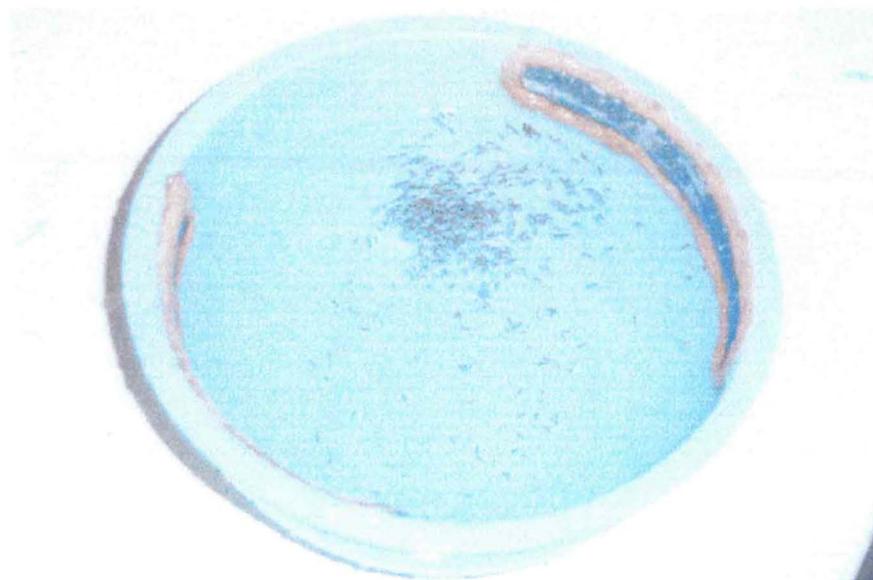
Trois à quatre jours plus tard (suivant la température), l'éclosion (hatching) a lieu. Les larves restent dans l'incubateur jusqu'à résorption complète de la vésicule vitelline.



Photo 16 : Ponte d'*O. mossambicus* obtenue après stripping de la femelle. (nombre d'ovocytes sur la photo : de 800 à 1000) La seringue sur la gauche du cliché sert à récupérer le sperme du mâle. Les ovocytes sont plus résistants que le sperme.



Photo 17 : Afin de produire des individus purs *O. mossambicus*, la reproduction naturelle s'avère la plus efficace. Il suffit de récupérer les alevins que la femelle protège dans sa bouche. Pour cela, on fait "cracher" cette dernière.



3.1.3.2 Reproduction naturelle

Cette partie du protocole concerne la production d'individus purs *O. mossambicus*. Un seul mâle est placé dans un aquarium avec 10 femelles afin d'obtenir une progéniture.

La surveillance des reproducteurs est effectuée tous les jours pour déceler d'éventuelles reproductions.

Lorsqu'une femelle pratique l'incubation buccale, cela veut dire qu'elle a été fécondée par le seul mâle présent dans l'aquarium : les deux parents du couple sont donc connus.

Ce type de pratique est possible chez *O. mossambicus* car le comportement est tel qu'il permet la cohabitation des deux sexes au sein d'un même aquarium. Il est aussi important de remarquer que la présence de congénères aide à la maturation gonadique dans les deux sexes.

Lorsqu'une femelle commençant une incubation buccale est identifiée, celle-ci est surveillée et pêchée à l'aide d'une épuisette 3-4 jours après.

Ensuite, la récupération des larves présentes dans la bouche de la femelle s'effectue en faisant "cracher" cette dernière. Pour ce faire, la femelle est maintenue verticalement (bouche vers le bas), un doigt est passé dans un opercule pendant qu'un autre doigt abaisse la lèvre inférieure de la femelle. Par une agitation simple dans l'eau, un courant est créé ce qui permet aux larves de sortir à l'extérieur de la bouche (figure 17).

Ces larves (figure 18) sont placées dans l'incubateur et y séjournent jusqu'à résorption complète de la vésicule vitelline.

3.1.4 Transfert des poissons

⇒ Des incubateurs aux paniers de récupération (trays)

A l'aide d'un bol en plastique rempli d'eau, les alevins sont transférés (et comptés par la même occasion) vers les paniers de récupération. Ces structures possèdent un fond à mailles très fines et flottent à la surface de l'eau. La hauteur d'eau à l'intérieur des paniers est de 2 à 3 cm. Les alevins résident dans ces paniers durant 8 à 14 jours.

⇒ Des paniers de récupération aux bacs circulaires =

Lorsque les alevins commencent à être à l'étroit dans les paniers de récupération, ceux-ci sont transférés dans les bacs circulaires de 1 m³ divisés en quatre à l'aide de filets. Ils sont comptés également avant leur transfert. Les alevins résident dans cette structure durant 15 à 30 jours jusqu'à atteindre la taille fingerling (masse de 3 à 5 g).

⇒ Des bacs circulaires aux hapas

Les juvéniles sont transférés dans les hapas de 2 x 2 x 1,5 m pour leur offrir des meilleures conditions de croissance. (volume d'eau de 4 m³) Les tilapias résident dans cette structure jusqu'à atteindre la taille de reproducteur (autour de 4 mois, précisions sur ce chiffre dans la suite du rapport).

3.1.5 Le marquage des poissons utilisés dans les croisements

3.1.5.1 Méthode employée pour le marquage des géniteurs

Tous les reproducteurs utilisés pour créer une descendance hybride ou des purs *O. mossambicus* possèdent une marque magnétique. Cette marque magnétique est placée en position latéro-dorsale gauche, juste après la tête, dans la chair du poisson (figure 19, 19bis). Elle permet le suivi de tous les poissons au cours des différentes générations.



Photo 19 : Marquage d'un géniteur (ici une femelle). L'animal est anesthésié, la marque magnétique est introduite en position latéro-dorsale gauche, juste après la tête, dans la chair du poisson. La blessure est ensuite désinfectée avec un produit iodé.



Photo 19 bis : Lecteur de marque magnétique employé pour la reconnaissance des géniteurs utilisés dans les croisements. Les marques magnétiques (4 à 5 mm de long) se trouvent dans le sac plastique. (partie inférieure du cliché)



Pour éviter tout risque d'infection, le matériel utilisé dans cette manipulation est trempé dans l'alcool à 90°. Le marquage s'effectue juste après le "stripping" si ce dernier est réussi (inutile de marquer un poisson qui ne produit pas de descendants).

Le mode opératoire est le suivant :

- Le poisson est étendu sur une serpillière propre.
- La marque magnétique (cylindre en verre contenant un dispositif électrique du type bobine-résistance) est placée dans l'aiguille de la seringue qui est désinfectée.
- La marque est introduite sous la peau du poisson.
- La plaie occasionnée par la seringue est désinfectée à l'aide d'une solution à 10 % d'un antiseptique/désinfectant à base d'iode (Povidone – Iodine*).
- Le lecteur de marque magnétique (appareil produisant un champ magnétique) est utilisé pour vérifier que le dispositif est bien en place. Un numéro s'affiche alors sur le lecteur (comme les lecteurs de code barre).
- Ce numéro est répertorié dans les individus nouvellement marqués.

Si l'opération est bien réalisée (durée = 10 secondes), elle n'occasionne aucunes séquelles chez les poissons. Pour preuve, des géniteurs utilisés en tout début de projet sont encore en vie tout en possédant leur marque magnétique.

(*) Chaque mL contient 100 mg de Povidone – Iodine ce qui équivaut à 10 mg d'iode disponible.

Ce produit est indiqué pour des blessures légères, coupures, brûlures, désinfections pré et postopératoires, désinfection de la peau avant injection. Ce produit est efficace même en présence de pus ou de sécrétions. Produit pharmaceutique en bidon de 4L (environ 1 gallon).

3.1.5.2 Collecte d'échantillons de nageoires

D'autre part, afin d'assurer le suivi moléculaire des hybrides et des individus issus des différents back-cross, un morceau de nageoire pelvienne est prélevé. Celui-ci est préservé dans de l'alcool éthylique à 90°. Cette opération est effectuée sur chacun des géniteurs utilisés dans une reproduction.

Sur le flacon contenant l'échantillon de nageoire (**figure 20**) est apposé une étiquette avec :

- Le nom de la famille d'appartenance du poisson.
- Le sexe du poisson.
- Le numéro de marque magnétique correspondant.

Ces échantillons de nageoires sont envoyés ensuite en France pour analyse moléculaire. Cette analyse sert à connaître les proportions respectives du génome de l'hybride qui appartiennent à *O. mossambicus* et à *O. niloticus*. De plus, cette analyse permet de s'assurer que les gènes qui confèrent une bonne croissance à *O. niloticus* ne sont pas perdus dans le génome des hybrides.

3.1.6 Echantillonnage biométrique des poissons

De façon plus ou moins régulière, les individus élevés dans les hapas sont prélevés, mesurés, pesés afin d'évaluer les caractéristiques de croissance des poissons (**figures 21, 22 & 23**).

Un schéma général des activités menées dans le cadre du projet molobicus (**document 6**) est présenté afin d'identifier les points critiques à même de poser des problèmes (nourrissage, nettoyage, temps de résidence des poissons...).



Photo 21 : De façon régulière, les poissons sont pêchés dans les hapas pour vérifier le nombre d'individus, leur taille et leur longueur afin d'estimer leurs performances de croissance.



Photo 22 : Les poissons pêchés dans les hapas sont mesurés.



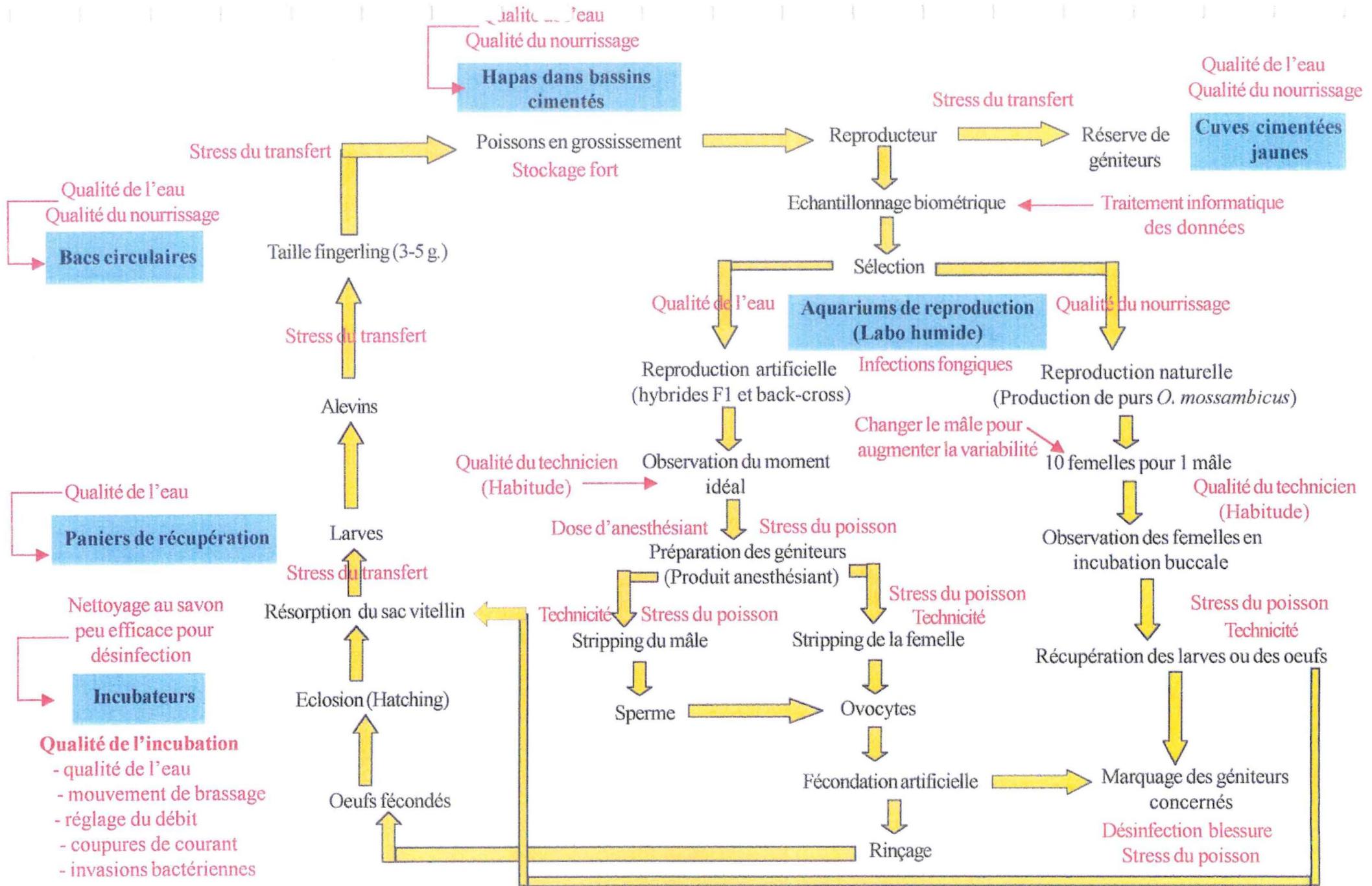


Schéma d'ensemble des activités à caractère zootechnique et évaluation des points critiques.

Après avoir observé la façon de travailler et avoir participé aux tâches quotidiennes de l'équipe, un diagnostic a pu être établi. Les solutions envisagées et testées sont aussi répertoriées dans cette deuxième partie.

3.2 Analyse, identification des contraintes

3.2.1 Diagnostic des problèmes rencontrés sur le plan zootechnique

Dans cette partie sont synthétisés tous les problèmes d'ordre zootechniques en mesure de ralentir l'avancement du projet.

3.2.1.1 Pathologies rencontrées

Les poissons placés dans les aquariums de reproduction étaient sujets à des infections fongiques régulières. La situation, sans être catastrophique, était préoccupante, puisque certaines journées, la mort de trois à quatre géniteurs était enregistrée.

Cette infection fongique se présente comme un enchevêtrement de filaments cotonneux-laineux le plus souvent localisé sous la forme d'une érosion de l'épiderme de la peau, des yeux, de la bouche ou des branchies. La masse cotonneuse est seulement apparente lorsque le poisson se trouve dans l'eau. Elle se résorbe quand celui-ci en est sorti (figure 24).

Cette infection a été identifiée comme une saprolegniose très courante chez les poissons d'eau douce.

Mode d'infection de ce champignon :

Les pathogènes fongiques prospèrent dans des environnements avec une charge organique importante, sur des poissons ou des œufs morts. Les zoospores fongiques colonisent d'abord le mucus du poisson hôte avant d'attaquer l'épiderme.

L'infection se développe plus facilement dans les cas suivants :

- La peau est endommagée par une infection parasitaire.
- Les conditions environnementales sont défavorables.
- Des écailles ont été enlevées après une manipulation un peu rude du poisson.
- Des infections bactériennes ont causé une ulcération.
- La densité de stockage des poissons est trop forte.
- Les poissons sont en phase de maturation sexuelle.
- Des médiateurs du stress augmentent les corticostéroïdes du plasma sanguin. (situation d'immunodépression = faiblesse du système immunitaire)

Les poissons à écailles sont donc plus vulnérables à ce type d'infection que les autres types de poissons.

Si l'infection progresse en un ulcère (comme dans le cas d'*Aphanomyces spp*, *Saprolegnia spp*) avec exposition de la musculature sous-jacente, l'hyphe du champignon peut s'étendre au derme et de façon ultime aux fibres musculaires.

- ⇒ Si l'on applique maintenant ces remarques au cas du projet Molobicus, on peut déceler les causes plus profondes du trouble pour y remédier.

Le stress chez le tilapia peut être causé de plusieurs façons :

- Présence d'un individu dominant dans l'aquarium de reproduction.
- Manipulations lors des "strippings", marquages,...
- Transfert d'un poisson de l'environnement du hapa vers celui de l'aquarium de reproduction.

La perte d'écailles peut résulter des suites :

- D'une morsure par un congénère lors d'affrontements.
- D'un "stripping" un peu violent.

Des mauvaises conditions environnementales peuvent être causées par :

- Une mauvaise qualité de l'eau (mauvais système de traitement de l'eau).
- Un mauvais nourrissage (tant en qualité qu'en quantité).

Ce dernier point a été étudié aussi pour tous les stades de la vie du tilapia. C'est ce sujet que nous allons regarder de plus près maintenant.

3.2.1.2 La nourriture et les pratiques de nourrissage

Si l'on compare le nourrissage à la technique de manipulation effectuée pour réaliser une reproduction artificielle, celui-ci est d'une simplicité extrême. Il n'en est rien en fait, car les quantités de nourriture distribuées doivent être adaptées aux objectifs visés et aux besoins des poissons au cours des différentes étapes de leur vie.

⇒ Nourriture pour les premiers stades de vie

A un moment du projet, les cystes d'*Artemia* n'étaient plus disponibles. Du granulé alevin (avec 31 % de protéines) réduit en poudre a été distribué en attendant l'approvisionnement. Des algues phytoplanctoniques provenant du laboratoire de phycologie ont été distribuées également comme nourriture, sans résultats positifs. Cette nourriture n'étant pas adaptée, les individus en bas âge sont morts de malnutrition.

De plus, il faut savoir que les *Artemia* ne constituent pas une nourriture en soi et que des compléments s'avèrent nécessaires.

Même en admettant que la texture de l'aliment pouvait être adaptée, la teneur en protéines de 31 % est beaucoup trop faible. Pour comparaison, à Montpellier, la nourriture employée au même stade est de l'aliment de démarrage pour truites avec un pourcentage de protéines autour de 51 à 59 % et 30 à 40 % de lipides.

De surcroît, le coût de l'aliment *Artemia* est très élevé : 454 grammes de cystes séchés coûtent 2 400 pesos philippins (soit 400 FF, ce qui est une grosse somme aux Philippines).

Le problème de la nourriture à une autre étape de la vie des tilapias se posait lui aussi.

⇒ Nourriture pour les reproducteurs

Qu'il s'agisse des poissons situés en hapas ou dans les aquariums, la qualité de l'aliment n'était pas adaptée par rapport aux objectifs visés.

Le but du projet est de réussir au mieux les reproductions pour produire les générations suivantes dans le minimum de temps. Le pourcentage de protéines (compris entre 25 et 28 %) et la qualité globale de l'aliment ne sont donc pas suffisants.

Chez les mammifères, la voie prépondérante utilisée pour fournir de l'énergie à l'organisme est la glycolyse. Pour les poissons, il s'agit de la néoglucogénèse : la nourriture doit donc être fortement enrichie en protéines.

Les poissons possèdent la capacité de transformer les acides aminés en α céto acides qui peuvent entrer directement dans le cycle de Krebs (pour les mammifères, c'est l'AcétylCoA qui rentre dans le cycle de Krebs par le biais de la lipolyse).

D'un point de vue composition en acides aminés, la farine de poissons est la plus recommandée pour répondre aux besoins des poissons.

Pour ce qui est des lipides, l'acide linoléique 18:2 (n-6) fourni par l'huile de poisson ou la farine de maïs est lui aussi important dans l'alimentation.

La production n'étant pas commercialisée (il ne s'agit pas ici d'avoir une exploitation rentable), il est très important de donner aux tilapias de la nourriture de très bonne qualité.

Les reproductions ne s'en porteront que mieux.

(Pour paraphraser un ami très cher, il ne faut pas hésiter à distribuer "du caviar" aux reproducteurs en parlant de la qualité de l'aliment...)

⇒ Une distribution de la nourriture mal adaptée

Les alevins, les poissons en grossissement ou les reproducteurs sont tous nourris à 5 % de la biomasse. La croissance d'un poisson n'étant pas continue et régulière, cela veut dire que certains stades de vie sont sous nourris alors que d'autres sont surnourris (overfeeding).

Un petit exemple permet de se persuader du bien fondé de cette affirmation.

Prenons le cas de tilapias de 10 et 200 g avec les caractéristiques suivantes :

Masse corporelle (grammes)	Taux de croissance journalier (grammes / jour)
10	2
200	2,5

Exemple 1 : Nourrissage à 5 % de la biomasse.

Masse corporelle (grammes)	Quantité de nourriture distribuée (grammes)	Indice de consommation (Nourriture distribuée / taux de croissance journalier)
10	0,5	0,25
200	10	4

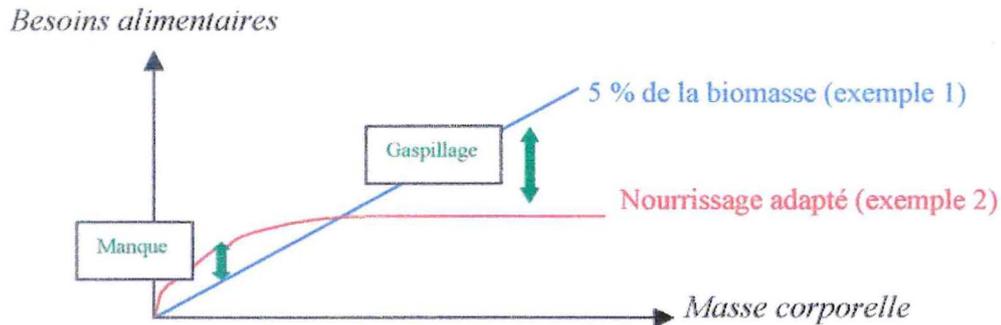
Exemple 2 : En choisissant un autre schéma de nourrissage.

Masse corporelle (grammes)	Quantité de nourriture distribuée (grammes)	Indice de consommation (Nourriture distribuée / taux de croissance journalier)
10	2	1
200	5	2

Dans l'exemple 1, l'indice de consommation (IC) est trop faible pour assurer les besoins du poisson de 10 g (0,25 g de nourriture doivent produire 1 g de poisson)

En revanche, pour le poisson de 200 g, 4 grammes de nourriture servent à produire 1 g de poisson. La quantité de nourriture est largement surévaluée dans ce cas.

D'un point de vue graphique, la différence entre les deux modes de nourrissage peut se représenter de la manière suivante :



Des troubles sont également apparus dans l'un des maillons les plus importants du projet : le système d'incubation.

3.2.1.3 Les incubateurs.

Une réflexion sur les problèmes que posait l'incubation avait été amorcée l'année dernière, par mon prédécesseur, lors d'un stage de quatre mois effectué dans le même projet. Le but des incubateurs est de recréer le mouvement de ballotement naturel que l'on peut observer dans la bouche des femelles.

⇒ La forme générale des incubateurs. (document 7)

Les 10 incubateurs disponibles au BFAR s'apparentent à des bouteilles d'incubation de type "Mac Donald". Ceux-ci sont fabriqués à partir de bouteilles d'eau plastique de 4 L retournées sur des portoirs et sciées à leur base.

La dépression du goulot est comblée avec une substance modelable qui est étanche à l'eau. Ceci rend le fond de l'incubateur approximativement sphérique, mais des aspérités subsistent cependant.

Les bouteilles d'incubation utilisées à Montpellier sont en verre avec des parois parfaitement lisses, un fond bien adapté (sans aspérités) pour imprimer le bon mouvement de brassage aux œufs. (document 8)

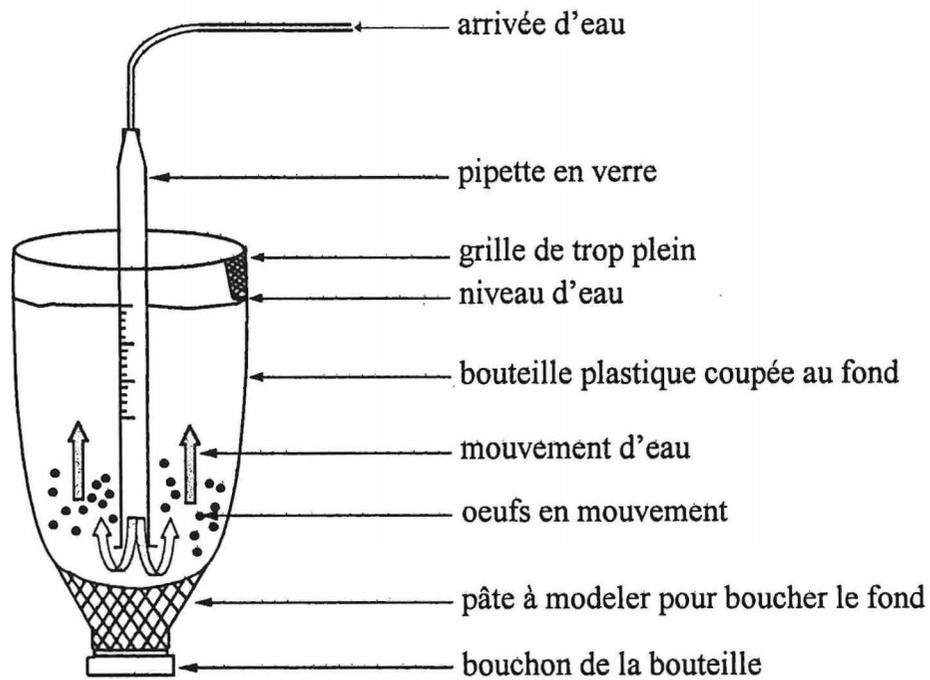
⇒ L'arrivée d'eau.

L'an dernier, celle-ci s'effectuait par l'intermédiaire d'un filtre qui recyclait l'eau en permanence. (circuit fermé) La pompe réhausssante étant tombée en panne, ce système a été abandonné au profit d'un circuit ouvert. (alimentation en continu des incubateurs)

Le système en circulation fermée se justifie entièrement dans les conditions de Montpellier ou l'alimentation en eau chaude représente un coût. Dans le contexte philippin, ceci ne se justifie pas puisque l'eau est à la température requise tout au long de l'année.

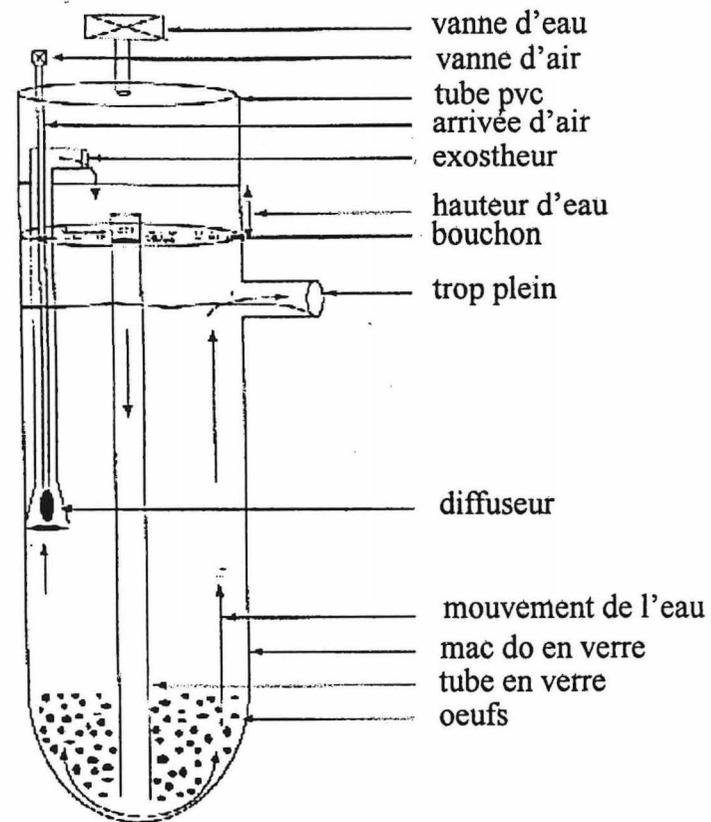
La présence d'un filtre augmente les chances de contamination bactérienne des incubateurs. Le système en circulation ouvert est donc beaucoup plus adapté aux conditions présentes au centre de Dagupan.

Un seul inconvénient toutefois : l'alimentation d'eau offerte par une pompe est continue tandis que dans ce système ouvert, elle ne l'est pas. Les incubateurs sont alimentés parfois (notamment après les coupures d'électricité) avec autant d'air que d'eau. Des bulles se forment et se collent sur les œufs en incubation.



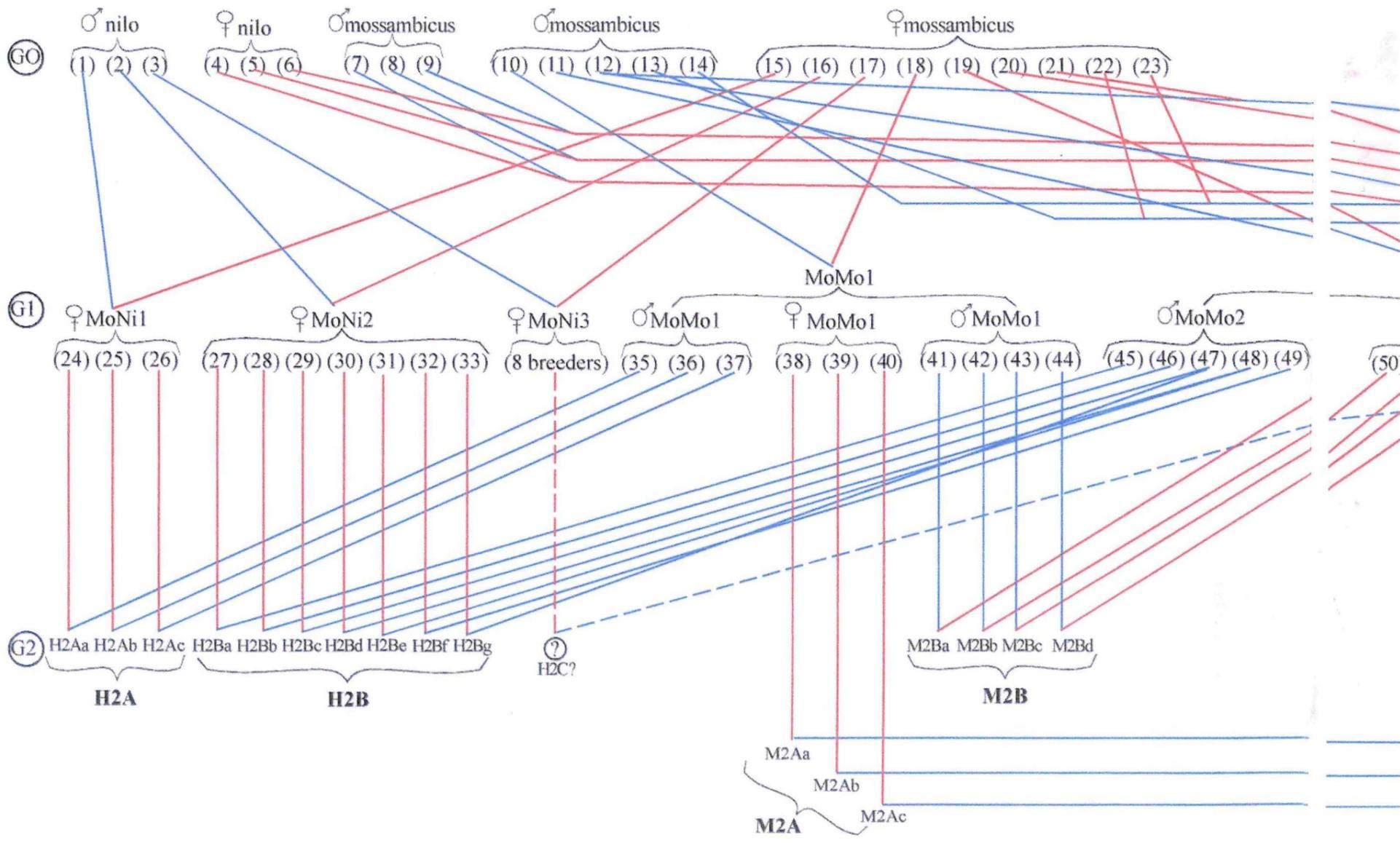
Document 7

**Bouteille de type « Mac Donald » utilisée
au centre de Dagupan**

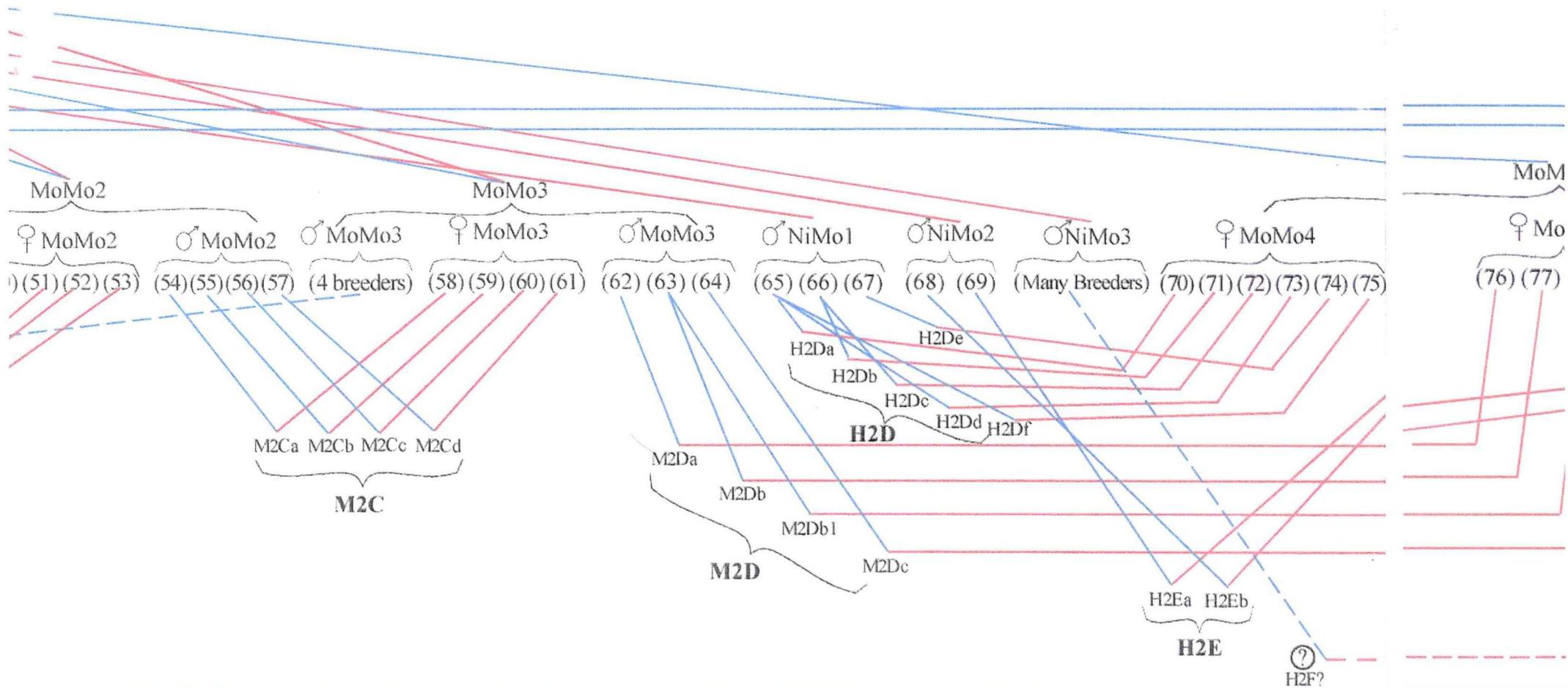


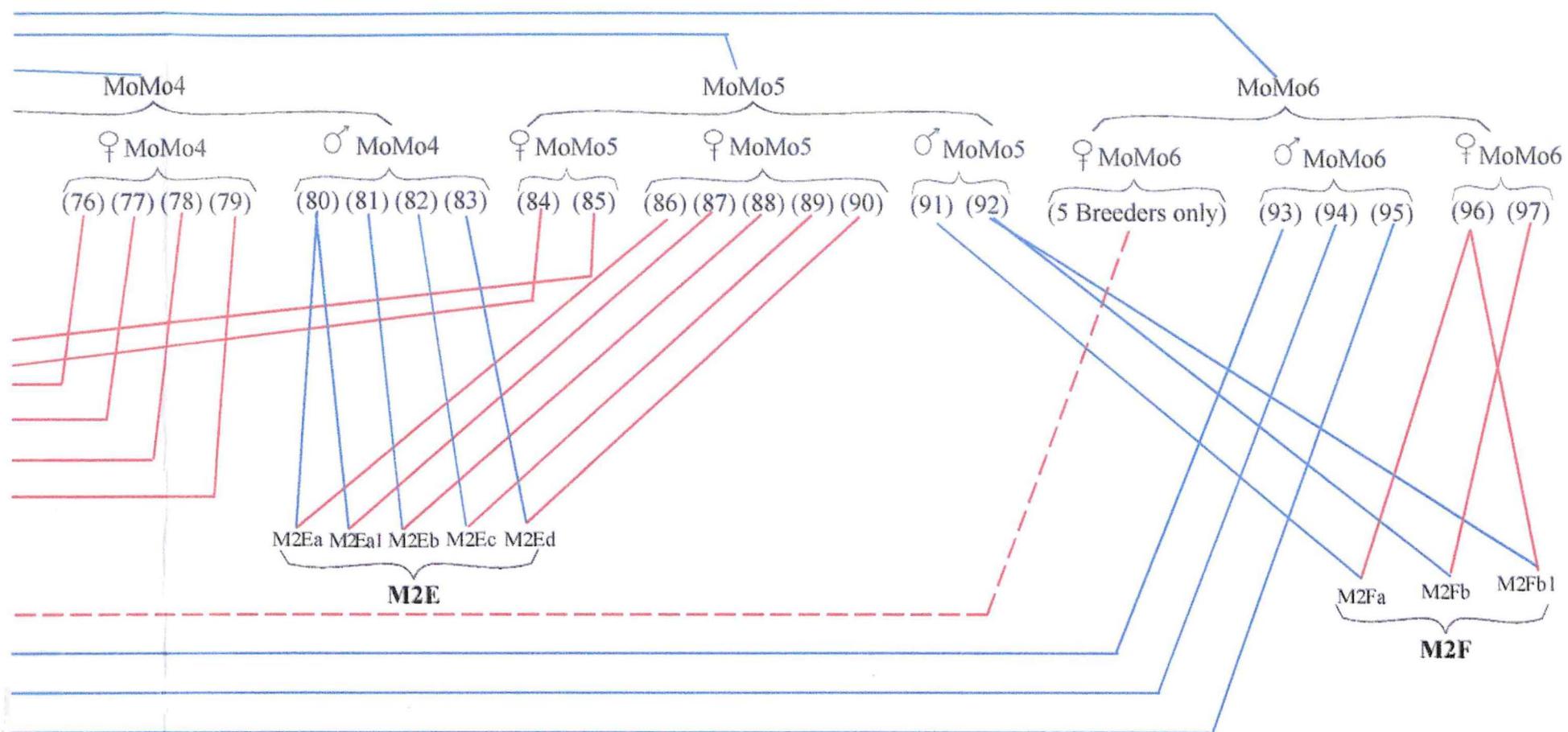
Document 8

**Bouteille « Mac Donald » utilisée
au GAMET de Montpellier**



GENEALOGY OF THE HYBRID MOLOBICUS





Male niloticus		Female niloticus		Male moseambicus		Male moseambicus		Female moseambicus		Female moseambicus	
1	406036065C	4	406012171A	7	407E76437A	10	407F0C4865	15	407E4C160F	18	4060362071
2	4060312C52 (Dead)	5	407E455635*	8	407E3F116B	11	407E733D0E*	16	407E694B78*	19	407E4C160F
3	406034337F	6	407E4A6B1F	9	407E64530F (Dead)	12	407F085C0D	17	407F040623	20	407E616467*
						13	407E6B2873*			21	407E694B78*
						14	407E684427* (Dead)			22	407F050403*
										23	407E795118*
Female MoNi 1		Female MoNi 2		Female MoNi 3		Male MoMo1		Female MoMo1		Male MoMo 1	
24	407E61136E*	27	407E673011*	98	407E661A74*	35	407E640F54*	38	407E76414E*	41	407E666C5E*
25	407E4C0E37 (Lost)	28	407E7F2759*	99	407E652626*	36	4060340C49**	39	407E6E7C77*	42	407E7A704B*
26	4060264A15*	29	407E67082A*	107	407F007A77	37	407E6A4440*	40	407E6F3B17*	43	407E7B5672*
101	407E7C7D5F	30	407E784817*	108	407F013F23	112	407E6B3664			44	407E725E77*
102	407E315D72	31	407F012135*	109	407E627915	113	407E331A61				
103	407E482816	32	407F0B5335**	110	407E7D761A	114	407E5B361F				
104	407E6B0D48	33	407E784817*	111	407E772C5F	115	407E384B61				
105	407E76382F					116	407E493D45				
106	407E3B087C					117	407E791E2A				
Male MoMo 2		Female MoMo 2		Male MoMo 2		Male MoMo 3		Female MoMo 3		Male MoMo 3	
45	407E7D2B62*	50	407E765409*	54	407E346E00*	100	407E5D1F5D*	58	407E6E2218*	62	407E7C1A28*
46	407E795615*	51	407E61053A*	55	407E78710F*	118	407E6B7956	59	407E6C3738*	63	407E660D0F*
47	407E31377A*	52	407E7A5452*	56	407E650128*	119	407F042F45	60	407F074C5B*	64	407F014E04*
48	407E720715*	53	407E7E2357*	57	407E6F666F*			61	407F060644*		
49	407E710148 (Lost)										
Male NiMo 1		Male NiMo 2		Male NiMo 3		Female MoMo 4		Female MoMo 4		Male MoMo 4	
65	407E6F6356*	68	407E7B1F6E*	122	407E6F4458	70	407F091C60*	76	407F091C60*	80	407E694510*
66	407E734F43*	120	407E434848	123	407E30097B	71	407F006776*	77	4063763918*	81	407E711970*
67	407F062069*	121	407E7C2D58			72	407E736076*	78	407E445849*	82	407E7D6573*
						73	407E3A0434*	79	407E6B6F06*	83	407F03277C*
						74	407E445849*				
						75	407E6D1600*				
Female MoMo 5		Female MoMo 5		Male MoMo 5		Female MoMo 6		Male MoMo 6		Female MoMo 6	
84	407E624534*	86	407E4C093A*	91	407F0A6A39*	128	407E764477	93	407E721C3A*	96	407E792506*
85	407F004C24*	87	407E3B095F*	92	407E3B032D*	129	407E5F1C62	94	407E690F1B*	97	407E7E1209*
124	40600D375D	88	407F061719*					95	407E6A393B*		
125	407E453255	89	407E66524B*								
126	407E35191D	90	407E3B095F*								
127	407E4F7F63										

* Fins send to France

** Fins send to France, the other parent of the couple is lost

Légende du document 9

3.2.1.5 Intérêt d'un échantillonnage biométrique

Au mois d'août 2000, toutes les familles d'individus M2 (purs *O. mossambicus* de deuxième génération) ont été pêchées, mesurées puis pesées.

Le résultat du traitement statistique de ces 2753 tilapias est fourni dans le tableau du **document 10**.

Au-delà de l'aspect profondément rébarbatif de ce travail, l'échantillonnage biométrique permet d'avoir une bonne idée des types de problèmes que peuvent rencontrer les poissons.

Quelles leçons nous enseignent ces résultats ?

⇒ **Sur les performances de croissance des poissons**

Tout d'abord, la croissance des tilapias est loin d'être bonne puisque des poissons de plus de six mois (autour de 200 jours) ont atteint péniblement une masse moyenne comprise entre 25 et 60 grammes (**document 12**). Les 86 % de la population sont d'ailleurs compris entre une masse de 10 et 60 g (**document 11**).

Ces chiffres de masse moyenne seraient normaux pour des individus âgés de 3 mois.

Ces groupes d'hybrides doivent normalement être sélectionnés sur le caractère de croissance (caractère discriminant) pour participer à la production des générations suivantes.

Des résultats de croissance aussi faibles ne permettent pas de mettre en évidence le potentiel génétique à la seule vue du phénotype exprimé.

Dans ce cas, les groupes de poissons choisis ont été ceux présentant :

- Les taux d'anomalies physiques les plus faibles.
- Le nombre d'individus le plus important.

Au final, les groupes conservés respectivement pour les familles M2A jusqu'à M2F sont les suivants :

- M2Ac a été choisi parmi les 3 groupes de la famille M2A.
- M2Bc a été choisi parmi les 4 groupes de la famille M2B.
- M2Cc a été choisi parmi les 4 groupes de la famille M2C.
- M2Da a été choisi parmi les 3 groupes de la famille M2D.
- M2Ec a été choisi parmi les 5 groupes de la famille M2E.
- M2Fc a été choisi parmi les 3 groupes de la famille M2F.

⇒ **Constat à propos des anomalies physiques**

De nombreuses anomalies physiques ont été observées chez les tilapias de la famille M2. Les malformations sont diverses : lèvre inférieure incomplète, nageoire supplémentaire, ... (**figures 25, 26 & 26 bis**)

Le diagramme circulaire du **document 13** résume les pourcentages d'anomalies physiques observés chez les individus.

Ces anomalies sont le reflet d'un mauvais développement dans les premiers stades de vie. Des carences importantes sur le plan nutritionnel sont vraisemblablement à la base de ces problèmes.

⇒ **Constat à propos des densités de stockage**

La corrélation forte ($R^2 = 0,7044$) entre les performances de croissance et les densités de stockage (**document 14**) suggère que la capacité de charge des hapas est sans doute dépassée.

Summary of the biometric sampling for pure *O. mossambicus* of second generation (M2), August 2000

Document 10	M2A							M2B								
	M2Aa		M2Ab		M2Ac		Total	M2Ba		M2Bb		M2Bc		M2Bd		Total
	Female	Male	Female	Male	Female	Male		Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	
Number of fish	76	91	65	47	85	128	492	28	38	50	44	59	82	25	39	365
Average Weight	17,4	33,2	25,4	61,9	17,1	37,8	32,1	20,6	63,0	25,9	71,5	24,8	57,8	36,8	81,3	47,7
σ Weight	3,4	5,7	9,6	12,7	2,6	6,3	15,1	3,3	12,1	5,8	10,1	6,1	12,4	14,0	15,5	23,7
Minimum	11,1	13,0	10,3	27,7	11,8	18,6	10,3	30,2	36,6	17,1	52,7	5,2	7,1	24,1	10,2	5,2
Maximum	30,0	47,7	67,4	91,1	28,9	55,9	91,1	14,3	82,9	46,8	90,0	39,0	89,0	88,3	106,3	106,3
Median	17,2	34,0	22,8	61,7	17,1	37,8	27,4	20,6	65,1	24,5	69,0	24,7	57,8	34,0	82,3	49,6
Average Length	10,0	13,1	11,5	16,4	9,9	13,7	12,4	10,8	16,1	11,7	18,9	11,3	16,1	13,3	18,2	14,4
σ Length	0,6	0,8	1,3	1,3	0,5	0,9	2,3	1,3	1,5	1,0	9,2	1,3	1,5	1,7	0,7	3,0
Minimum	9,1	10,1	8,9	11,7	9,0	10,0	8,9	16,7	12,8	8,2	15,9	5,1	5,1	11,6	16,6	5,1
Maximum	12,0	14,5	17,1	18,5	11,7	15,9	18,5	9,9	18,2	14,5	18,9	13,4	18,1	18,9	19,9	19,9
Median	10,0	13,2	11,2	16,5	10,0	13,9	12,1	10,5	16,8	11,7	17,5	11,4	16,2	12,9	18,1	15,4
Abnormalities	26	2	23	10	17	0	78	9	0	16	2	9	4	8	1	49
Percent Abn	34,2	2,2	35,4	21,3	20,0	0	15,9	32,1	0	32,0	4,5	15,3	4,9	32,0	2,6	13,4
Age (days)	198		197		193			213		201		199		199		

	M2C									M2D							
	M2Ca		M2Cb		M2Cc		M2Cd		Total	M2Da		M2Db		M2Dc		Total	
	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male		Female	Male	Female	Male	Female	Male		
Number of fish	56	54	51	73	73	58	74	42	481	92	103	82	59	97	85	518	
Average Weight	25,8	52,0	18,7	45,9	19,8	50,8	24,2	66,3	37,9	16,4	30,1	20,5	43,5	16,2	31,5	26,3	
σ Weight	5,2	9,2	3,8	11,3	4,8	8,7	11,8	10,0	18,2	4,6	6,3	3,6	10,5	6,5	5,5	11,0	
Minimum	17,2	27,8	10,9	7,2	11,9	25,9	14,9	35,4	7,2	10,1	13,6	13,8	18,6	9,5	15,6	9,5	
Maximum	39,8	74,3	31,4	90,6	38,6	75,6	90,9	79,1	90,9	43,2	45,4	30,3	88,6	66,2	47,5	88,6	
Median	26,3	53,3	18,6	48,1	19,4	51,0	21,4	68,1	29,1	15,6	30,4	20,1	43,8	14,7	31,3	22,9	
Average Length	11,5	15,0	10,8	14,8	10,8	15,6	11,3	16,3	13,3	9,8	12,8	10,6	14,6	9,9	12,8	11,8	
σ Length	0,7	2,2	1,1	1,8	0,9	0,9	1,4	1,3	2,6	0,7	1,4	0,5	1,8	0,9	0,9	2,0	
Minimum	9,6	3,5	9,0	5,9	9,4	12,8	9,6	10,5	3,5	8,5	9,0	9,2	10,6	8,4	9,5	8,4	
Maximum	13,2	18,5	16,4	18,1	15,2	17,4	17,6	18,0	18,5	13,5	22,0	12,0	25,2	15,0	15,0	25,2	
Median	11,5	15,5	10,7	15,3	10,6	15,7	11,0	16,6	12,1	9,7	13,0	10,5	14,6	9,7	13,0	11,1	
Abnormalities	19	16	15	24	16	2	27	2	121	15	8	36	2	25	12	98	
Percent Abn	33,9	29,6	29,4	32,9	21,9	3,4	36,5	4,8	25,2	16,3	7,8	43,9	3,4	25,8	14,1	18,9	
Age (days)	200		200		195		193			198		196		196		45	

	M2E										Total
	M2Ea		M2Eb		M2Ec		M2Ed		M2Ee		
	Female	Male									
Number of fish	32	38	49	57	37	52	43	56	28	30	422
Average Weight	27,9	50,0	26,6	42,6	31,3	68,1	19,4	50,1	32,6	84,0	43,2
Weight	4,3	9,4	3,8	6,0	7,1	7,9	2,7	7,0	6,5	11,3	19,5
Minimum	17,2	28,5	20,3	31,0	19,8	37,7	15,0	31,2	24,4	58,1	15
Maximum	35,7	70,1	36,0	54,5	64,6	85,6	27,4	63,7	54,7	107,8	108
Median	27,6	50,4	26,0	41,3	30,1	68,6	19,0	49,4	30,9	82,7	39
Average Length	12,1	15,4	11,6	14,5	12,3	17,1	10,7	15,6	12,2	17,8	13,9
Length	0,6	0,8	0,6	0,7	0,9	0,5	0,5	0,7	0,7	1,2	2,4
Minimum	10,6	13,7	9,9	13,1	10,9	15,6	9,9	13,9	11,3	12,8	9,9
Maximum	13,5	17,0	13,5	15,8	16,8	18,4	12,0	16,9	14,1	19,2	19,2
Median	12,2	15,4	11,6	14,5	12,2	17,2	10,9	15,5	12,2	18,2	14,1
Abnormalities	0	2	0	1	0	2	0	0	0	0	5
Percent Abn	0	5,3	0	1,8	0	3,8	0	0	0	0	1,2
Age (days)	201		200		194		189		180		

	M2F						Total
	M2Fa		M2Fb		M2Fc		
	Female	Male	Female	Male	Female	Male	
Number of fish	52	46	89	118	55	115	475
Average Weight	22,7	63,1	20,2	31,0	14,2	26,8	29,6
Weight	12,1	10,2	5,4	5,8	3,5	6,8	14,5
Minimum	13,3	15,9	8,5	13,6	8,4	8,3	8,3
Maximum	71,3	79,7	38,8	49,8	23,5	37,3	79,7
Median	19,8	63,3	19,7	31,7	13,2	28,6	25,2
Average Length	11,1	15,9	10,3	12,3	9,2	11,7	11,7
Length	1,9	1,2	0,8	0,8	1,0	1,6	2,1
Minimum	9,5	9,6	8,2	10,3	3,9	2,5	2,5
Maximum	16,7	17,2	12,6	15,1	10,6	13,6	17,2
Median	10,5	16,0	10,2	12,5	9,2	12,1	11,5
Abnormalities	12	0	8	5	7	2	34
Percent Abn	23,1	0,0	9,0	4,2	12,7	1,7	7,2
Age (days)	199		185		169		

Document 10 (suite)

Legend

- 19,2 Maximum number for a category
- 49,8 Data for a male
- 12,7 Data for a female
- 475 Global data for a family

Document 11

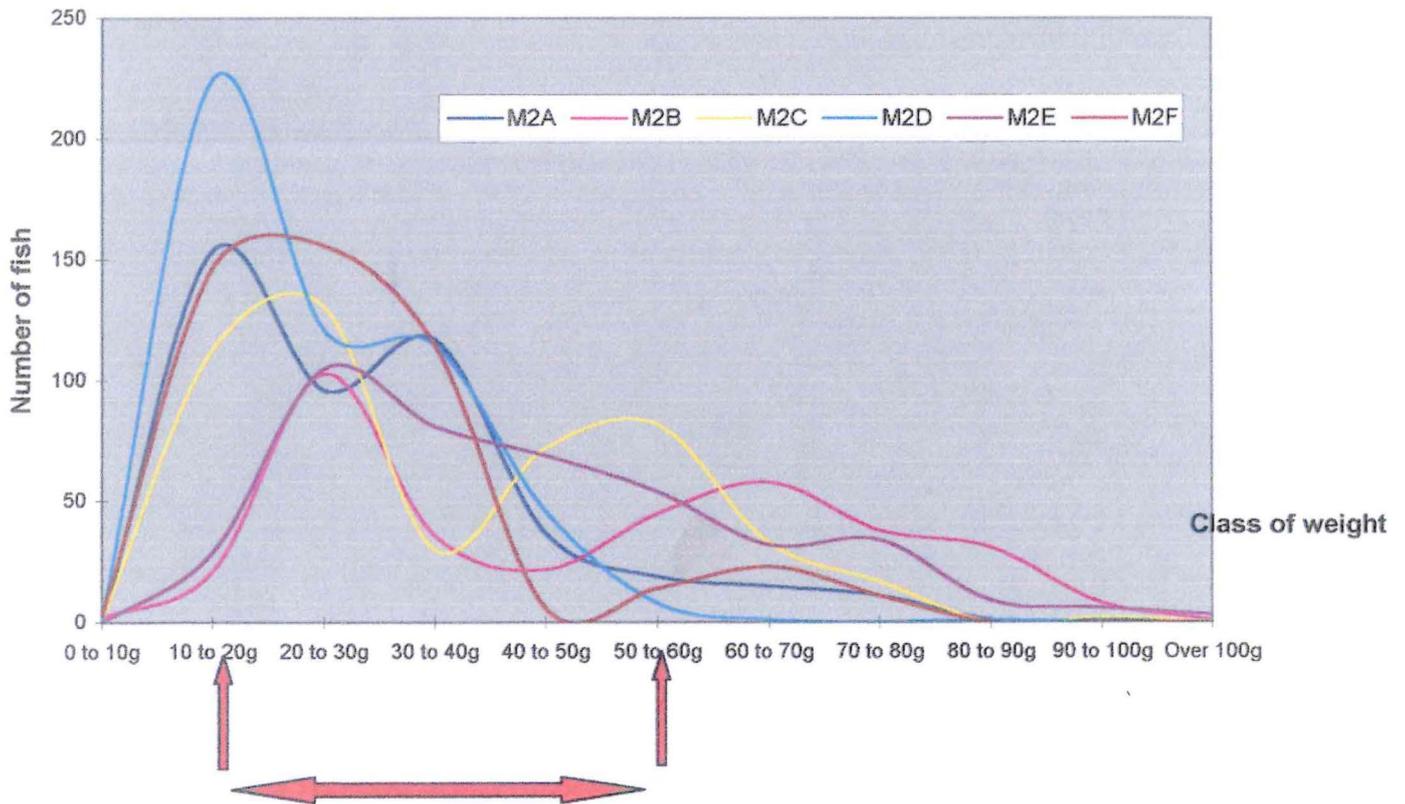
Family	0 to 10g	10 to 20g	20 to 30g	30 to 40g	40 to 50g	50 to 60g	60 to 70g	70 to 80g	80 to 90g	90 to 100g	Over 100g
M2A	0	154	96	117	37	19	15	11	1	1	0
M2B	2	21	103	36	22	45	58	38	31	8	1
M2C	1	113	131	30	72	82	33	17	0	2	0
M2D	1	225	121	115	46	8	1	0	1	0	0
M2E	0	29	105	81	69	54	32	34	9	6	3
M2F	3	147	156	115	6	14	23	11	0	0	0
Total	7	689	712	494	252	222	162	111	42	17	4

2369

87,35 % de la population totale

Tableau de répartition des individus M2A à M2F (purs *O. mossambicus*) en fonction de classes de masse.

Représentation graphique de la répartition des individus M2A à M2F (purs *O. mossambicus*) en fonction de classes de masse.



86 % of the population between these values

Document 12

M2A	M2Aa		M2Ab		M2Ac	
	Female	Male	Female	Male	Female	Male
Average Weight	17,4	33,2	25,4	61,9	17,1	37,8
σ Weight	3,4	5,7	9,6	12,7	2,6	6,3
Total average	25,3		43,7		27,4	
σ Total	9,2		21,2		11,5	
Average lenght	10,0	13,1	11,5	16,4	9,9	13,7
σ Lenght	0,6	0,8	1,3	1,3	0,5	0,9
Total average	11,5		13,9		11,8	
σ Total	1,7		2,8		2,0	

M2B	M2Ba		M2Bb		M2Bc		M2Bd	
	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male
Average Weight	20,6	63,0	25,9	71,5	24,8	57,8	36,8	81,3
σ Weight	3,3	12,1	5,8	10,1	6,1	12,4	14,0	15,5
Total average	41,8		48,7		41,3		59,1	
σ Total	23,1		24,2		19,3		26,4	
Average lenght	10,8	16,1	11,7	17,5	11,3	16,1	13,3	18,2
σ Lenght	1,3	1,5	1,0	0,8	1,3	1,5	1,7	0,7
Total average	13,5		14,6		13,7		15,7	
σ Total	3,0		3,0		2,8		2,7	

M2C	M2Ca		M2Cb		M2Cc		M2Cd	
	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male
Average Weight	25,8	52,0	18,7	45,9	19,8	50,8	24,2	66,3
σ Weight	5,2	9,2	3,8	11,3	4,8	8,7	11,8	10,0
Total average	38,9		32,3		35,3		45,3	
σ Total	15,1		16,2		16,9		23,2	
Average lenght	11,5	15,0	10,8	14,8	10,8	15,6	11,3	16,3
σ Lenght	0,7	2,2	1,1	1,8	0,9	0,9	1,4	1,3
Total average	13,2		12,8		13,2		13,8	
σ Total	2,4		2,5		2,6		2,8	

Summary of the biometric sampling of M2, August 2000
Average size and weight

Document 12

M2D	M2Da		M2Db		M2Dc	
	Female	Male	Female	Male	Female	Male
Average Weight	16,4	30,1	20,5	43,5	16,2	31,5
σ Weight	4,6	6,3	3,6	10,5	6,5	5,5
Total average	23,2		32,0		23,8	
σ Total	8,8		13,5		9,8	
Average lenght	9,8	12,8	10,6	14,6	9,9	12,8
σ Lenght	0,7	1,4	0,5	1,8	0,9	0,9
Total average	11,3		12,6		11,4	
σ Total	1,9		2,3		1,7	

M2E	M2Ea		M2Eb		M2Ec		M2Ed		M2Ee	
	Female	Male								
Average Weight	27,9	50,0	26,6	42,6	31,3	68,1	19,4	50,1	32,6	84,0
σ Weight	4,3	9,4	3,8	6,0	7,1	7,9	2,7	7,0	6,5	11,3
Total average	39,0		34,6		49,7		34,7		58,3	
σ Total	13,4		9,5		19,8		16,2		27,5	
Average lenght	12,1	15,4	11,6	14,5	12,3	17,1	10,7	15,6	12,2	17,9
σ Lenght	0,6	0,8	0,6	0,7	0,9	0,5	0,5	0,7	0,7	1,2
Total average	13,7		13,1		14,7		13,2		15,1	
σ Total	1,8		1,6		2,5		2,5		3,0	

M2F	M2Fa		M2Fb		M2Fc	
	Female	Male	Female	Male	Female	Male
Average Weight	22,7	63,1	20,2	31,0	14,2	26,8
σ Weight	12,1	10,2	5,4	5,8	3,5	6,8
Total average	42,9		25,6		20,5	
σ Total	23,2		7,8		8,4	
Average lenght	11,1	15,9	10,3	12,3	9,2	11,7
σ Lenght	1,9	1,2	0,8	0,8	1,0	1,6
Total average	13,5		11,3		10,4	
σ Total	2,9		1,3		1,9	

Summary of the biometric sampling of M2, August 2000
Average size and weight

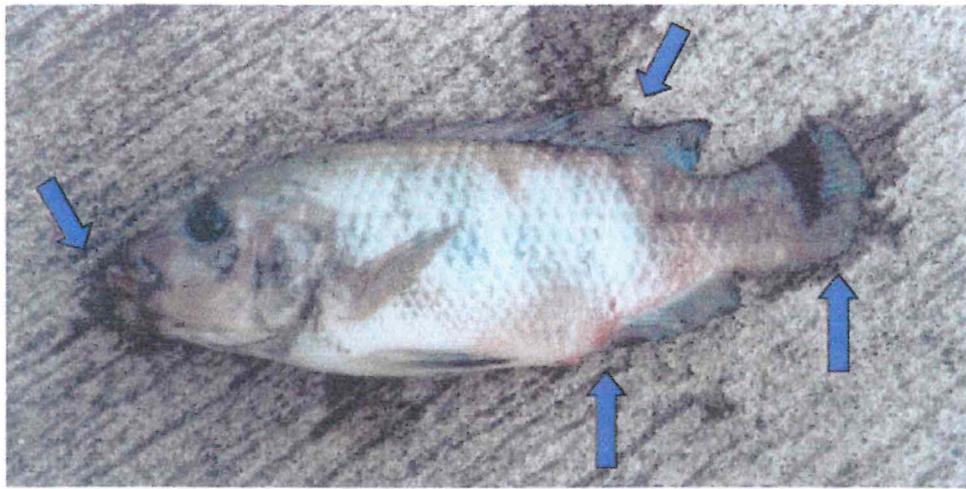


Photo 24 : Cet individu est mort des suites d'une saprolegniose. Les flèches bleues indiquent les zones d'attaque du champignon : bouche, nageoire dorsale, nageoire caudale, hémorragie de la zone uro-génitale.



Photos 25, 26 et 26 bis : Anomalies physiques constatées lors d'un échantillonnage biométrique.

Les anomalies sont diverses.

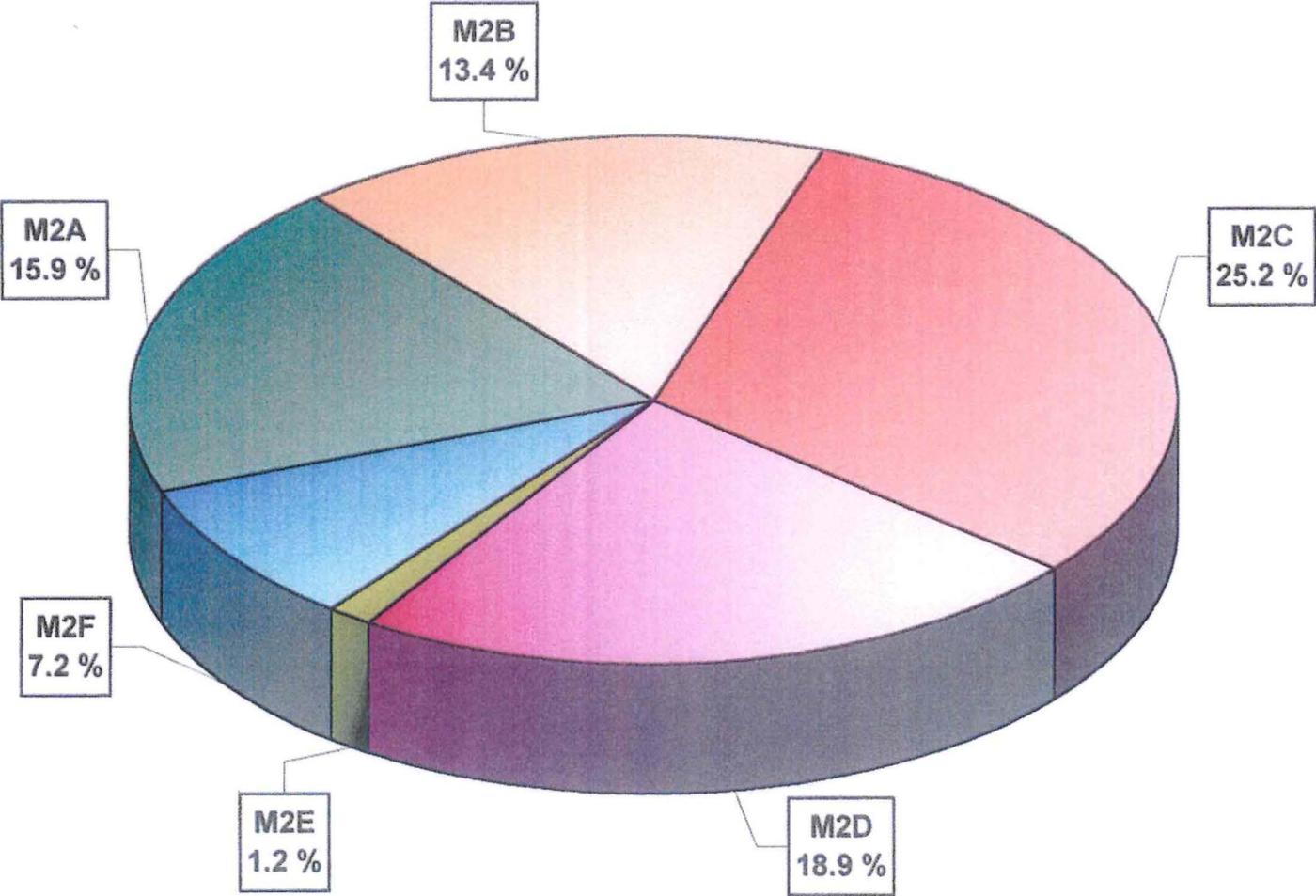
A : Anomalie de la lèvre inférieure.

B : Anomalie générale de la tête.

C : Nageoire dorsale supplémentaire, présence des orifices génitaux mâle et femelle.

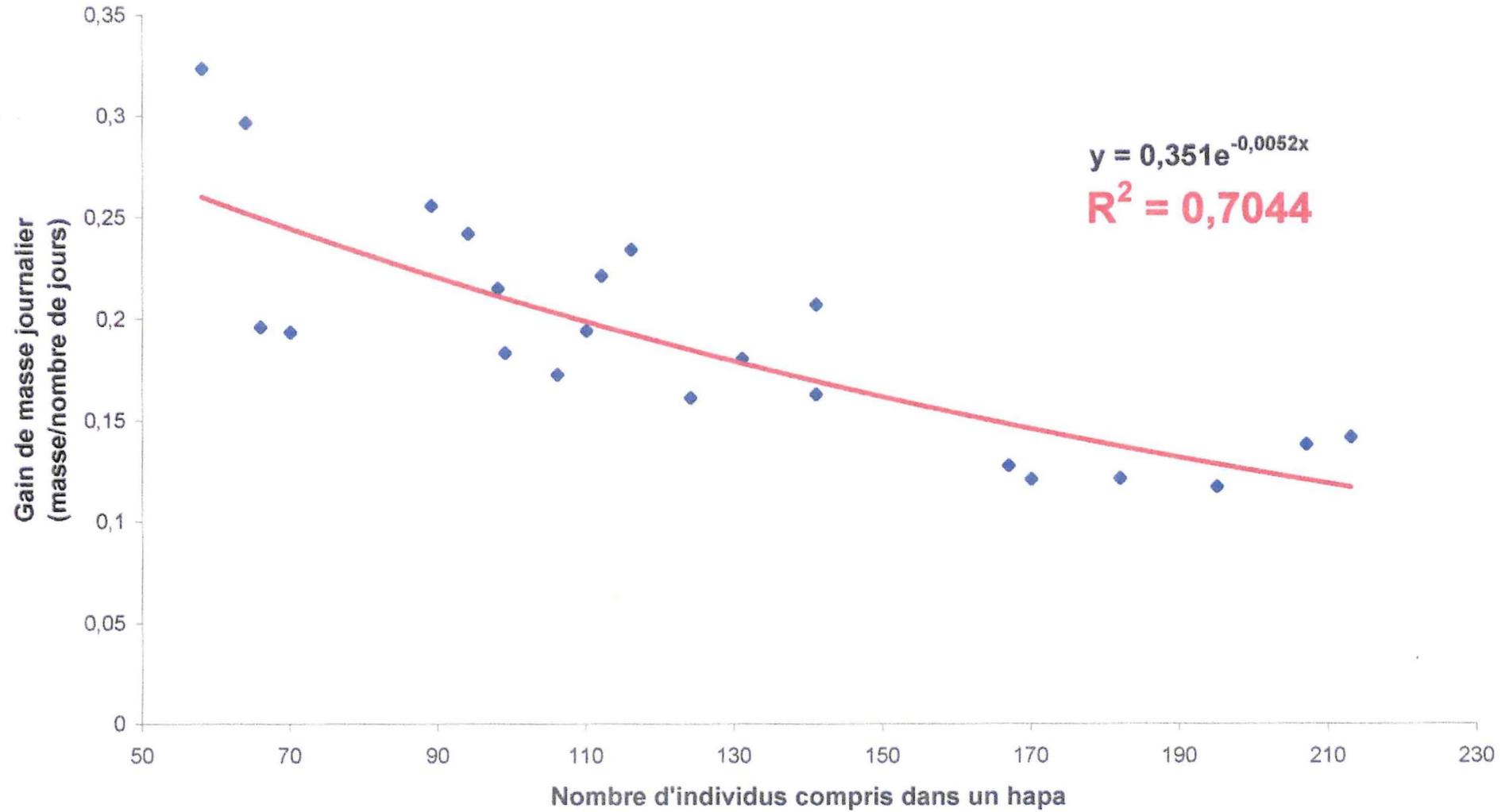
Document 13

Percentage of physical abnormalities in the different families of M2



Document 14

Corrélation entre la densité de stockage et les performances de croissance



Le volume des hapas (autour de 4 m³) et les quantités de nourriture restent constants, tandis que le nombre de poissons est plus ou moins important suivant les groupes. (entre 66 et 213) Les résultats de la croissance ont été influencés en partie par des effets densité dépendants.

Les densités de stockage devront donc être mieux équilibrées pour les prochaines générations de poissons.

Comment se déroule une sélection familiale dans des conditions normales de croissance ?

Si les résultats de croissance avaient été corrects (autour de 100g. de masse moyenne après six mois d'âge), l'observation des courbes des **documents 15 & 16** aurait permis de choisir les groupes ayant les meilleures performances de croissance pour chaque famille.

Ces courbes présentent la répartition des masses des poissons de chaque groupe de population en fonction de plusieurs classes de masses. (de 10g. en 10g.) La forme générale de ces courbes est bimodale. Un pic correspond à la population de femelles, l'autre à la population de mâles, ces derniers étant les plus gros.

Sans effets densité dépendants et des problèmes de croissance, les groupes les plus gros (pics les plus décalés vers la droite des graphiques) auraient été choisis.

3.2.1.6 Données sur les mortalités au cours des différents transferts.

Peu de données ont été collectées de façon complète sur le nombre d'individus vivants à la suite des différents transferts. (Incubateurs, paniers de récupération,...)

L'évaluation du taux de mortalité des œufs à la suite de l'incubation n'est pas possible par manque de données.

En effet, le comptage des œufs est un travail très austère. Associé à cela, le comptage est susceptible d'occasionner un stress supplémentaire des œufs pouvant causer des pertes. (Cette dernière remarque figure dans le rapport de mon prédécesseur) Ce genre de pratique a donc été limité puis supprimé par la suite.

Néanmoins, les données suivantes pour les M2 (purs *O. mossambicus* de 2^{ème} génération) sont disponibles :

- Taux de mortalité dans les paniers de récupération.
- Taux de mortalité dans les bacs circulaires.
- Taux de mortalité dans les hapas.

Les informations précédentes sont résumées dans le tableau et le diagramme circulaire du **document 17**.

Ces données permettent quelques remarques très générales :

- Les hapas occasionnent le plus grand nombre de mortalités.
- Les bacs circulaires occasionnent le moins grand nombre de mortalités.

Le passage dans les hapas représente donc une phase critique dans la production des géniteurs pour le projet. La surveillance des pratiques d'élevage dans ces structures devra donc être renforcée.

Même si les paniers de récupération ne peuvent pas être considérés comme des structures d'élevage, on constate que le taux de mortalité dans ceux-ci est important. Il conviendrait d'éclaircir de façon plus précise les raisons de ces mortalités.

Document 15 (1)

41.

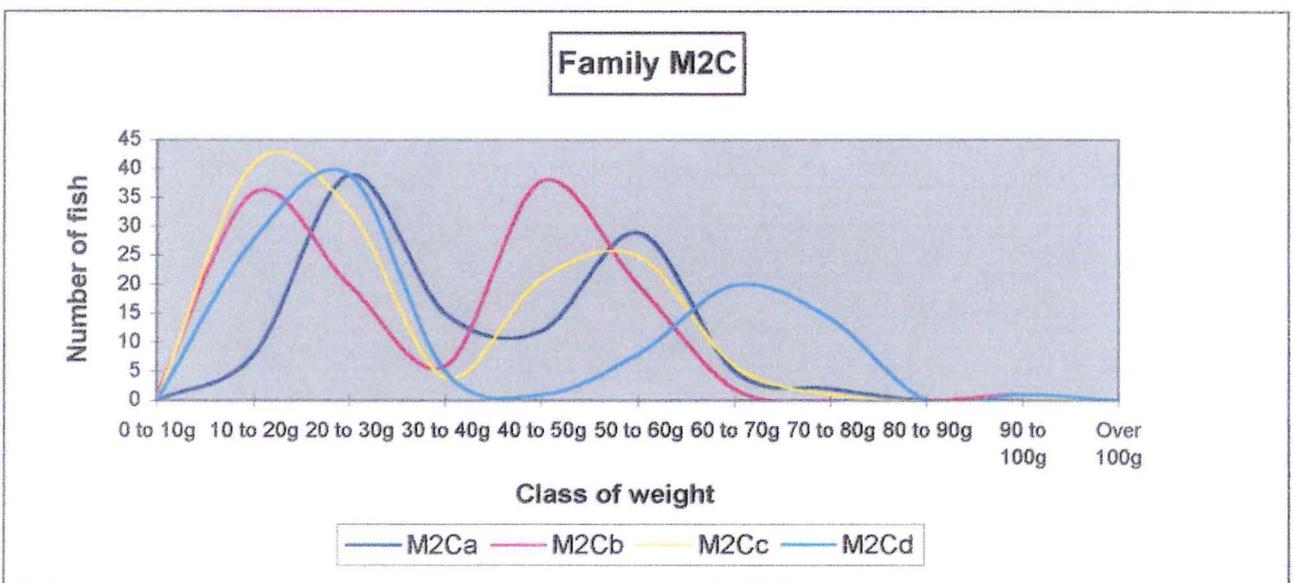
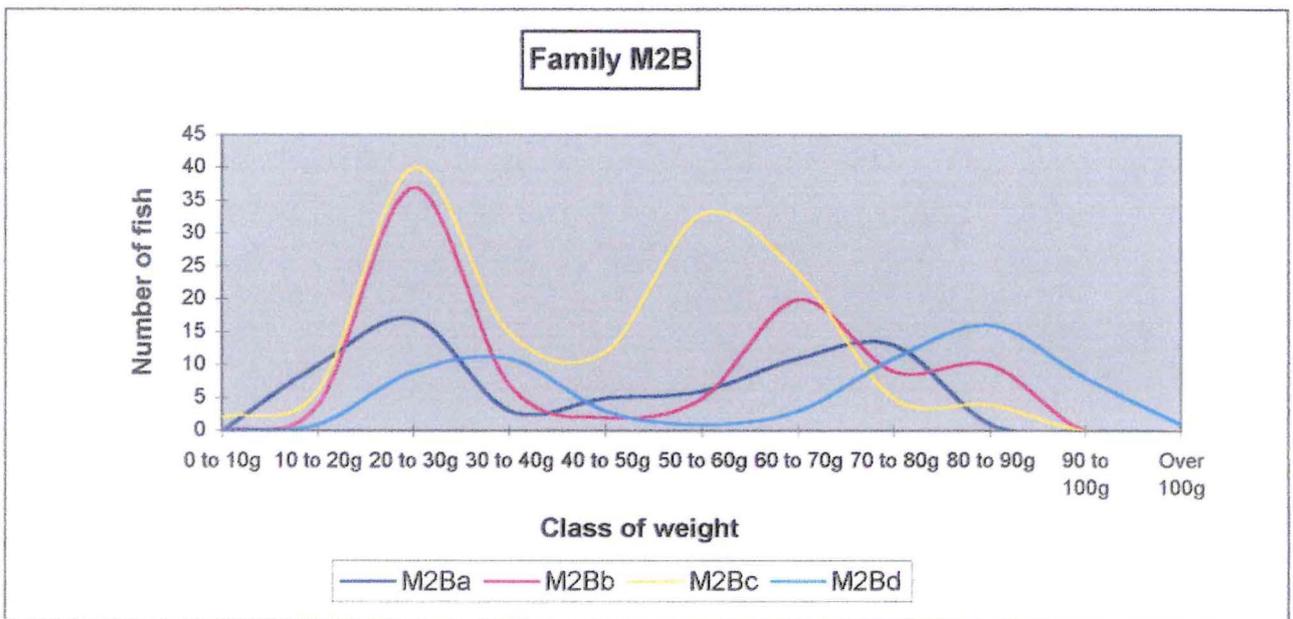
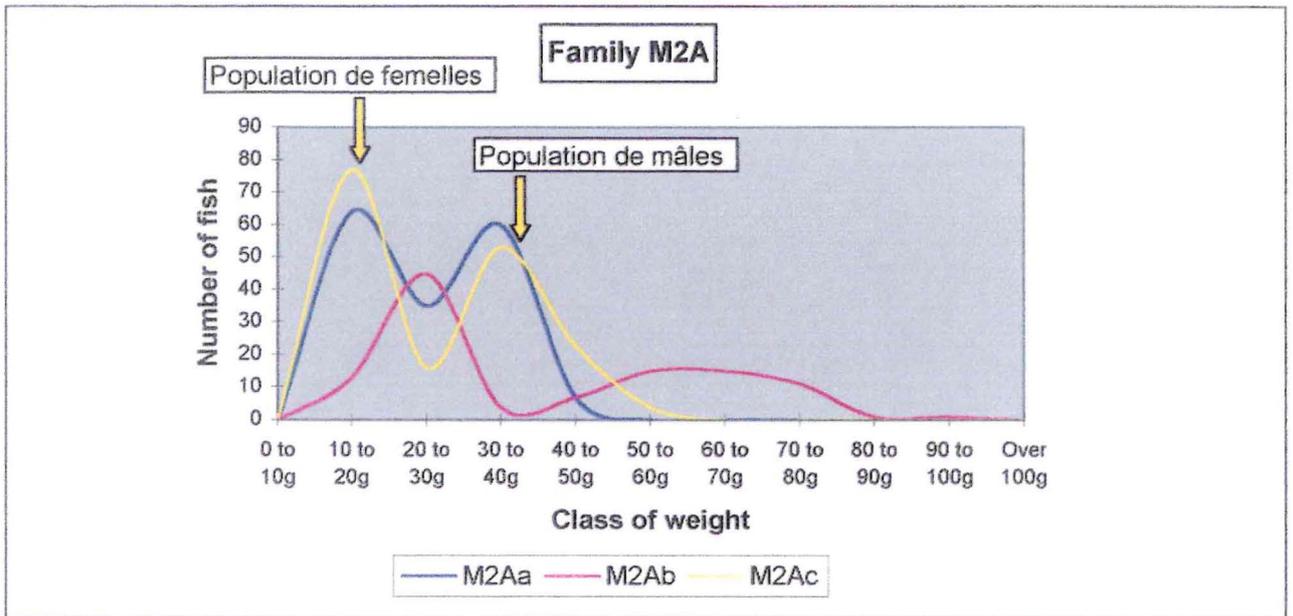
Family	0 to 10g	10 to 20g	20 to 30g	30 to 40g	40 to 50g	50 to 60g	60 to 70g	70 to 80g	80 to 90g	90 to 100g	Over 100g
M2Aa	0	64	35	60	7	0	0	0	0	0	0
M2Ab	0	13	45	4	7	15	15	11	1	1	0
M2Ac	0	77	16	53	23	4	0	0	0	0	0

Family	0 to 10g	10 to 20g	20 to 30g	30 to 40g	40 to 50g	50 to 60g	60 to 70g	70 to 80g	80 to 90g	90 to 100g	Over 100g
M2Ba	0	10	17	3	5	6	11	13	1	0	0
M2Bb	0	4	37	7	2	5	20	9	10	0	0
M2Bc	2	6	40	15	12	33	24	5	4	0	0
M2Bd	0	1	9	11	3	1	3	11	16	8	1

Family	0 to 10g	10 to 20g	20 to 30g	30 to 40g	40 to 50g	50 to 60g	60 to 70g	70 to 80g	80 to 90g	90 to 100g	Over 100g
M2Ca	0	8	39	15	12	29	5	2	0	0	0
M2Cb	1	36	20	6	38	20	2	0	0	1	0
M2Cc	0	41	33	4	21	25	6	1	0	0	0
M2Cd	0	28	39	5	1	8	20	14	0	1	0

**Tableau de répartition des individus M2A, M2B, M2C
(purs *O. mossambicus*) en fonction de classes de masse.**

Document 15 (2)



Représentation graphique de la répartition des individus M2A, M2B, M2C (purs *O. mossambicus*) en fonction de classes de masse.

Document 16 (1)

N°:

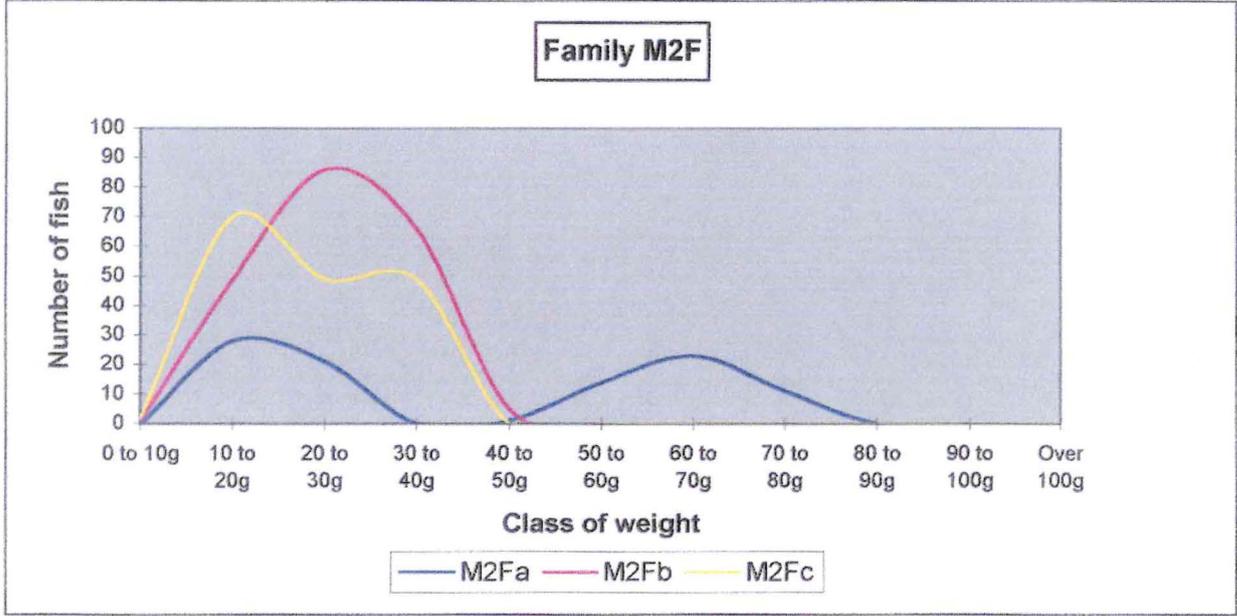
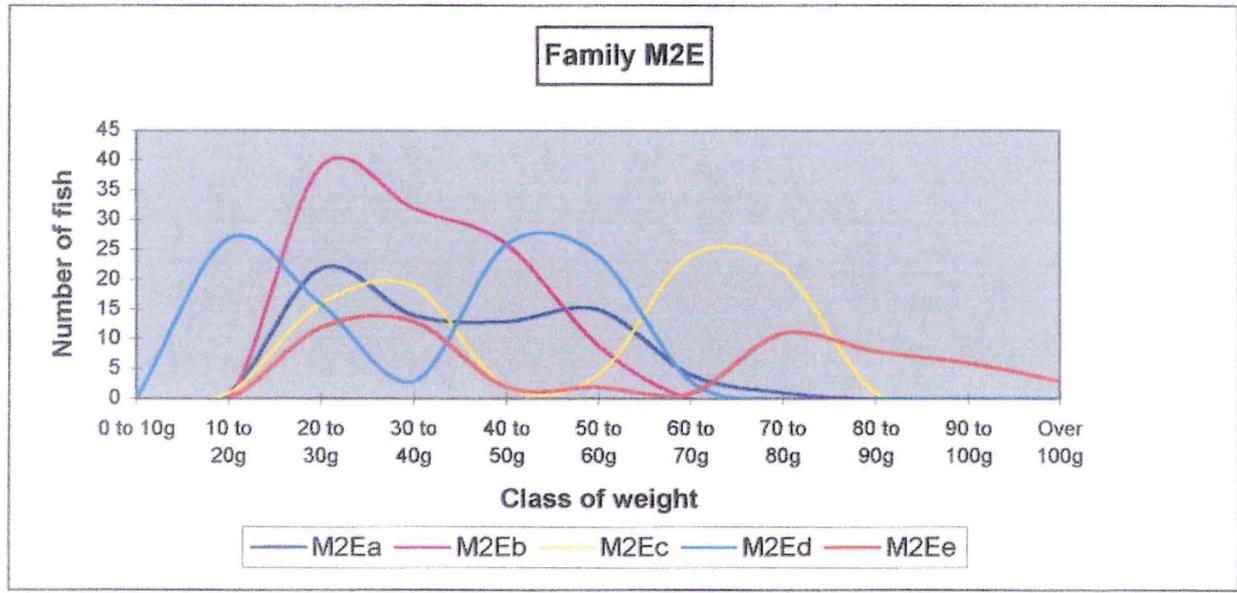
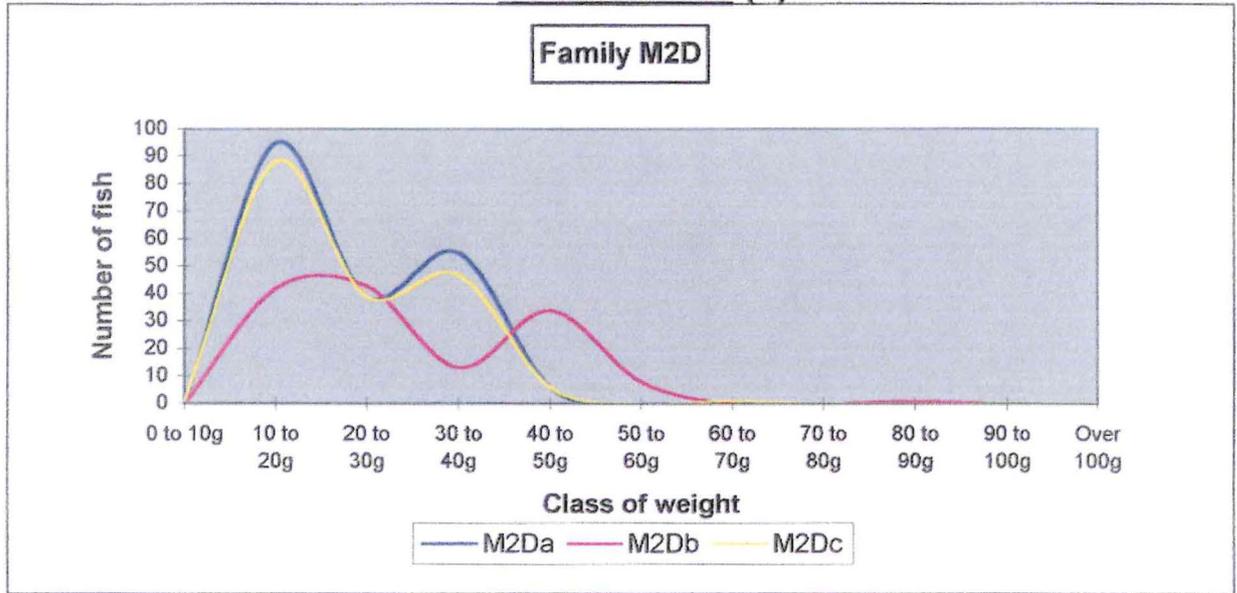
Family	0 to 10g	10 to 20g	20 to 30g	30 to 40g	40 to 50g	50 to 60g	60 to 70g	70 to 80g	80 to 90g	90 to 100g	Over 100g
M2Da	0	95	39	55	6	0	0	0	0	0	0
M2Db	0	42	43	13	34	8	0	0	1	0	0
M2Dc	1	88	39	47	6	0	1	0	0	0	0

Family	0 to 10g	10 to 20g	20 to 30g	30 to 40g	40 to 50g	50 to 60g	60 to 70g	70 to 80g	80 to 90g	90 to 100g	Over 100g
M2Ea	0	1	22	14	13	15	4	1	0	0	0
M2Eb	0	0	39	32	26	9	0	0	0	0	0
M2Ec	0	1	16	19	2	4	24	22	1	0	0
M2Ed	0	27	16	3	26	24	3	0	0	0	0
M2Ee	0	0	12	13	2	2	1	11	8	6	3

Family	0 to 10g	10 to 20g	20 to 30g	30 to 40g	40 to 50g	50 to 60g	60 to 70g	70 to 80g	80 to 90g	90 to 100g	Over 100g
M2Fa	0	28	21	0	1	14	23	11	0	0	0
M2Fb	1	49	86	66	5	0	0	0	0	0	0
M2Fc	2	70	49	49	0	0	0	0	0	0	0

**Tableau de répartition des individus M2D, M2E, M2F
(purs *O. mossambicus*) en fonction de classes de masse.**

Document 16 (2)

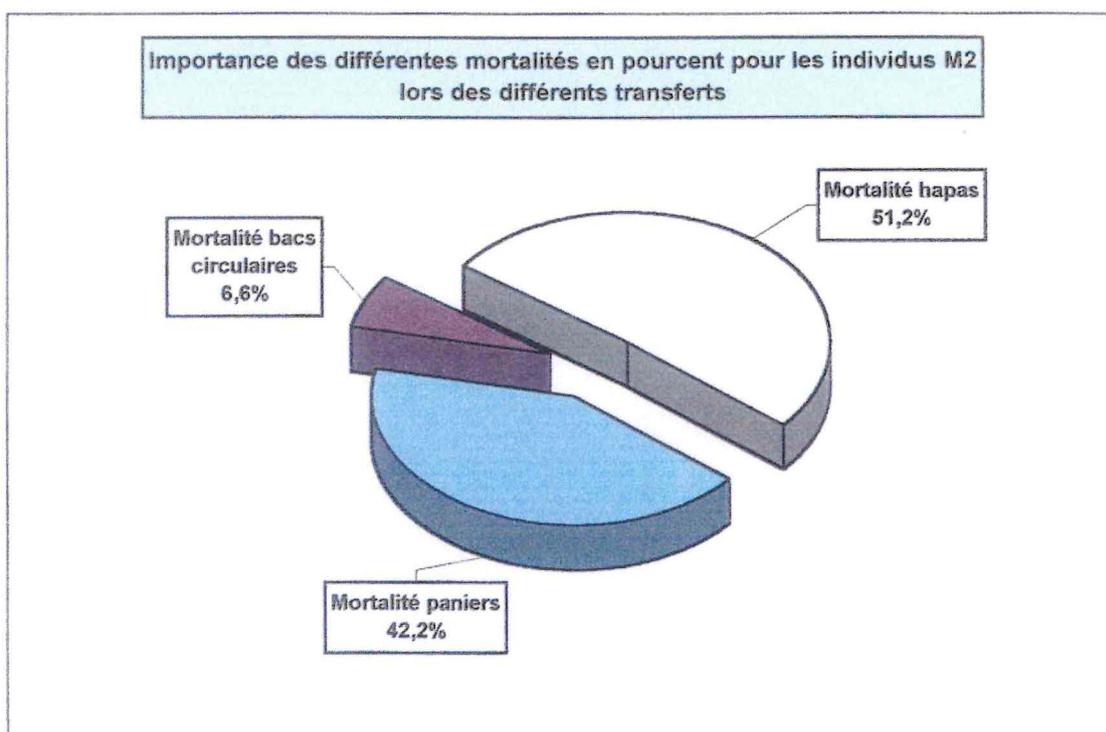


Représentation graphique de la répartition des individus M2D, M2E, M2F (purs *O. mossambicus*) en fonction de classes de masse.

Document 17

Famille	Mortalité paniers	Mortalité bacs circulaires	Mortalité hapas
M2Aa	3,5	4,4	92,1
M2Ab	92,2	0,0	7,8
M2Ac	1,7	0,0	98,3
M2Ba	0,0	41,4	58,6
M2Bb	38,6	0,0	61,4
M2Bc	99,3	0,7	0,0
M2Bd	21,9	0,0	78,1
M2Ca	83,5	0,0	16,5
M2Cb	82,9	0,0	17,1
M2Cd	5,4	0,0	94,6
M2Da	32,9	0,0	67,1
M2Db	40,6	52,1	7,3
M2Dc	64,3	0,0	35,7
M2Ea	39,6	0,0	60,4
M2Eb	73,6	1,0	25,4
M2Ec	93,2	0,0	6,8
M2Ed	44,4	22,2	33,3
M2Ee	6,4	0,0	93,6
M2Fa	43,5	9,0	47,5
M2Fb	8,3	7,7	83,9
M2Fc	0,0	0,0	100,0
TOTAL	42,2	6,6	51,2

Tableau : Pourcentage de mortalités en fonction des différents transferts pour les membres de la famille M2.



Enfin, il est important de comprendre que l'utilisation des mêmes structures d'élevage pour différents projets complexifie la bonne gestion des installations (transferts très fréquents, volumes de stockage pas toujours très adaptés ...).

3.2.2 Problèmes rencontrés au niveau de l'organisation

Ce point du rapport pourrait être considéré comme anodin. En fait, cette partie représente vraiment l'avenir du projet Molobicus. Sans organisation dans un programme de génétique comme celui-ci, l'issue peut être facilement catastrophique.

3.2.2.1 La sauvegarde des données

Qu'il s'agisse des reproductions, des géniteurs impliqués dans la production d'une famille, des liens de parenté entre individus, etc. toutes les données étaient sauvées sur papier. Cette façon de procéder présente de nombreux inconvénients.

⇒ Problème d'un accès clair et rapide de l'information pour tous les membres de l'équipe

Afin d'éviter les confusions, le travail de sauvegarde des données a été confié à une seule personne. Cette personne effectue par ailleurs tout le travail zootechnique (double travail difficile à gérer).

Résultat constaté : un seul et unique technicien est capable de comprendre toutes les implications du projet et d'agir (dans le respect de la hiérarchie, bien sûr). Afin d'organiser un travail d'équipe efficace, il est nécessaire que tous les membres puissent avoir accès aux informations facilement et rapidement. L'accès à l'information sur papier est à ce titre très lent.

L'exemple hypothétique qui va suivre est présenté pour clarifier les choses.

On désirerait savoir à partir du numéro de marque magnétique d'un poisson : son sexe, sa famille d'appartenance, ses parents et sa date de naissance.

Il faut donc lire toute la liste des marques magnétiques des poissons pour trouver le numéro et obtenir le sexe et la famille du poisson. Ensuite, pour savoir les parents et sa date de naissance, il faut regarder dans la liste des reproductions effectuées, quels sont les reproducteurs à l'origine de cette famille. Si l'on désire savoir si les parents sont encore en vie, il faut regarder la longue liste du "Dead stock" où sont répertoriés les individus morts.

Ces parents ont-ils produit d'autres familles ? (au cas où des inquiétudes persistent sur la possibilité de croisements consanguins) Une autre vérification de tous les numéros de la liste de reproductions est alors nécessaire pour les deux parents.

Sachant qu'il y a autour de 400 individus marqués (pour le moment) et que ce genre de vérification est très courant, une patience à toute épreuve s'avère nécessaire ...

⇒ Problème de la gestion à plus longue échéance des fratries de tilapias

Pour le moment, la saisie sur papier est encore à peu près gérable, mais dans les prochaines générations ce ne sera plus possible.

Les chiffres qui vont suivre sont présentés pour appuyer ce point.

- En génération G0, 21 tilapias ont servi à produire la génération G1. (jusque là, tout va bien)
- En génération G1, autour de 90 tilapias ont accompli avec succès des reproductions pour élaborer la génération G2. Bien entendu, de nombreuses pontes ont été éliminées après reproduction parmi ces poissons. Le nombre de tilapias marqués est donc bien supérieur à 90.

- Ces individus G1 ont produit 47 familles de la génération G2 parmi lesquelles des reproducteurs ont été sélectionnés. Les familles comptent de 70 à plus de 200 individus, ce qui fait un nombre total de poissons en G2 aux alentours de 4 000.

Il était donc important de remédier à ces problèmes assez vite avant d'être submergé par une quantité d'informations impossible à gérer.

3.2.2.2 L'organisation générale de l'équipe de travail

⇒ Pas de spécialisation du travail

Dans la majorité des cas, les personnes impliquées dans le projet sont assignées à des tâches multiples. Pour exemple, Nerafe B. CAOILE est affectée à un projet sur les caranges, le suivi de qualité des eaux du golfe de Lingayen (notamment en cas de morts importantes de milkfish) et enfin au projet Molobicus (partie génétique du programme).

Dans ces conditions, il est difficile de se consacrer au maximum de ses possibilités dans un programme de génétique comme Molobicus.

⇒ Un manque de formation pratique en informatique

On ne peut pas vraiment faire de reproches aux Philippins sur ce point quand on connaît le prix d'un ordinateur. Tous les gens n'ont donc pas forcément la possibilité et la chance de toucher un ordinateur dans leur vie. Néanmoins, le constat était le suivant :

- Les fichiers possédant les données du projet sont sauvés un peu partout dans l'ordinateur (anarchie totale).
- Les données sont traitées de façon incomplète.

3.3 Améliorations apportées dans différents domaines

3.3.1 Quelques solutions envisagées et testées dans le domaine zootechnique

Avant de dissenter plus en profondeur sur les solutions envisagées, il faut bien avoir à l'esprit que ces dernières n'ont pas été imposées à l'équipe comme telles, mais seulement suggérées.

D'autre part, il faut savoir également que les problèmes rencontrés (et énumérés dans le point 3.2) ne proviennent pas de mauvaises manipulations, les Philippins étant sur ce point d'une habileté irréprochable (point approfondi au 4).

3.3.1.1 Traitements réalisés

Plusieurs traitements ont été tentés dans le but de limiter les infections par les champignons pour les reproducteurs de valeur (c'est-à-dire important pour un croisement particulier).

⇒ Traitement au formol

Les indications de traitement au formol écrites dans la littérature étaient les suivantes : plonger les poissons à traiter durant 15 minutes dans une solution antifongique préparée à partir de 500 ppm de formol.

Le traitement a été réalisé sur une vingtaine de poissons infectés, dans des bacs en plastique de 100 L, avec une aération soutenue (le formol fait chuter considérablement l'oxygène dissous dans l'eau ce qui présente un danger pour les poissons).

La procédure énumérée au-dessus a été suivie. Après traitement, les poissons ont été placés dans un autre récipient de 100 L rempli d'eau douce et bien oxygéné pour permettre une bonne récupération.

Les effets escomptés de ce traitement n'ont pas été à la hauteur de nos espérances. Après plusieurs jours de traitement, la prévalence des infections fongiques était similaire sur les individus traités ou non.

⇒ **Traitement au vert malachite + formol**

Ce traitement est effectué mensuellement de façon préventive au GAMET (Groupement Aquaculture Méditerranéenne et Tropicale) de Montpellier. Les doses indiquées ci-dessous correspondent à celles communiquées via Internet par l'équipe technique du GAMET (Remerciements au passage ...).

Dose pour l'utilisation

Ce traitement est une combinaison de vert malachite et de formol. Il est utilisé en France sur des tilapias très affaiblis ou sur des bacs présentant un mauvais état sanitaire (mort chronique, état de stress).

Le mélange des deux produits s'effectue dans les proportions suivantes :

- 4 grammes de vert malachite avec 1 L de formol.

Ce mélange est ensuite utilisé de la façon suivante :

- 25 mL du mélange par m³ en bain de 1 heure, 1 fois par jour à renouveler trois fois.

Procédure

Le traitement peut s'effectuer directement dans l'aquarium. Pour cela, l'arrivée d'eau de l'aquarium est coupée. Le mélange préparé est ensuite versé dans l'eau. Au bout d'une heure, l'arrivée d'eau est ouverte afin de diluer le traitement.

Le formol présente l'inconvénient de détruire les colonies dénitrifiantes du filtre biologique. Afin d'éviter cela, le surplus d'eau occasionné lors de la dilution du traitement n'est pas envoyé au filtre, mais évacué sur le sol pendant une vingtaine de minutes.

Mise en place

Les concentrations et le mode opératoire énoncé au-dessus ont été respectés. Les résultats ont été plus que décevants puisque aucune amélioration notable n'a été observée.

⇒ **Isolation des individus infectés à 9 ‰**

La dernière solution testée a été d'isoler les individus infectés par les champignons dans des petits aquariums de 20L avec une salinité de 9 ‰ (Ces aquariums servent en temps normal aux tests de salinité).

Si les problèmes n'ont pas été résolus dans la plupart des cas, cette technique a permis au moins de limiter la propagation de la maladie.

Ces solutions s'avérant inefficaces, les raisons plus profondes de la maladie ont été recherchées et à ce titre, la nourriture a été améliorée.

3.3.1.2 Amélioration de la nourriture

Cette partie recense les changements effectués aussi bien dans la qualité que dans la façon de distribuer l'aliment. Les Philippins étant par tradition de bons pisciculteurs, la situation n'était pas alarmante, mais simplement peu adaptée par rapport aux objectifs visés.

En effet, le but de ce projet est de produire le plus rapidement possible les générations suivantes d'hybrides. Pour réduire cet intervalle entre chaque génération, l'obtention et la maintenance de bons reproducteurs sont nécessaires, une nourriture de très bonne qualité est donc obligatoire. La rentabilité de la production de tilapias n'entre pas en considération.

* *Changement de nourriture*

La nourriture tilapia/bangus a été remplacée par de la nourriture crevette.

Les individus peu âgés doivent recevoir une alimentation particulièrement riche en protéines, car leur croissance est largement plus forte que des individus en fin de vie.

D'un point de vue pratique, la nouvelle donne pour les différents stades de vie des tilapias est la suivante :

⇒ **Nourrissage des larves (larval rearing)**

De l'aliment de démarrage pour les crevettes (starter fry mash) est mixé avec 20 % d'aliment encapsulé (hatchfry encapsulon) pour crevettes (taille III : 250-450 µm) utilisé comme additif. Ce dernier aliment peut normalement être utilisé comme remplacement partiel des larves d'*Artemia* dans les élevages de crevettes. En effet, la composition de celui-ci imite le contenu nutritionnel de toutes les nourritures vivantes (microalgues, larves d'*Artemia*,...).

Cet aliment vendu par boîte de 500 g possède la composition suivante :

- protéines : 50 %
- lipides : 12 %
- fibres : 3 %
- cendres : 12 %
- humidité : 6 %

Ingrédients : Chair de poisson et de crevette, chair de seiche, œuf entier séché, farine de laminaire (kelp), chair de palourde, hydrolysât de viande, *Spirulina*, farine de sang, levure de boulanger, farine de soja, poisson séché soluble, fécule de maïs, hexamétophosphate de sodium, alginate de sodium, huiles de poissons marins, tourteau de soja, cholestérol, acide ascorbique, inositol, menadione diméthylpyrimidol bisulfite, chlorure de choline, acide para-aminobenzoïque, acétate de di-alpha tocophérol (source de vitamine E), niacine, pantothénate de calcium, vit B12, D stérol d'animaux (vit D3), acide folique, riboflavine, biotine, acétate de vit A, thiamine mononitrate, hydrochlorure de pyridoxine, sulfate de zinc, sulfate de manganèse, sulfate de cuivre, iodate de potassium, antioxydants. (conservateurs)

⇒ **Nourrissage des alevins**

De l'aliment de démarrage pour crevettes a été employé pour nourrir ces individus. Cet aliment vendu par pack de 27 kg (divisé en sacs de 500 g) possède la composition suivante :

- protéines brutes : 40 % min.
- lipides : 40 % min.
- fibres : 40 % min.
- cendres : 16 % max.
- humidité : 10 % max.

Entre l'ancienne et la nouvelle nourriture, le taux de protéines brutes est passé de 31 à 40 % et les lipides de 10 à 40 %.

⇒ **Nourrissage des poissons en bacs cimentés**

Du "starter 2" (granulés) pour crevettes a été employé pour nourrir ces poissons. Cet aliment est vendu par sac de 10 kg. Il possède 43 % de protéines brutes.

Ingrédients : Chair de poisson, chair de crevette, levure, phosphate de calcium, farine de graine de soja, farine de blé, chair de seiche, minéraux crevettes, calcaire, liants, vitamines crevettes, éléments traces, agents attractifs, antioxydant, inhibiteur de moisissure.

Entre l'ancienne et la nouvelle nourriture, le taux de protéines brutes est passé de 25 à 43 %.

⇒ **Nourrissage des géniteurs en aquariums**

Le "starter 2" (granulés) pour crevettes est également utilisé pour nourrir ces poissons.

Entre l'ancienne et la nouvelle nourriture, le taux de protéines brutes est passé de 28 à 43 %.

D'autre part, la méthode de distribution de nourriture a elle aussi été adaptée pour améliorer les performances de croissance et de reproduction des tilapias.

*** Mise en place d'un tableau de nourrissage adapté aux objectifs de production**

Afin de simplifier l'information, un tableau avec les quantités de nourriture et le nombre de distributions en fonction des âges a été établi. Ce tableau n'est pas construit sur la considération d'un nourrissage à 5 % de la biomasse comme cela était réalisé jusqu'à présent (Cf. 3.2.1.2).

Les considérations qui vont suivre ont été prises en compte pour établir ce tableau de nourrissage adéquat.

⇒ **Pour le nourrissage larvaire et les alevins**

Cette phase est importante puisque c'est le démarrage des larves et donc de la production de futurs géniteurs. Ces poissons doublent leur poids en 24 heures. Ils seront donc nourris très souvent (5- 6 fois par jour) et *ad libitum*. Ces poissons doivent manger avec appétit tous les jours.

Lorsque leur taille est suffisante (semblent à l'étroit dans les paniers de récupération), ils sont transférés dans les structures de grossissement.

⇒ **Phase de grossissement**

Les rations sont adaptées en fonction des objectifs de production (Cf. 3.3.1.2).

A 30 jours, les poissons doivent avoir une masse de 1g Ils ne doivent en aucun cas faire moins de 0,5g à cet âge.

Le nourrissage doit être correct sans excès : 3 à 4 nourrissages journaliers sont suffisants.

A 60 jours, les poissons doivent avoir une masse de 10 g.

A 90 jours, ils doivent peser 20-30 g.

Ceci représente pour la période 2 mois-3 mois, un gain de masse journalier de 0,6 g au maximum.

A partir d'une masse de 30 g, un grossissement de 2 à 2,5 g par jour est possible.
 A cette masse, l'indice de consommation est de 1 (1 g d'aliment produit 1g de poisson).
 L'ajout de protéines est possible si la nourriture n'est pas assez appétante. (farine ou huile de poisson)
 Pour la petite histoire, du Patis (équivalent philippin du Nuoc mam) acheté sur le marché local a été utilisé dans ce but au début. Ce produit ne s'avérant pas nécessaire, (appétence de la nourriture des poissons suffisante) la bouteille restante a servi à l'assaisonnement du riz pour les repas du midi du personnel.

⇒ **Phase de croissance : production de géniteurs après 30 g**

La croissance ne doit pas être en dessous de 1,5 g par jour.

De 30 à 100 grammes, l'indice de consommation doit être compris entre 1,5 et 2.

Au-dessus de 100 g, la croissance est de 1,5 à 2g/jour et l'indice de consommation est de 2.
 La dose à distribuer est de 4g/jour/poisson, mais, si ces derniers en sont capables, il ne faut pas hésiter à leur donner jusqu'à 7 g/jour/poisson. (Ce moment est très intéressant pour pouvoir pousser les géniteurs) En aucun cas, il ne faut distribuer une dose inférieure à 3g/jour/poisson.

La condition requise dans ce type de pratique est de contrôler régulièrement si l'aliment est bien consommé.

Des pêches de contrôle sont à effectuer tous les mois pour vérifier les caractéristiques de croissance des poissons.

Le tableau synthétique suivant a donc été établi à partir de ces remarques :

	Masse individuelle (en g)	Objectifs d'indice de consommation (I.C.)	Objectifs de croissance (g/jour/poisson)	Ration (/poisson/jour)	Type d'aliment	Fréquence, nombre de distribution
Elevage larvaire				Observer le comportement	Fry mash + additif	7 jours / 7
Alevinage	Jusqu'à 1g	< 1	0,033	± 0,04	Fry mash crevette	7jours/7 en 3-4 fois
Pré-grossissement	1 à 10 g	1	0,3	± 0,4	Fry mash crevette	6 jours/7 en 3 fois
Grossissement I	10 à 60 g	1,2 – 1,5	1 – 1,5	1,3 – 2	Crumble crevette démarrage	5 jours/7 en 3 fois
Grossissement II	60 à 150 g	2 – 2,3	1,5	3,5 - 5 selon comportement	Crumble 2 nd e période	5 jours/7 en 2 fois
Entretien	> 150 g			3	Granulé crevette	5 jours/7 en 1 fois
Géniteurs en aquarium				2	Granulé crevette	5 jours/7 en 1 fois

Tableau : Proposition d'un schéma de nourrissage pour les tilapias du projet Molobicus.

La mise en place de cette nouvelle façon de nourrir s'est heurtée à des réticences assez rapides. En effet, le tableau de nourrissage est très contraignant puisqu'il oblige à peser toute la nourriture à distribuer aux poissons. Vu la grande quantité de poissons du projet (autour de 4 000), le peu de disponibilité des différentes balances, ... les données du tableau (masses à distribuer) ont été simplifiées en nombre de cuillères, nombre de couvercles de boîtes...

De cette façon, ce type de nourrissage a pu être appliqué.

⇒ **Des résultats encourageants**

L'effet de l'amélioration de la nourriture s'est fait ressentir auprès des géniteurs. Les infections fongiques chez ces derniers ont quasiment disparu (rares cas d'infection observés de temps en temps).

D'autre part, les familles non produites comme les H2C, H2F ont pu l'être ; les femelles produisant des ovocytes de meilleure qualité.

Ne disposant que de peu de données sur les taux de survie des alevins depuis le changement de nourriture, on ne peut affirmer si l'amélioration de nourriture a eu un quelconque effet sur ces derniers.

Le système d'incubation a lui aussi été revu et des améliorations à plus longue échéance ont été envisagées.

3.3.1.3 Les incubateurs

⇒ **Commande de nouveaux incubateurs pour la production de masse**

Le but de cet achat de nouveaux incubateurs est simple : effectuer la production de masse d'individus MoNi dans des structures non adjacentes à celle des alevins du projet génétique. La ressemblance entre tous les individus au stade d'alevin est tellement grande que les mélanges peuvent se faire très facilement (débordements des incubateurs sur les paniers de récupération par exemple) sans que personne ne s'en inquiète.

Ces nouveaux incubateurs sont par ailleurs en résine (travail remarquable effectué par un fabricant local) et possèdent une conformation idéale pour le brassage des œufs (**figure 27**). Le modèle utilisé pour la réalisation de ces nouveaux incubateurs provenait de Muñoz (autre station BFAR).

⇒ **Nouveaux incubateurs prévus pour le projet génétique**

A Montpellier, les incubateurs utilisés pour les œufs de tilapias sont en verre et leur conformation est idéale. Un exemplaire fêlé (donc inutilisable) a été ramené de France aux Philippines pour servir de modèle à l'élaboration d'une nouvelle batterie d'incubateurs. Ces nouveaux incubateurs ne sont qu'au stade de projet pour le moment.

⇒ **Désinfection des incubateurs**

La désinfection systématique à l'eau de Javel (hypochlorite de sodium) est effectuée désormais avant chaque nouvelle utilisation. Ceci est réalisé afin d'éliminer d'éventuelles bactéries ou champignons présents à la suite des incubations des pontes précédentes.

⇒ **Réinstallation du filtre pour les incubateurs**

Une nouvelle pompe a été rachetée et le filtre pour les incubateurs réinstallé (remise en place du circuit fermé).



Photo 27 : Ces nouveaux incubateurs en résine ont été fabriqués à partir d'un exemplaire provenant du centre BFAR de Muñoz.

Leur conformation assure un meilleur mouvement des œufs en incubation.

La venue de ces incubateurs a permis de séparer la production de masse des hybrides MoNi par rapport à celle des hybrides du projet Molobicus. (évite les risques de mélanges entre alevins)



Photo 28 : Un pur *O. mossambicus*.



Photo 28 bis : Individu issu du back-cross entre un hybride MoNi femelle (croisement d'une femelle *O. mossambicus* et d'un mâle *O. niloticus*) et un mâle *O. mossambicus*.

Photo 28 & 28 bis : La ressemblance entre les individus issus des back-cross de première génération et les purs *O. mossambicus* est de plus en plus forte.

Des précautions importantes devront donc être prises pour éviter les mélanges entre ces deux groupes de poissons.

Peut-on réellement parler d'une amélioration ? Là est toute la question ... De toute façon, la décision de réinstaller le filtre ne s'est pas faite à la suite d'un commun accord.

Il est vrai que l'arrivée d'eau aux incubateurs est bien meilleure puisqu'elle est continue. Les problèmes dus aux bulles ont donc disparu. Il reste à savoir maintenant si les mortalités occasionnées sur les œufs par contamination bactérienne seront moins préjudiciables que les pertes dues aux problèmes des bulles (affaire à suivre). Quoi qu'il en soit, un suivi des taux d'éclosion (hatching) serait intéressant à effectuer pour les prochaines pontes.

3.3.1.4 Le stockage : prévisions

En accord avec les données de croissance issues de l'échantillonnage biométrique, les densités de stockage seront revues à la baisse. Les changements qui vont suivre sont donc prévus.

⇒ Construction de nouveaux hapas, bassins cimentés

Avec l'arrivée de la troisième génération d'hybrides et de purs *O. mossambicus*, le problème de stockage va se faire sentir. Des aménagements sont donc envisagés et ce point a été abordé lors de réunions de concertation (Cf. 3.3.2.2).

⇒ Transfert d'individus dans des étangs de pisciculture (fishponds)

Les géniteurs des générations précédentes qui ne sont pas utilisés ont été transférés en étang. Ceci permet d'obtenir un peu plus de place dans les structures cimentées et de diminuer les densités de stockage.

Au-delà des aspects purement zootechniques, le projet requiert une organisation particulièrement efficace. C'est de ce sujet que nous allons débattre à présent.

3.3.2 Activités réalisées pour améliorer l'organisation

3.3.2.1 Le recours à l'informatique

Afin d'améliorer la qualité de l'information, l'informatique s'est avérée comme l'ultime solution aux problèmes rencontrés.

Par chance, le centre BFAR possède un programmeur en informatique. Cet employé a été engagé pour la conception graphique, l'entretien des ordinateurs et un travail de sténodactylo. Les besoins du projet *Molobicus* ont permis d'exploiter de façon plus appropriée le potentiel de cet employé.

⇒ Informations individuelles sur les poissons

Un programme sous DOS a été mis en place pour permettre la saisie individuelle de tous les individus possédant une marque magnétique. (monitoring des poissons)

Grâce à cette base de données, les informations suivantes sont accessibles en permanence.

- Le numéro de la marque magnétique du poisson.
- Le sexe du poisson.
- Le nom de la famille d'appartenance du poisson. (hybride de première génération, espèce pure...)
- Le nombre d'individus dans la famille.
- La date de naissance du poisson. (date d'hatching)
- La localisation.
- Le but de production. (MoNi1 = H1A, H2A, H3C...)
- La date du dernier transfert effectué.
- Le statut. (mort/vivant)
- La date de mort.

Le programme possède plusieurs fenêtres de travail :

- Fenêtre où l'on peut visionner les poissons au cas par cas.
- Fenêtre avec tout le stock de poissons par groupes de familles.
- Fenêtre de recherche par type d'information.
- Fenêtre de saisie des données.

Ce programme est muni d'un système de recherche à partir de tous les éléments précédemment cités :

- Recherche à partir du numéro de marque magnétique du poisson.
- Recherche à partir du nom de famille, de la date de mort...

L'avantage d'une base de données sous DOS par rapport à Access est sa simplicité d'utilisation (pour la saisie des données, la recherche, ...) et le peu d'espace mémoire requis pour le stockage des données. La seule difficulté est la programmation qui doit être laissée aux soins d'un informaticien.

⇒ Informations sur les liens de parenté

Un schéma général de la généalogie des hybrides du projet Molobicus a été établi sous le logiciel Adobe PageMaker 6.5 (**document 9**). Cette représentation synthétique permet un dialogue plus facile avec les généticiens basés en France (quel croisement semble meilleur, points peu clairs ...).

D'autre part, une autre programmation devait être faite pour connaître les liens de parenté entre les différents individus. A ce jour, ce programme sous DOS n'a pas été mis en place.

Néanmoins, un système de généalogie sous Excel a été établi pour palier à ce manque.

Sur une feuille de calcul d'Excel classique, l'obtention des informations suivantes est possible pour un poisson donné :

- Descendance du poisson (de 1^{ère}, 2^{ème}, ... génération).
- Croisement(s) effectué(s) avec un ou plusieurs individus.
- Individus des générations précédentes (de G0, G1, G2, ...).

Un manuel d'utilisation a été fabriqué pour expliquer comment procéder pour obtenir ce type d'informations (**document 18**).

Les liens entre les différents individus sont amovibles ce qui clarifie énormément la lecture. Seuls les liens nécessaires sont affichés.

⇒ Intérêt de ce programme

Si l'on appuie de façon consécutive sur la commande qui donne la descendance (**documents 19 & 20**), on peut savoir combien d'individus a produit un poisson situé en G0.

Tous les individus ayant ce père comme parent sont indiqués. On peut ainsi prévoir si un croisement futur est acceptable, c'est-à-dire si les individus sont apparentés ou non.

Le but de cette vérification est d'éviter au maximum les croisements consanguins.

Ce système très simple a permis de déceler des exemples de croisements consanguins lors de l'élaboration de la troisième génération.

Document 18

HOW TO USE THIS GENEALOGY ???

I - IF this toolbar is not on the screen



- 1) Press Tools
- 2) Go to Auditing
- 3) Select "Show Auditing Toolbar"

II - WARNING : How to select a tag number ?

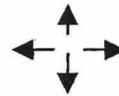
- 1) Don't press directly on the tag number (you can try on the example above to see the result !!)
If you don't follow this instructions you can destroy the program

Female MoNi 2

407E673011 407E7F2759 407E67082A 407E784817 407F012135 407F0B5335

- 2) Select a cell under the tag number →

- 3) Then use the arrow **on the keyboard** to move to the tag number that you want



- 4) When you see that (see under) it means that you have select the tag number **407E67082A**

↙ **Never click on the tag number with the mouse**

- 5) If you want to know the offspring of this fish, press  on the Auditing toolbar
- 6) If you want to know the parents of this fish press 
- 7) If you want to remove all the arrows press 
- 8) If you want to remove the arows from the parents press 
- 9) If you want to remove the arows from the offspring press 

- 10) If you do a big mistake **DON'T BE AFRAID !!!!**

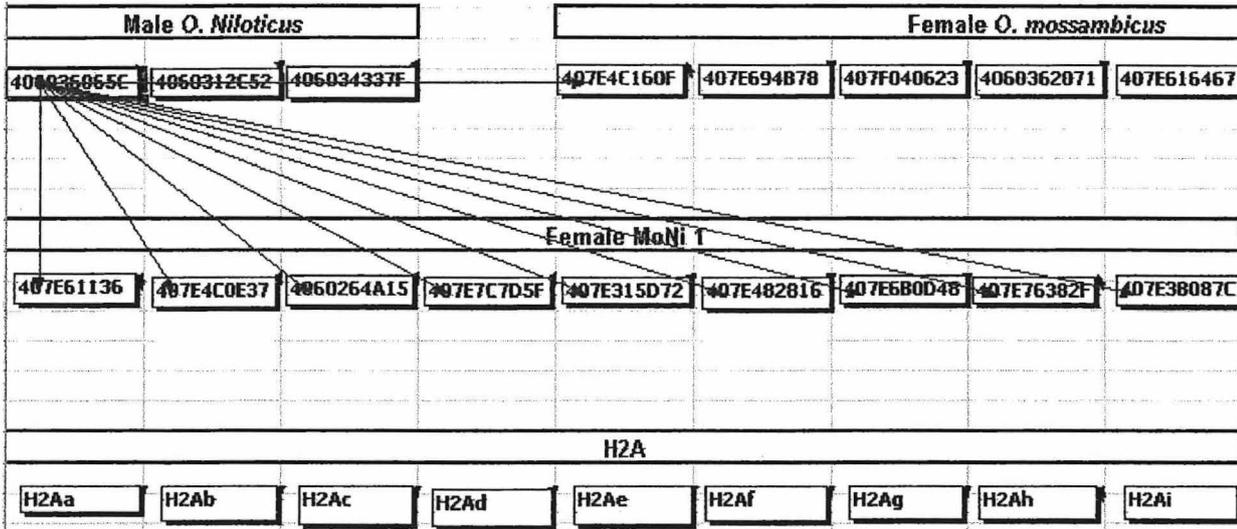
Close the document

When the computer ask to you if you want to save the modifications press **NO**
Open another time the document and follow the instructions carefully...

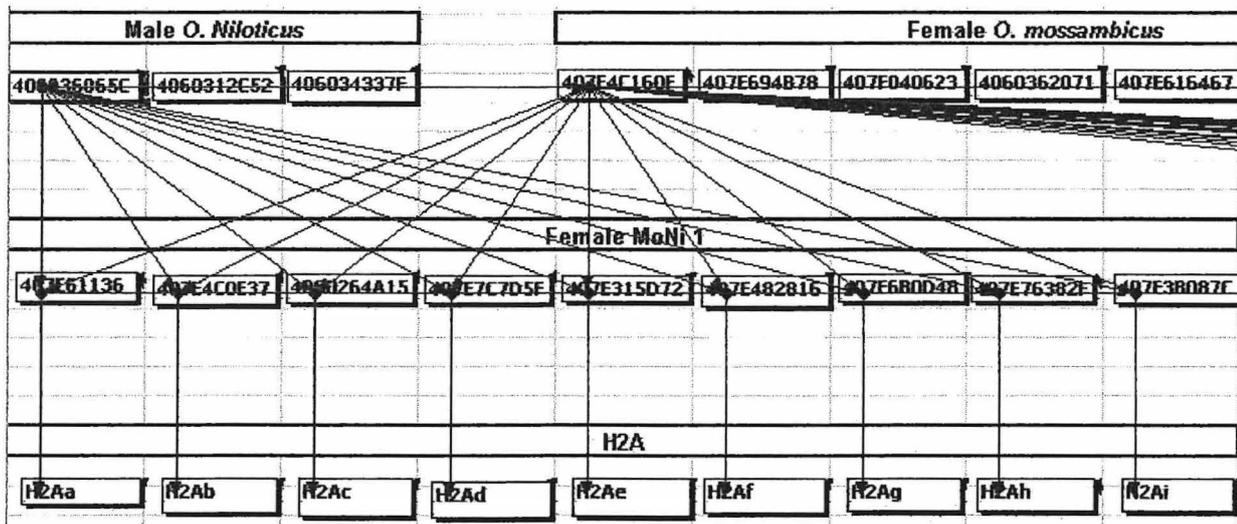
Document 19

Note : Il est impossible d'afficher de façon complète la généalogie vu sa grandeur.

1) Si l'on presse une seule fois sur  on obtient la descendance de ce mâle *O. niloticus* pour la génération G1. Ce mâle a été croisé avec la femelle *O. mossambicus* 407E4C160F.



2) Une deuxième pression sur  donne les descendants en G2.



Une portion de la généalogie seulement est visible sur cet exemple.

Ce mâle est le grand-père des H2A. Il a été croisé avec la femelle 407E4C160F.

Cette femelle a été croisée avec deux mâles (le mâle 406036065C et un autre mâle situé sur la droite du graphique).

Les traits qui partent vers la droite indiquent la descendance de cette femelle avec un autre mâle : ce sont les demi-frères et demi-soeurs des descendants du mâle 406036065C en G1.

3) Une troisième pression sur  (résultat page suivante) indique :

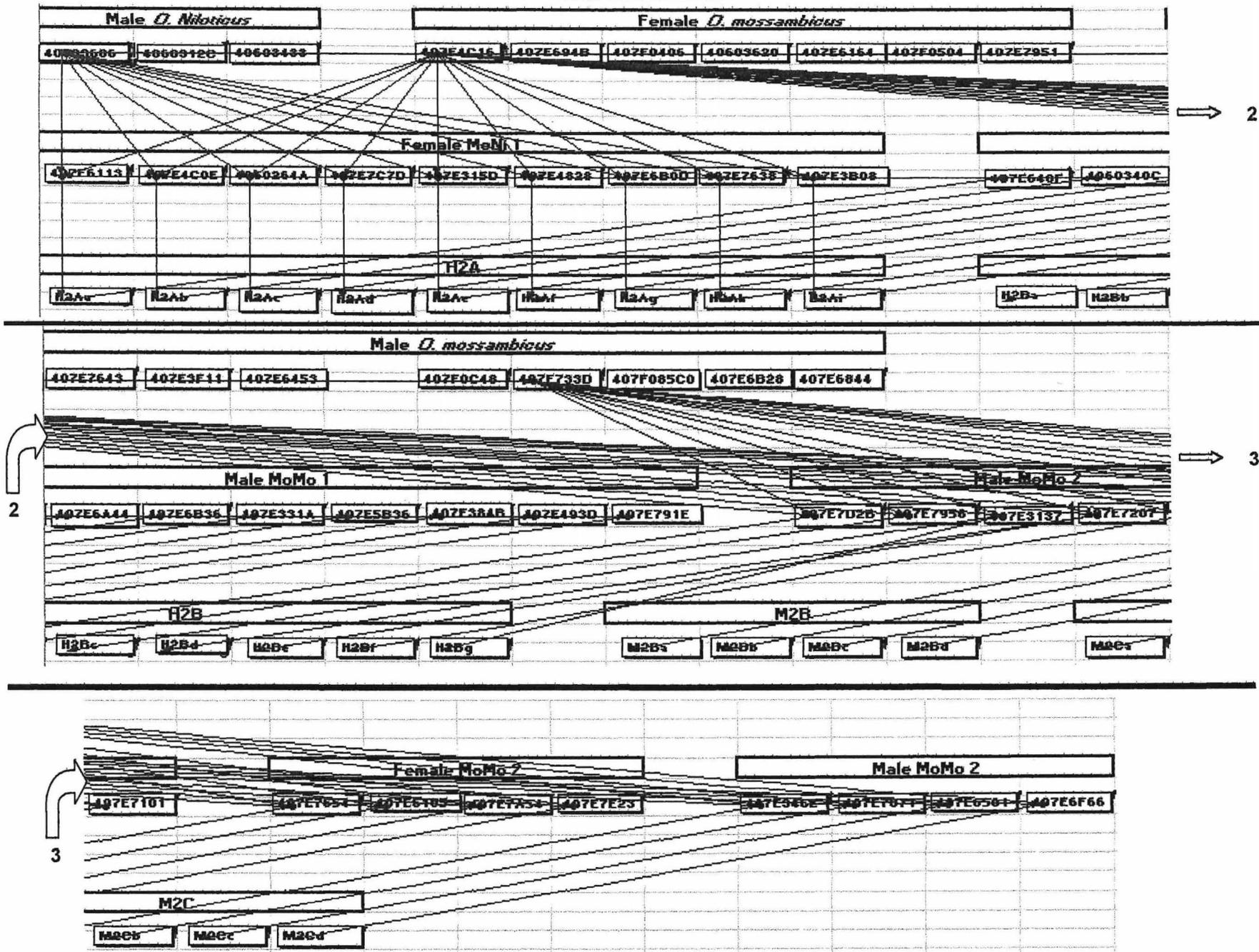
les petits enfants du mâle de départ

la descendance des demi-frères et demi-soeurs de la descendance du mâle en G1

Plus clairement, cela indique tous les individus en rapport avec le couple de départ situé en G0.

(Couple : Mâle *O. niloticus* 406036065C avec Femelle *O. mossambicus* 407E4C160F)

Recherche de la descendance pour l'individu 406036065C



Recherche de la descendance pour l'individu 40603605C

Par exemple, une erreur de croisement a été produite dans le passé en génération G0. Un même mâle *O. mossambicus* a été utilisé dans deux reproductions avec des femelles *O. mossambicus* (production de M1C et M1D). Les croisements suivants (entre M2C et M2D, H2D et M2D ...) s'effectuent donc avec des poissons possédant une part de matériel génétique en commun.

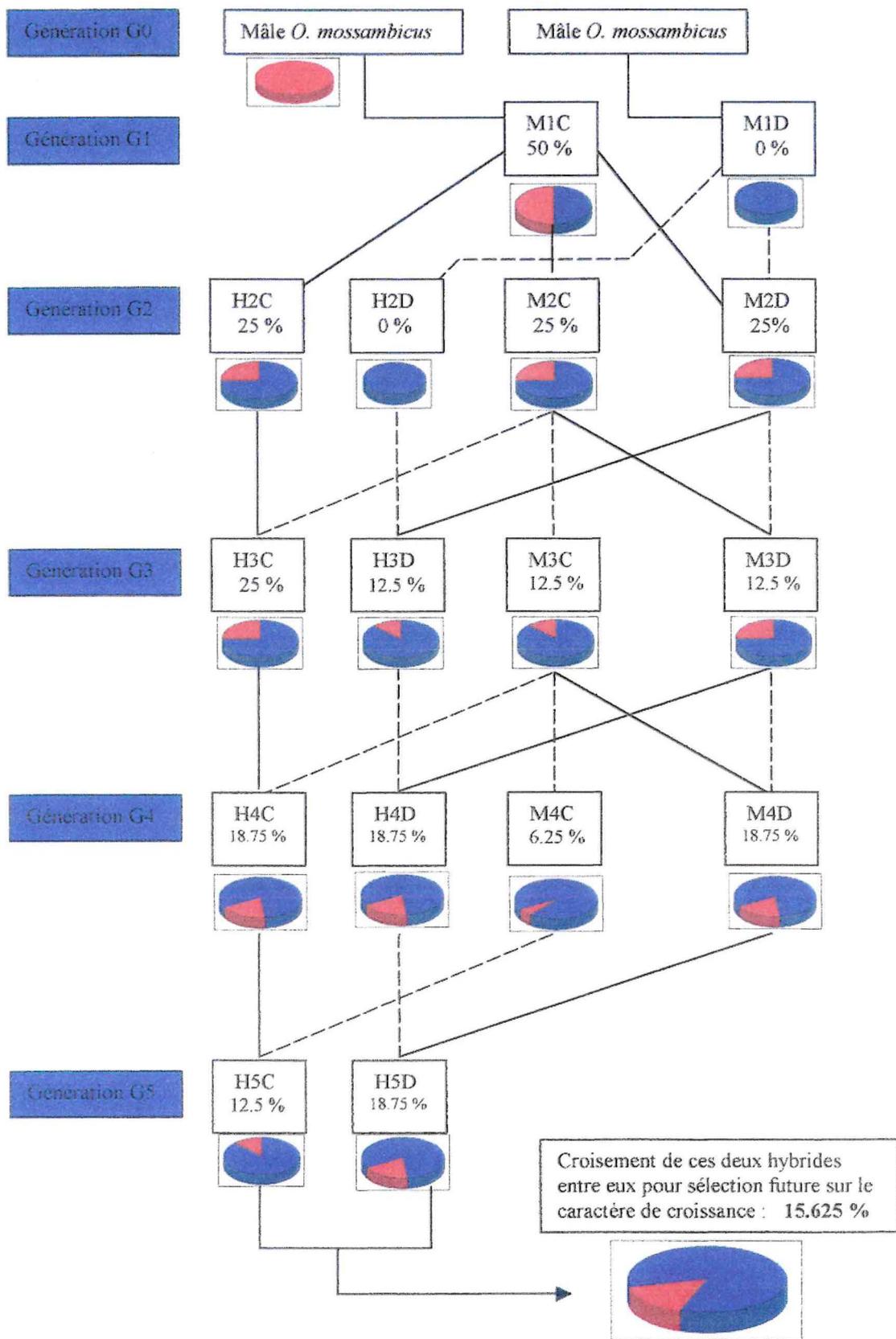
Le **schéma 2** du **document 21** résume le pourcentage de génome de ce mâle *O. mossambicus* qui va être transféré au cours des différentes générations et groupes de poissons dans les hybrides.

Le **schéma 1** du **document 21** représente le cas normal de croisement (utilisation de deux mâles différents).

Par comparaison entre ces deux schémas, l'estimation de la perte de variabilité occasionnée par l'utilisation d'un mâle pour produire deux familles est possible.

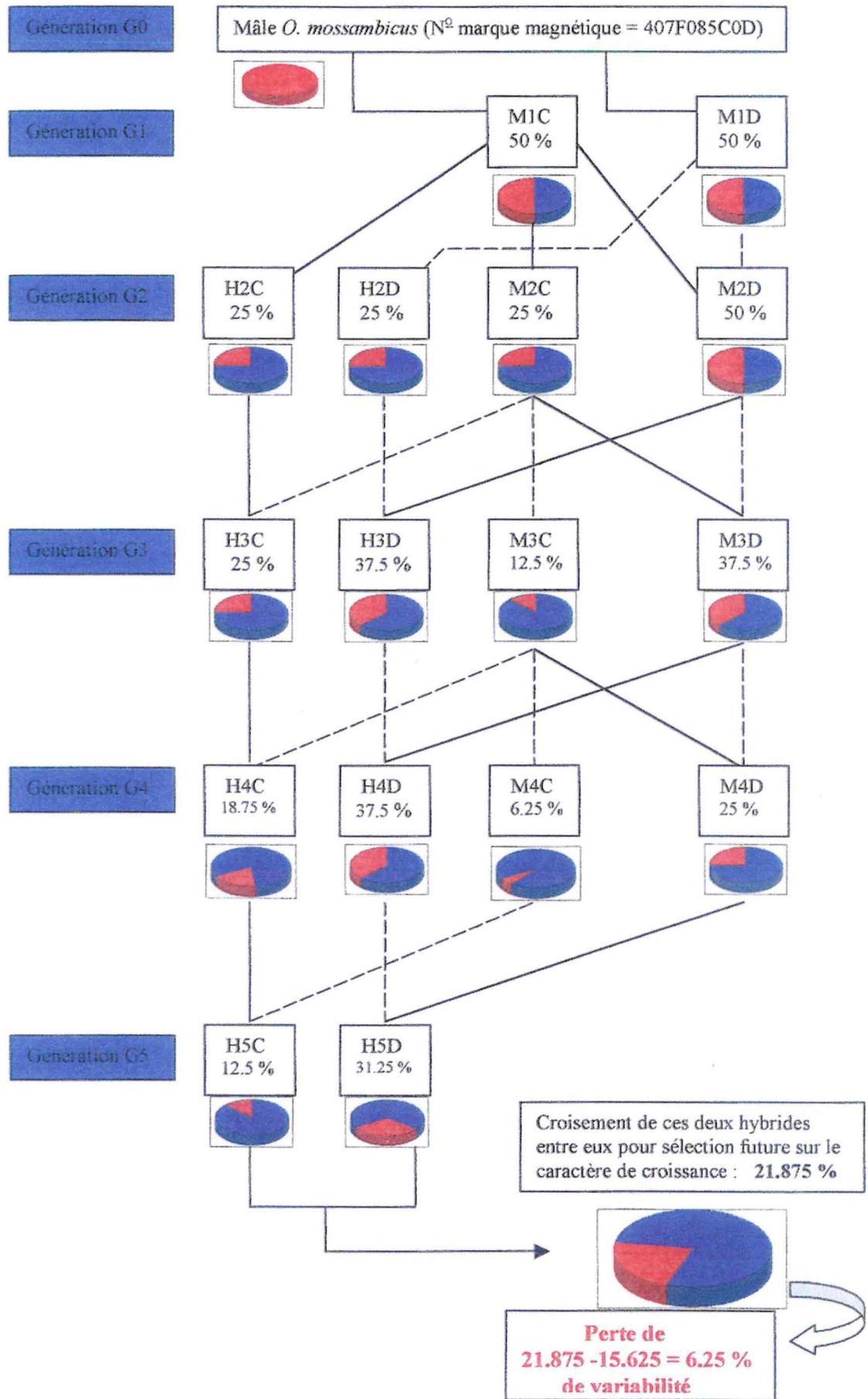
La partie du génome provenant de ce mâle est représentée en rouge sur les diagrammes circulaires. La partie du génome qui est différente est représentée en bleu.

Lorsqu'un mâle donne une descendance, son lien avec celle-ci est représenté par un trait plein, lorsque c'est une femelle le trait est interrompu.



Document 21

Schéma 1 : Répartition du génome d'un mâle *O. mossambicus* utilisé en génération G0 pour produire les individus des générations suivantes. (cas normal)



Document 21
 Schéma 2 : Répartition du génome d'un mâle *O. mossambicus* utilisé en génération G0 pour produire les individus des générations suivantes. (le même mâle a été utilisé dans deux croisements)

D'autres activités ont été réalisées afin d'améliorer l'organisation du projet.

⇒ **Travail de formation auprès de l'équipe pour utiliser cet outil informatique**

Ce travail ne serait pas complet sans une information auprès de l'équipe pour utiliser cet outil informatique. Chaque membre de l'équipe sait à présent utiliser la base de données et la réactualiser. Si le travail est effectué de manière régulière, une à deux minutes sont nécessaires pour sauver les nouvelles données tous les jours.

⇒ **Mise en ordre des fichiers**

Cette tâche s'est apparentée à un travail de secrétariat. Les fichiers du projet Molobicus sont désormais en ordre et toutes les données traitées (graphiques réalisés,...). Tous les documents ont été imprimés pour en faire un gros livre dans lequel la référence au fichier informatique de chaque document est écrite. Ceci permet d'imprimer un exemplaire du document plutôt que de le fabriquer une nouvelle fois ou de s'inquiéter de sa perte.

⇒ **Précautions à prendre dans le futur**

Les erreurs du passé au niveau des croisements sont irréparables. Néanmoins, la situation ne doit pas être aggravée par d'autres croisements consanguins.

Pour la production des purs *O. mossambicus* (reproductions naturelles plus faciles à obtenir) chaque famille devra être issue d'un mâle et d'une femelle différente. Il ne faut pas utiliser un même mâle pour faire 3-4 reproductions avec les 10 femelles de l'aquarium. Une seule reproduction est faite avec le mâle. On change de mâle et on remplace la femelle qui a produit des alevins par une autre.

Pour la production des hybrides de la G3, le sperme de 3 mâles doit féconder une ponte. Il ne faudra pas utiliser un mâle plusieurs fois. Si l'on a 5 pontes, il faut les féconder avec 15 mâles différents.

D'un point de vue organisation des fichiers informatiques, il serait souhaitable que l'ordre établi puisse persister tout au long du projet.

D'autre part, des réunions de concertation ont été organisées afin de parler de tous les problèmes rencontrés (qu'ils soient du domaine zootechnique ou de l'organisation).

3.3.2.2 Points débattus lors des réunions (meeting)

Le calendrier suivant présente de façon synthétique et globale les points qui ont été au centre du débat lors de ces réunions de concertation.

Meeting du 08/05/00 :

- Présentation à tous les membres de l'équipe.

Meeting du 26/05/00 :

- Réunion avec les délégués français du CIRAD.

Meeting du 19/06/00 :

- Achat des nouveaux incubateurs pour la production de masse.
- Présentation de la nouvelle généalogie pour le programme génétique.
- Problème pour produire H2F et H2C (projet génétique).

Meeting du 07/08/00 :

- Problème de la faible production de masse d'individus F1 MoNi.
- Réorganisation des hapas pour le projet génétique.
- Réorganisation pour la production de masse d'hybrides F1.

Meeting du 15/08/00 :

- Mise au point des préparatifs pour le test salinité.

Meeting du 16/08/00 :

- Décision d'arrêter le test salinité commencé le 15/08/00 pour des raisons de problème de protocole.

Meeting du 04/09/00 :

- Mise au point des préparatifs pour le test salinité.

Meeting du 13/09/00 :

- Choix des groupes de M2 à la suite de l'échantillonnage biométrique.
- Commentaires autour du graphique du test de salinité mené du 04/09/00 au 08/09/00.
- Décision de réinstaller le filtre pour les incubateurs.

Meeting du 11/10/00 :

- Séparation des comptes-rendus trimestriels pour la partie génétique de *Molobicus* et la production de masse.
- Problème du manque de documentation.
- Points inquiétants concernant la génétique.
- Rapport d'activité sur le test de salinité.

Ces réunions ont permis de clarifier beaucoup de problèmes et de faire avancer le projet de façon plus efficace.

3.3.2.3 Réorganisation des hapas

Les hybrides H2 et les purs *O. mossambicus* (M2) ont été réorganisés dans des hapas non concomitants. Ceci permet, outre de clarifier les choses, d'éviter tout risque de pollution génétique.

Si les hybrides de première génération peuvent se différencier à l'œil nu des espèces pures, il n'en est pas de même pour les hybrides de deuxième génération (très forte ressemblance avec les purs *O. mossambicus*, **figure 28 & 28 bis**).

La partie qui va suivre présente les résultats des tests salinité. L'un d'eux a été mené durant la période de stage et les résultats d'anciennes expérimentations sont également inclus.

3.4 Evaluation de la qualité des hybrides produits : le test salinité

A chaque nouvelle génération d'hybrides, un test de salinité est mené. En toute logique, la résistance en milieu salin doit augmenter à chaque génération si le projet est bien mené.

3.4.1 Description des tests de salinité

3.4.1.1 Buts de ces tests

Les buts de ces tests sont multiples, mais ils convergent tous vers le même intérêt : évaluer la qualité de résistance des hybrides produits au cours des différentes générations. Cela permet d'ajuster le protocole de croisement si nécessaire (cycles d'introgession supplémentaires ou non). Vu le contexte de développement dans lequel évolue ce projet, ces tests ont avant tout un intérêt pratique, plus que de recherche pure.

Les buts des premiers tests menés ont été de rechercher les paramètres idéaux pour mener les tests futurs (Pour quelle taille de poisson faut-il mener le test ?, à quelle salinité la lisibilité des résultats est-elle la meilleure ?, etc.).

Le but des autres tests est plus direct puisque la salinité et la taille à employer sont connus. La résistance des hybrides en milieu salin est comparée à la référence de l'espèce pure *O. mossambicus*.

Le matériel employé dans la réalisation des tests est toujours le même. Seule la méthodologie change en fonction des différents buts recherchés.

3.4.1.2 Matériel (figure 29)

Le matériel nécessaire est très simple :

- 15 aquariums d'une contenance individuelle de 20L.
- de l'eau de mer à 35 ‰.
- de l'eau douce à 0 ‰.
- un réfractomètre pour mesurer la salinité.
- des bulleurs pour l'aération.
- une règlette en bois afin d'ajuster précisément le niveau d'eau dans l'aquarium.
- poissons d'une taille de 5 à 15 grammes.

3.4.1.3 Protocole commun

Cette partie recense la phase du protocole qui reste commune à tous les types de test.

⇒ Organisation des aquariums

La distribution des aquariums est aléatoire de façon à réduire l'occurrence de tous les effets imprévisibles (lumière plus ou moins intense suivant la position, stress plus important par la vision de congénères sur les deux faces de l'aquarium, ...).

⇒ Phase précédant le test

Les poissons sont acclimatés à l'espace confiné (20L) de l'aquarium (eau douce) pendant une période de temps de une à deux semaines.

Suivant les expérimentations, 5 ou 10 poissons ont été placés par aquariums et de 3 à 4 réplicats ont été utilisés.

Pour le test mené le 4 septembre dernier, une bâche opaque avait été ajoutée autour des aquariums d'expérimentation. Ceci permet de protéger les poissons d'un quelconque stress causé par les allées et venues des expérimentateurs.

⇒ **Ajustement du milieu expérimental à une salinité définie**

Le niveau d'eau douce dans les aquariums est abaissé (eau siphonnée à l'extérieur) jusqu'à un niveau défini par avance suivant le type d'ajustement désiré (niveau calculé).

La réglette en bois permet de réaliser cette opération de manière similaire pour tous les aquariums. L'eau de mer est ensuite ajoutée jusqu'à une autre limite calculée par avance.

Le choc salin est donc direct et immédiat.

La même opération est réalisée pour les aquariums témoins. Le niveau est abaissé et de l'eau douce est ajoutée dans ces derniers à la place de l'eau salée pour les aquariums de test.

⇒ **Durée de l'expérimentation**

Pour tous les tests, les expérimentations ont été conduites durant 96 heures soit 4 jours.

⇒ **Contrôle des paramètres**

Toutes les 12 heures, la température, la salinité et l'oxygène dissous des aquariums sont contrôlés.

⇒ **Enregistrement des données**

Les mortalités des poissons ont été enregistrées toutes les 15 minutes pour les tests de salinité conduits dans le passé. Pour le test du 4 septembre 2000, les mortalités ont été vérifiées toutes les heures.

Un poisson est considéré comme mort lorsqu'il est complètement statique. Un simple mouvement des ouïes suffit à le classer parmi les individus vivants.

3.4.1.4 Conditions particulières

Trois différents types de tests salinité ont été effectués ; toujours en fonction du temps et sur plusieurs types de poissons (espèces pures, hybrides) :

- ① Taux de survie en fonction de l'âge à une salinité donnée.
- ② Taux de survie en fonction de différentes salinités.
- ③ Taux de survie à 26 ‰.

Les différentes conditions particulières relatives aux différents tests vont être décrites ci-dessous. Durant la période du stage, seul le test ③ a été effectué. Les tests ① et ② avaient été conduits auparavant.

- ① Taux de survie en fonction de l'âge à 35 ‰ de salinité.

Ce test a été conduit en novembre 1999.

Il a été réalisé avec 10 poissons par aquarium et 4 réplicats pour les groupes suivants:

- Espèce pure *O. niloticus*.
- Espèce pure *O. mossambicus*.

Les mortalités ont été relevées toutes les heures pendant 9 heures.

La salinité utilisée pour ce test a été de 35 ‰.

Les âges des poissons (en jours après éclosion = DAH) étaient de 2 DAH, 10, 32, 54, 76, 98 et 120 DAH.

② Taux de survie en fonction de différentes salinités.

Ce test a été conduit en décembre 1999.

Il a été réalisé avec 5 poissons par aquarium et 3 réplicats pour les groupes suivants:

- Espèce pure *O. niloticus*.
- Espèce pure *O. mossambicus*.
- Hybride H1 MoNi.
- Hybride H1 NiMo.

Les mortalités ont été relevées toutes les 15 minutes durant 96 heures.

Les salinités utilisées pour ce test ont été 20, 22, 24, 26, 28, 30 ‰.

Les poissons utilisés dans l'expérimentation faisaient 10g.

③ Taux de survie à 26 ‰.

Ce test a été conduit en septembre 2000.

Il a été réalisé avec 10 poissons par aquarium et 4 réplicats pour les groupes suivants :

- Espèce pure *O. mossambicus*.
- Hybride H2 MoNi x MoMo. [back-cross entre une femelle hybride H1 MoNi (croisement femelle *O. mossambicus* x mâle *O. niloticus*) et un mâle M1 *O. mossambicus* d'espèce pure]
- Hybride H2 NiMo x MoMo. [back-cross entre un mâle hybride H1 NiMo (croisement mâle *O. mossambicus* x femelle *O. niloticus*) et une femelle M1 *O. mossambicus* d'espèce pure]

Les mortalités ont été relevées toutes les heures durant 96 heures.

Les poissons utilisés dans l'expérimentation faisaient de 5 à 15 g.

La disposition des aquariums adoptée durant le test était aléatoire.

La salinité utilisée pour ce test a été de 26 ‰.

Pourquoi avoir choisi une telle salinité ?

Ce niveau de salinité correspond à l'écart de mortalité le plus grand entre les hybrides H1 et la référence des purs *O. mossambicus*. Cette explication est détaillée et éclaircie dans la partie interprétation des résultats (Cf. 3.4.3.2).

3.4.2 Résultats des expérimentations

3.4.2.1 Taux de survie en fonction de l'âge à 35 ‰ de salinité

Pour les deux espèces *O. mossambicus* et *O. niloticus*, le nombre de survivants est évalué en fonction du temps.

Les résultats suivants sont présentés à partir des données obtenues :

- Comparaison du taux de survie à l'intérieur d'une même espèce avec des âges différents (comparaison intraspécifique).
- Comparaison du taux de survie entre les deux espèces (*O. niloticus* et *O. mossambicus*) avec des âges différents (comparaison interspécifique).

Les résultats de l'expérimentation sont résumés dans les tableaux et les graphiques du document 22(1), 22(2), 22(3) à 22(6).

- Si l'on compare les résultats d'un point de vue intraspécifique (doc 22(1) & (2)) : L'évolution du taux de survie des individus de l'espèce *O. niloticus* après un transfert direct de l'eau douce à l'eau de mer est extrêmement similaire quel que soit l'âge.

Document 22 (1)

Surviving number of *O. mossambicus* out of a batch of ten individuals after direct transfer from fresh to sea water.

(Comparison of survivals at different ages)

Hours	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
-------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

O. mossambicus

Age: 2 days post hatching

mean	10	10	10	10	10	5,25	3,25	2	0,5	0
σ	0	0	0	0	0	2,8613808	1,63935963	0	0,5	0

Age: 10 days post hatching

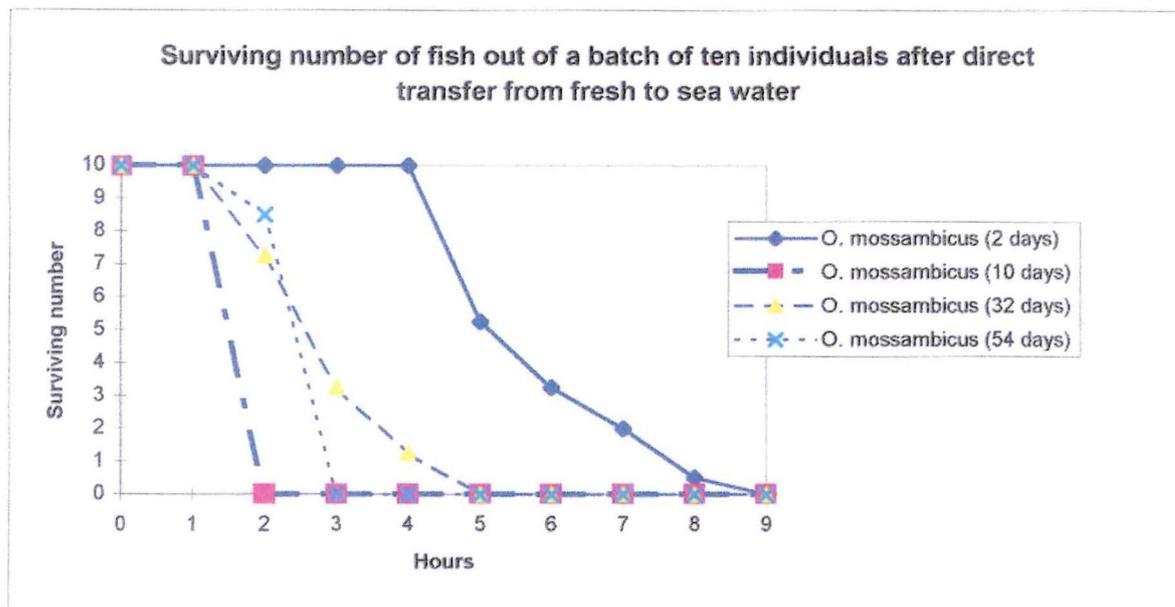
mean	10	10	0
σ	0	0	0

Age: 32 days post hatching

mean	10	10	7,25	3,25	1,25	0
σ	0	0	3,59397644	0,9574271	1,5	0

Age: 54 days post hatching

mean	10	10	8,5	0
σ	0	0	1	0



Document 22 (2)

Surviving number of *O. niloticus* out of a batch of ten individuals after direct transfer from fresh to sea water (Comparison of survivals at different ages)

Hours 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9

O. niloticus

Age: 2 days post hatching

mean	10	10	5,25	0,25	0
σ	0	0	3,862210075	0,5	0

Age: 10 days post hatching

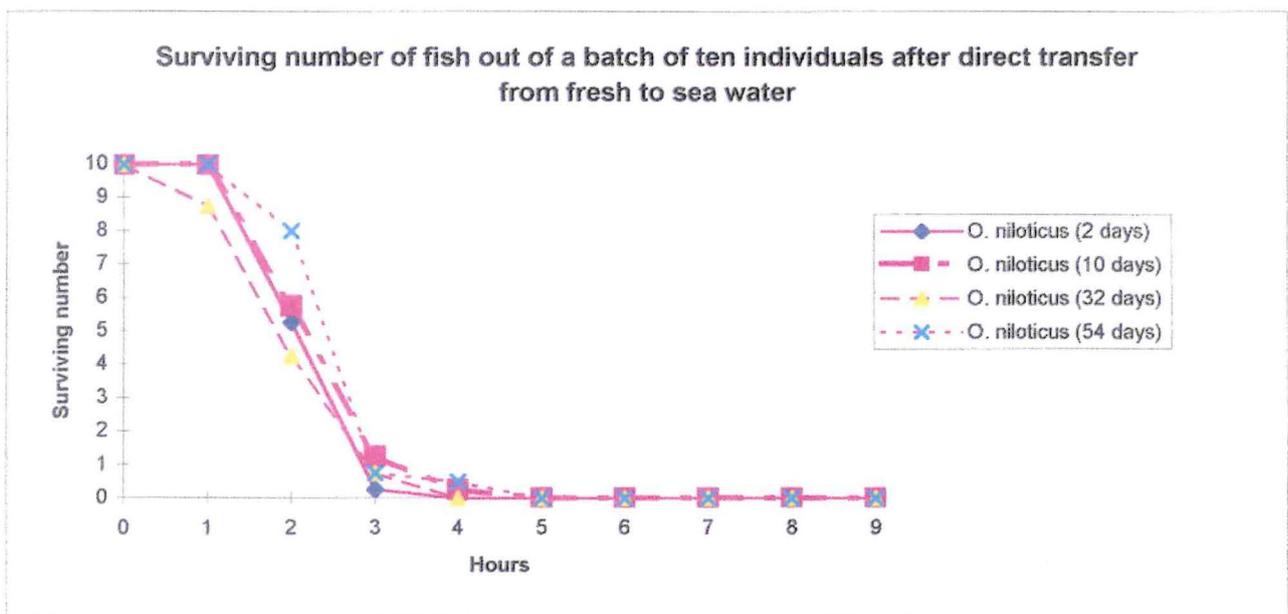
mean	10	10	5,75	1,25	0,25	0
σ	0	0	2,217355783	1,258305739	0,5	0

Age: 32 days post hatching

mean	10	8,75	4,25	0,75	0
σ	0	0,5	1,5	0,957427108	0

Age: 54 days post hatching

mean	10	10	8	0,75	0,5	0
σ	0	0	0,816496581	0,5	0,577350269	0



Document 22 (3)

Comparison of mean survivals of 2 days post hatching *O. mossambicus* and *O. niloticus* after transfer in 35 ppt sea water

Age: 2 days post hatching

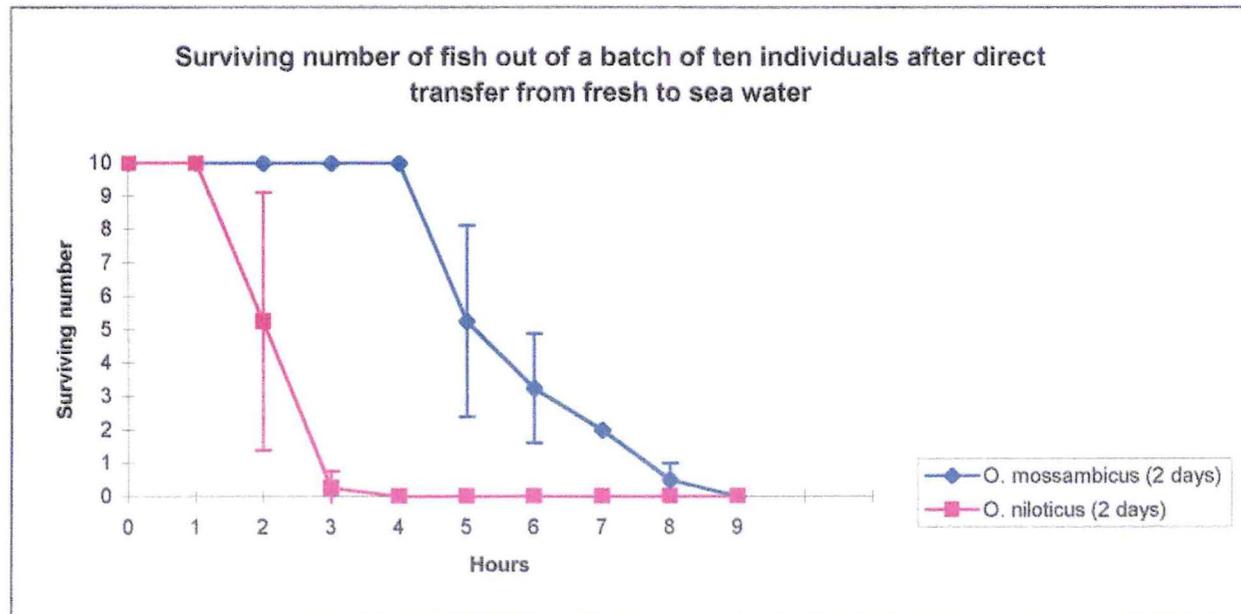
Hours	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
-------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

O. mossambicus

mean	10	10	10	10	10	5,25	3,25	2	0,5	0
σ	0	0	0	0	0	2,86138079	1,63935963	0	0,5	0

O. niloticus

mean	10	10	5,25	0,25	0
σ	0	0	3,862210075	0,5	0



Document 22 (4)

Comparison of mean survivals of 10 days post hatching *O. mossambicus* and *O. niloticus*
after transfer in 35 ppt sea water

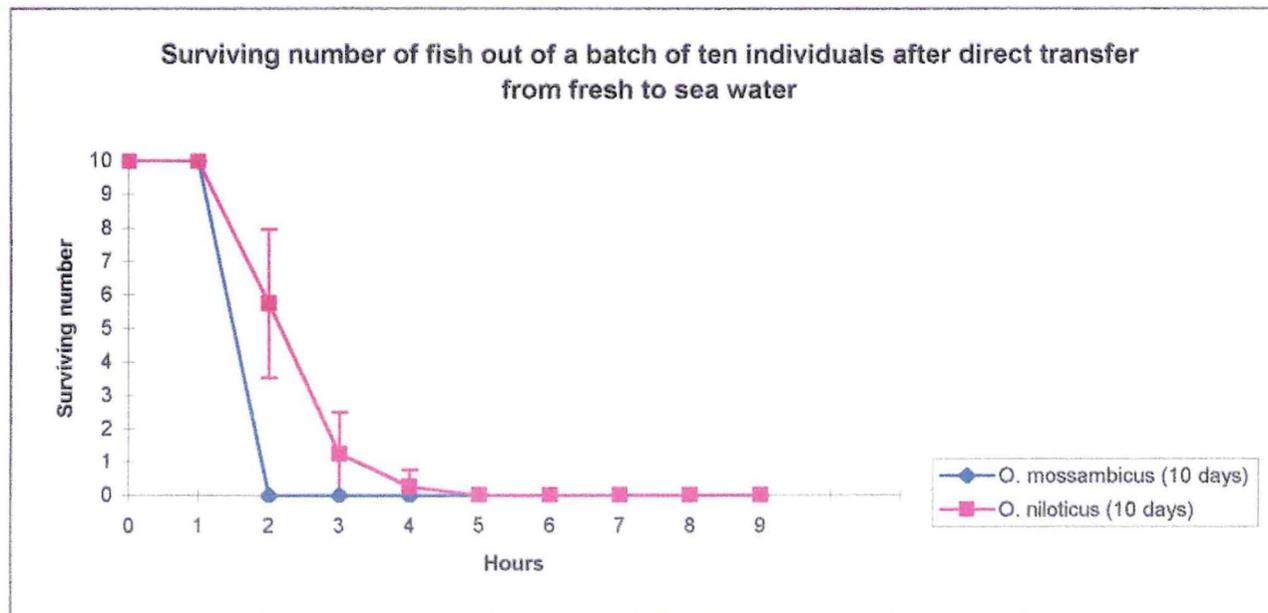
Hours	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
-------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

O. mossambicus

mean	10	10	0
σ	0	0	0

O. niloticus

mean	10	10	5,75	1,25	0,25	0
σ	0	0	2,217355783	1,258305739	0,5	0



Document 22 (5)

Comparison of mean survivals of 32 days post hatching *O. mossambicus* and *O. niloticus* after transfer in 35 ppt sea water

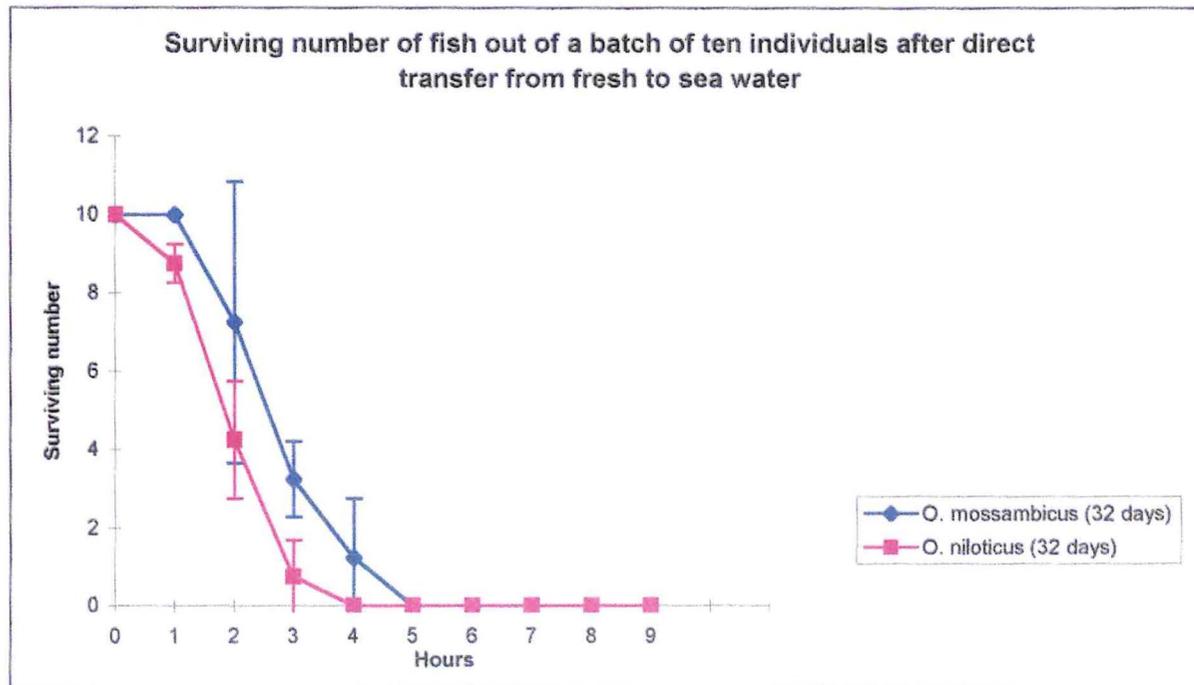
Hours	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
-------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

O. mossambicus

mean	10	10	7,25	3,25	1,25	0				
σ	0	0	3,593976442	0,957427108	1,5	0				

O. niloticus

mean	10	8,75	4,25	0,75	0					
σ	0	0,5	1,5	0,957427108	0					



Document 22 (6)

Comparison of mean survivals of 54 days post hatching *O. mossambicus* and *O. niloticus* after transfer in 35 ppt sea water

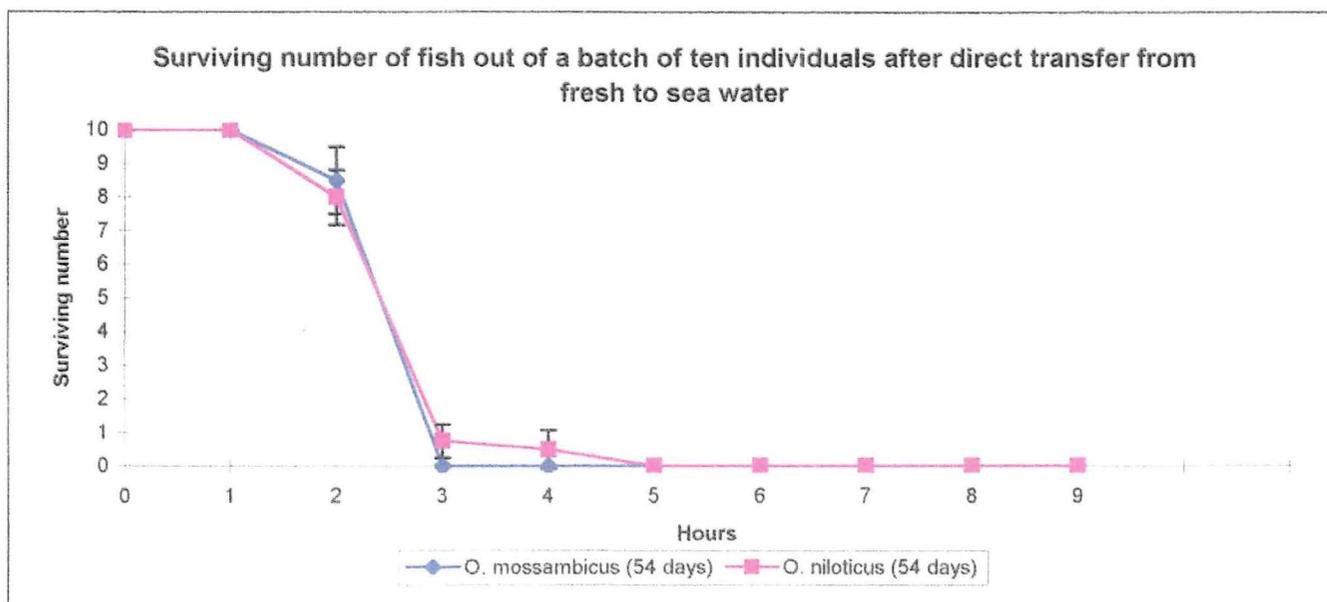
Hours	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
-------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

O. mossambicus

mean	10	10	8,5	0
σ	0	0	1	0

O. niloticus

mean	10	10	8	0,75	0,5	0
σ	0	0	0,81649658	0,5	0,577735027	0



Les résultats pour les *O. mossambicus* sont beaucoup plus hétérogènes. Les individus âgés de 2 jours présentent le taux de survie le plus élevé et les individus âgés de 54 jours, le taux de survie le moins élevé.

- Si l'on compare les résultats d'un point de vue interspécifique (**doc 22(3) à (6)**) : Le taux de survie des *O. mossambicus* par rapport aux *O. niloticus* est globalement supérieur. L'écart de mortalité entre les *O. mossambicus* et les *O. niloticus* reste constant quel que soit l'âge. Cet écart est moins important pour les individus âgés de 54 jours par rapport à ceux de 2 jours.

Les corrélations (**document 23**) entre le temps mis pour que les individus meurent tous et l'âge des poissons sont insignifiantes ($R^2 = 0,2356$ pour *O. mossambicus* et $R^2 = 0,1369$ pour les *O. niloticus*).

3.4.2.2 Taux de survie en fonction de différentes salinités

Pour tous les groupes de poissons, le nombre de survivants est évalué en fonction du temps. Le graphique du **document 24** présente les résultats des taux de survie pour les hybrides de première génération MoNi et NiMo, ainsi que les espèces pures d'*O. mossambicus* et *O. niloticus* en fonction des différentes salinités (20, 22, 24, 26, 28, 30 ‰) et après 96 heures d'expérimentation (Les données brutes sont en **annexe**).

Les premières mortalités significatives pour *O. mossambicus* sont enregistrées à une salinité de 26 ‰.

Les premières mortalités significatives pour *O. niloticus* sont enregistrées à une salinité de 20 ‰.

Les premières mortalités significatives pour les hybrides H1 sont enregistrées à une salinité de 24 ‰.

Les *O. niloticus* sont tous morts à 24 ‰ après les 96 heures d'expérimentation.

Les hybrides MoNi sont tous morts à 26 ‰ après les 96 heures d'expérimentation.

Les hybrides NiMo sont tous morts à 28 ‰ après les 96 heures d'expérimentation.

Pour les *O. mossambicus*, la mortalité n'est pas totale après 96 heures d'expérimentation même pour une salinité de 30 ‰.

L'écart de mortalité entre les hybrides de première génération (MoNi et NiMo) et les *O. mossambicus* est le plus important pour une salinité de 26 ‰.

3.4.2.3 Taux de survie à 26 ‰

Le pourcentage de survivants est évalué en fonction du temps (Les données brutes sont en **annexe**).

Le graphique et les tableaux du **document 25** présente les taux de mortalité pour les purs *O. mossambicus* et les deux types d'hybrides H2. (croisement MoNi x MoMo et NiMo x MoMo) Ce graphique présente la superposition des résultats du test ② (lignes continues) et du test ③ (lignes discontinues).

Cette courbe permet d'avoir une vision synthétique de la capacité des hybrides de première et de deuxième génération à survivre dans un milieu avec une salinité de 26 ‰.

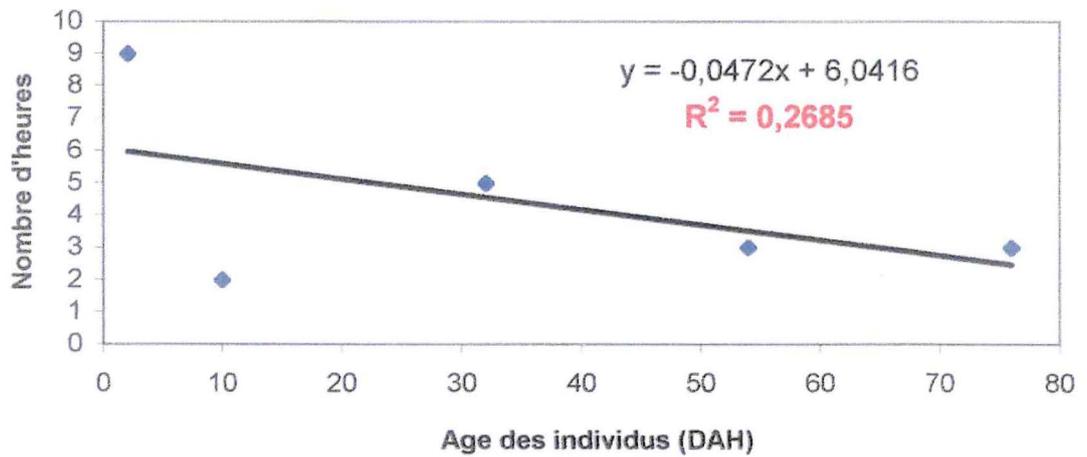
Le taux de survie des purs *O. mossambicus* après 96 heures d'expérimentation à 26 ‰ est de 65 %. Les hybrides de première génération (résultats du test ②) comme les MoNi sont tous morts après 96 heures d'expérimentation.

Pour les hybrides NiMo, le taux de survie est de 13,3 % après 96 heures d'expérimentation (résultats du test ②).

Document 23

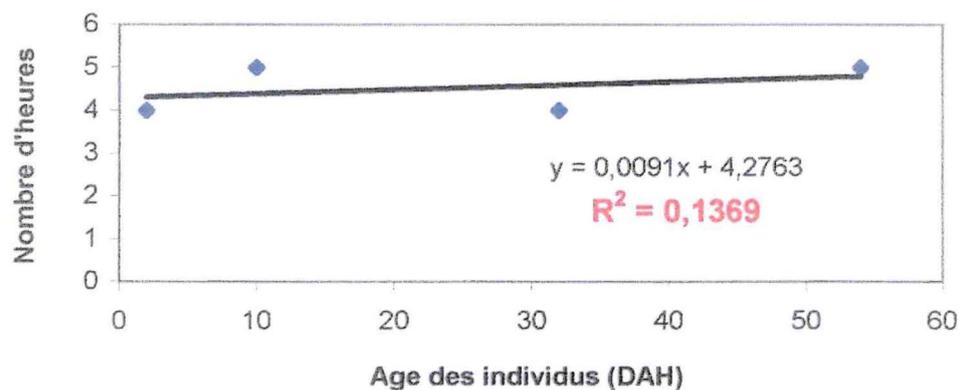
<i>O. mossambicus</i>	
Age (DAH)	100% mortalité (heures)
2	9
10	2
32	5
54	3
76	3

Corrélation entre le temps pour obtenir 100% de mortalité lors d'un transfert direct de l'eau douce à l'eau de mer et l'âge des individus chez *O. mossambicus*



<i>O. niloticus</i>	
Age (DAH)	100% mortalité (heures)
2	4
10	5
32	4
54	5

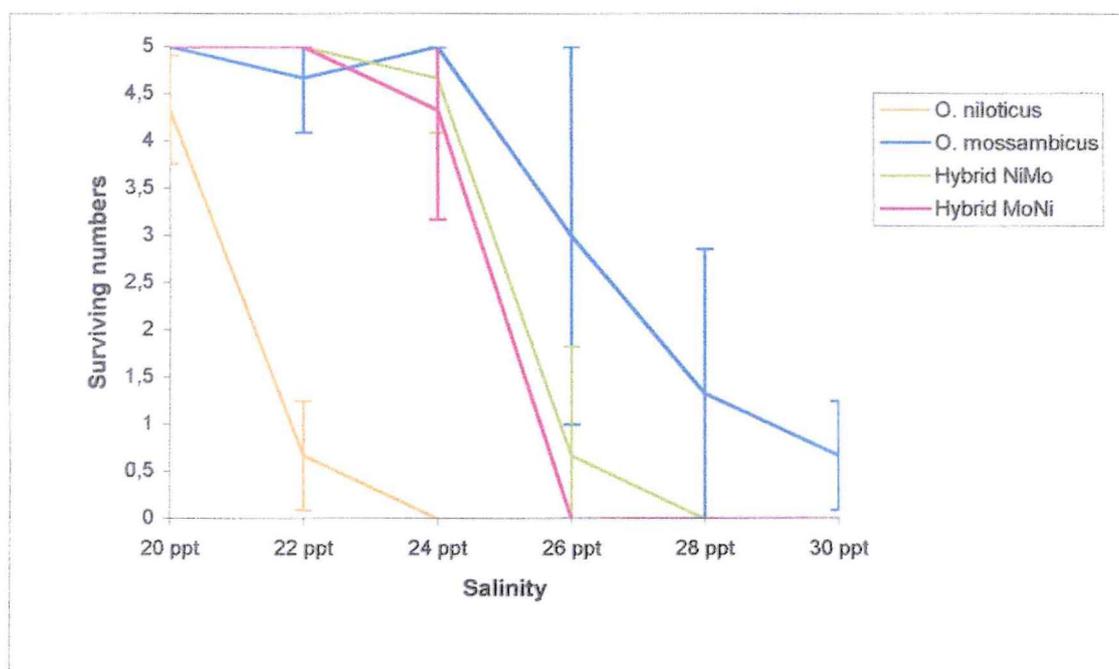
Corrélation entre le temps pour obtenir 100% de mortalité lors d'un transfert direct de l'eau douce à l'eau de mer et l'âge des individus chez *O. niloticus*



Document 24

Surviving number of fish out of a batch of five individuals from freshwater to various salinities after 96 hours (mean datas)

	20 ppt	22 ppt	24 ppt	26 ppt	28 ppt	30 ppt
<i>O. niloticus</i>	4,33	0,67	0	0	0	0
<i>O. mossambicus</i>	5	4,67	5	3	1,33	0,67
Hybrid NiMo	5	5	4,67	0,67	0	0
Hybrid MoNi	5	5	4,33	0	0	0



Comparison of mean survivals number of *O. mossambicus* and the hybrids H2 (MoNi x MoMo & NiMo x MoMo) when transferred from fresh water to 26 ppt water.

	Hours	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<i>O. mossambicus</i>	mean	10	10	10	10	10	10	9,5	9,5	9,25	9	9	9
	σ	0	0	0	0	0	0	1	1	1,5	2	2	2
NiMo x MoMo	mean	10	10	10	10	10	9,25	9	8,75	8,25	8	8	7,25
	σ	0	0	0	0	0	0,5	0,816497	1,258306	2,217356	2,708013	2,708013	2,872281
MoNi x MoMo	mean	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9,5	8,75	8,5
	σ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,57735	0,5	0,57735

	Hours	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
<i>O. mossambicus</i>	mean	9	9	8,75	8,75	8,75	8,25	8,25	7,75	7,75	7,75	7,75	7,5
	σ	2	2	2,5	2,5	2,5	3,5	3,5	3,201562	3,201562	3,201562	3,201562	3,696846
NiMo x MoMo	mean	7,25	7	6,75	6,75	6,25	6,25	6,25	6,25	6,25	5,75	5,75	5,75
	σ	2,872281	2,828427	2,629956	2,629956	2,217356	2,217356	2,217356	2,217356	2,217356	2,5	2,5	2,5
MoNi x MoMo	mean	8,25	8,25	8,5	8,5	8,5	8,5	7,75	7	7	6,75	6,5	6,5
	σ	0,5	0,5	0,57735	0,57735	0,57735	0,57735	0,5	1,414214	1,414214	1,5	1,290994	1,290994

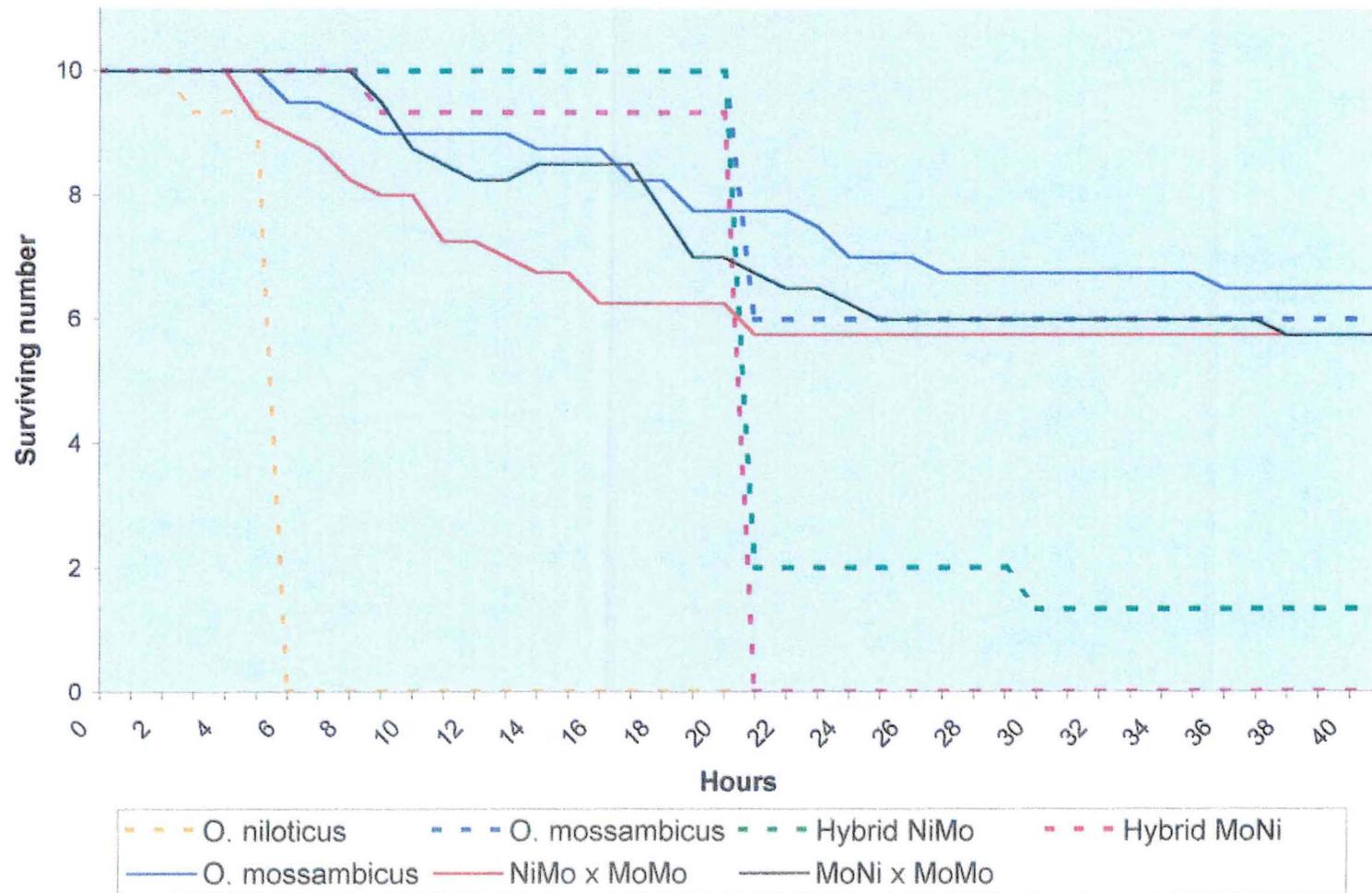
	Hours	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
<i>O. mossambicus</i>	mean	7	7	7	6,75	6,75	6,75	6,75	6,75	6,75	6,75	6,75	6,75
	σ	3,464102	3,464102	3,464102	3,201562	3,201562	3,201562	3,201562	3,201562	3,201562	3,201562	3,201562	3,201562
NiMo x MoMo	mean	5,75	5,75	5,75	5,75	5,75	5,75	5,75	5,75	5,75	5,75	5,75	5,75
	σ	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
MoNi x MoMo	mean	6,25	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	σ	1,5	1,154701	1,154701	1,154701	1,154701	1,154701	1,154701	1,154701	1,154701	1,154701	1,154701	1,154701

	Hours	36	37	38	39	40	41
<i>O. mossambicus</i>	mean	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
	σ	3	3	3	3	3	3
NiMo x MoMo	mean	5,75	5,75	5,75	5,75	5,75	5,75
	σ	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
MoNi x MoMo	mean	6	6	5,75	5,75	5,75	5,75
	σ	1,154701	1,154701	0,957427	0,957427	0,957427	0,957427

Document 25

Document 25

Comparison of mean survivals number of *O. mossambicus* and the hybrids H2 (MoNi x MoMo & NiMo x MoMo) when transferred from fresh water to 26 ppt water. (Results from previous experiment with hybrids H1 and pure *O. mossambicus* are shown in break lines)



Le pourcentage de survie des hybrides de seconde génération MoNi x MoMo est de 57,5 % après 96 heures d'expérimentation.

Le pourcentage de survie des hybrides de seconde génération NiMo x MoMo est de 57,5 % après 96 heures d'expérimentation.

Les purs *O. niloticus* sont tous morts après 96 heures (résultats du test ②).

3.4.3 Interprétation des résultats

3.4.3.1 Taux de survie en fonction de l'âge à 35 ‰

Dans l'optique de mener un test pour évaluer les capacités de résistance des poissons en milieu salin, cette première expérimentation a permis de définir que :

- La mortalité après transfert de l'eau douce à l'eau salée des individus de l'espèce *O. niloticus* est identique quel que soit leur âge.
- Pour *O. mossambicus*, l'âge des individus n'est pas corrélé avec une quelconque amélioration ou régression de la résistance à la salinité.

L'âge (et donc indirectement la taille) des poissons importe peu pour évaluer la résistance des *O. niloticus* ou des *O. mossambicus* en milieu salin (corrélations proches de 0, pour mémoire). Ainsi, pour mener un test avec ces deux espèces, des individus de n'importe quel âge peuvent être choisis sans que les résultats de l'expérimentation soient influencés par ce paramètre.

3.4.3.2 Taux de survie en fonction de différentes salinités

Les points suivants sont les plus importants à retenir :

- Les *O. mossambicus* sont les plus résistants en milieu salin alors que les *O. niloticus* le sont le moins. Ceci n'est pas une grande découverte, mais confirme la pertinence des résultats.
- Les hybrides de première génération MoNi ou NiMo possèdent des performances de résistance intermédiaires à celles de leurs parents, ce qui vient également confirmer la règle qui s'applique à la plupart des hybrides.
- L'observation des courbes permet d'affirmer que pour une salinité de 26 ‰ la lisibilité des résultats est la meilleure. Cette salinité sera donc employée pour les tests suivants, puisque les prochains hybrides (obtenus par back-cross) sont censés avoir des performances supérieures aux hybrides de la génération précédente.

3.4.3.3 Taux de survie à 26 ‰

La résistance des hybrides de deuxième génération (MoNi x MoMo et NiMo x MoMo) est supérieure à celle des hybrides de première génération. Ces résultats sont encourageants puisque le but du projet est d'obtenir (dans la première phase du protocole) des individus ayant des caractéristiques de tolérance à la salinité les plus proches de *O. mossambicus*.

3.4.4 Discussion

3.4.4.1 Pertinence des tests menés

L'enchaînement des différents tests est cohérent puisqu'il a permis :

- dans un premier temps de déterminer que la taille importait peu pour mener à bien les tests salinité,
- dans un deuxième temps d'évaluer une salinité de référence à employer pour les prochains tests,
- dans un troisième temps d'évaluer les capacités de résistance à la salinité des premiers individus issus de back-cross.

3.4.4.2 Précision des résultats

Deux remarques sont importantes à noter :

- Les résultats concernant les taux de mortalité observés chez les tilapias à 2 jours après éclosion (test ①) sont à considérer avec prudence. En effet, il est très difficile d'affirmer avec certitude qu'un poisson de cet âge est mort, sachant qu'il faut l'observer sous loupe binoculaire.
- Les résultats du test ② montrent des mortalités brusques alors que les résultats du test ③ démontrent que celles-ci ont lieu plus progressivement. Les disparités entre ces deux résultats peuvent être expliquées par des conditions expérimentales différentes (stress des poissons différent, facteurs externes divers...).

3.4.5 Conclusion sur ces tests

Ces tests permettent de démontrer que l'hybridation, suivie de back-cross successifs (avec une espèce ayant de bons caractères de résistance en milieu salin), permet d'augmenter la capacité de résistance des poissons en milieu salin.



Photo 29 : Test salinité mené en septembre 2000. Les aquariums ont été disposés de manière aléatoire. Toutes les heures, les mortalités des poissons ont été enregistrées et ceci pendant une période de 96 heures.



Photo 30 : L'entrée du laboratoire du projet Molobious. L'intégration à l'équipe de travail est fondamentale dans le processus de coopération. Sur le panneau les organismes associés au projet Molobious sont cités :

4. Qu'est-ce que la coopération aux Philippines ? (dans le cadre du projet Molobicus)

What is the cooperation in the Philippines ? Ano ang mga cooperation ng Pilipinas ?

Cette partie du rapport présente une partie des activités et des agissements qui permettent à la coopération France-Philippines d'être efficace dans le cadre restreint de ce programme d'hybridation de tilapias.

4.1 Savoir s'inclure au sein d'une équipe et d'un pays (figure 30)

La coopération démarre toujours par une phase d'adaptation aux conditions locales.

⇒ Etre adaptable et faire preuve de sociabilité

Qu'il s'agisse des Philippines ou d'autres pays, le fait d'être adaptable permet une immersion beaucoup plus facile au sein d'une culture différente de la nôtre.

Le sens de la sociabilité est lui aussi très important. Il permet d'instaurer un climat de confiance propice à la recherche de collaborateurs locaux.

Par exemple, les attitudes suivantes permettent de mieux se faire accepter :

- Apprentissage de quelques expressions du dialecte local (tagalog)
- Sens certain pour la plaisanterie, bonne humeur naturelle.
- Consommation de nourriture locale (très bonne au passage).
- Curiosité naturelle sur le pays et ses coutumes.

Tous ces petits éléments permettent de rassurer les Philippines sur l'engagement personnel des collaborateurs français.

⇒ Respecter les habitudes des gens

La coopération ne peut se faire que dans un respect total des habitudes des gens même si celles-ci peuvent être aux antipodes des nôtres. Aux Philippines, par exemple, la foi religieuse est très profonde. Aller à son encontre, c'est une façon d'affirmer nos différences auprès des Philippines, ce qui n'est pas le plus approprié pour acquérir la confiance des gens au départ.

4.2 Rester en arrière plan dans un projet

⇒ Un rôle de consultation

Le travail de coopération est avant tout consultatif. En aucune manière, il ne faut imposer des solutions en prétendant posséder le savoir nécessaire. L'attitude qui jette le plus de discrédit dans un système de coopération est de vouloir à tout prix appliquer ses idées sans consulter l'équipe locale. Par exemple, mettre en place une expérience scientifique dans un but de recherche pure n'est pas une bonne solution dans un contexte de développement comme le projet Molobicus.

⇒ **Faire des propositions dans le respect de la hiérarchie**

Le contexte de travail au sein d'une équipe philippine est très hiérarchisé. Toutes les attitudes personnelles (conservation de données, innovation technique sans consultation préalable, ...) sont donc à bannir.

L'équipe de travail est dévouée au patron, l'oublier, c'est refuser de comprendre le mode de fonctionnement d'une équipe aux Philippines.

⇒ **Réaliser son travail au nom de l'équipe**

Tous les travaux, même ceux effectués de façon complètement indépendante, doivent être signés au nom de l'équipe de travail. Le but de la coopération n'est pas de rechercher une gloire personnelle, rappelons-le.

⇒ **Savoir accepter des propositions**

Parfois, l'acceptation de solutions peu adaptées à la bonne réalisation du projet est obligatoire. Pour exemple, de l'alcool Ginebra San Miguel (alcool de consommation locale) a été utilisé pour diluer l'hormone (testostérone) employée pour changer le sexe des tilapias. Vu l'efficacité d'un tel produit, les membres de l'équipe chargés de ce projet sont vite revenus à l'utilisation de l'alcool à 90°.

4.3 Appropriation du projet par les représentants philippins

⇒ **Instaurer un climat de confiance**

La confiance des gens qui s'acquiert avec de la patience et du doigté, permet d'instaurer un travail de coopération beaucoup plus efficace.

En ce sens, démontrer la cohésion de l'équipe française chargée de la coopération est très important. La communication par e-mail avec les scientifiques basés en France y participe pour beaucoup. Elle permet aux Philippins d'avoir le sentiment d'appartenir à une équipe internationale, ce qui renforce leur engagement dans un projet.

Toutes les communications par e-mail en français ont donc été traduites en anglais (Cf. documents en annexe).

⇒ **Réussir à montrer l'intérêt du projet malgré la contrainte de temps**

Dans tout système de coopération, la notion de durabilité est très importante. Pour un projet tel que Molobicus, la durée prévue est de 6 ans. La viabilité d'un tel projet ne peut se faire que si l'équipe locale est persuadée de l'intérêt profond de leurs activités. Ainsi, toute absence de motivation au plus petit échelon de l'échelle hiérarchique peut être dommageable pour la réussite du projet.

⇒ **Contexte des Philippines**

Dans ce dernier domaine, le contexte des Philippines est exceptionnel. L'appropriation du programme Molobicus par les Philippins est totale. Si de nombreux projets piscicoles menés en Afrique se sont terminés en queue de poisson, il n'en est pas de même aux Philippines.

La tradition ancestrale d'élevage piscicole de l'archipel philippin y est pour beaucoup dans le succès de ce projet.

Une dernière phrase pour clôturer ces quelques remarques : il faut savoir que c'est aux Philippines qu'a été mené avec succès un des plus gros programmes de sélection génétique sur le tilapia (souche GIFT). L'issue d'un programme tel que Molobicus est donc prometteuse.

5. Discussion : Appréciation synthétique sur le projet, perspectives

Le projet Molobicus par la complexité de son protocole, la mise en place de systèmes d'organisation et de gestion précis des fratries de tilapias, requiert une attention de tous les moments. Le caractère austère de ce programme oblige à être extrêmement vigilant tant d'un point de vue zootechnique que génétique.

A ce titre, les points suivants devront être maintenus voire consolidés :

- Sauvegarde des informations liées aux reproductions et aux marques magnétiques dans la base de données sur ordinateur (rappelons qu'un travail régulier et journalier ne demande que 2 à 3 minutes de travail même pour quelqu'un possédant peu de compétences en informatique).
- Suivi des performances de croissance pour les prochaines générations d'hybrides. Des échantillonnages biométriques réguliers devront être menés, les pratiques de nourrissage contrôlées et les densités de stockage surveillées.
- Attention particulière sur la gestion des reproductions pour conserver un taux de variabilité suffisant dans la population d'hybrides. Une variabilité insuffisante au sein d'une population ne permet pas d'envisager des protocoles de sélection efficaces, sans parler du fait que l'homozygotie fragilise énormément une population. L'utilisation de la généalogie interactive établie pourra ainsi permettre de vérifier si des croisements entre individus ne sont pas consanguins.

Si tous ces points sont bien respectés, l'avenir du projet est prometteur.

6. Conclusion

Nous avons donc vu que ce projet d'hybridation et de sélection de tilapias a nécessité la mise en place d'activités visant à :

- Renforcer la zootechnie par un contrôle plus strict des aspects de reproduction, de nourrissage et de stockage.
- Renforcer l'organisation par une informatisation du système, une mise en ordre des informations et un travail de formation auprès des membres de l'équipe.

Ce projet démarré deux ans auparavant commence à prendre un essor important.

La maintenance d'un programme génétique comme celui-ci demande beaucoup d'organisation et de soin. Le contexte des Philippines est à ce titre exceptionnel et l'appropriation du projet par les autorités locales permet d'être rassuré sur son développement futur.

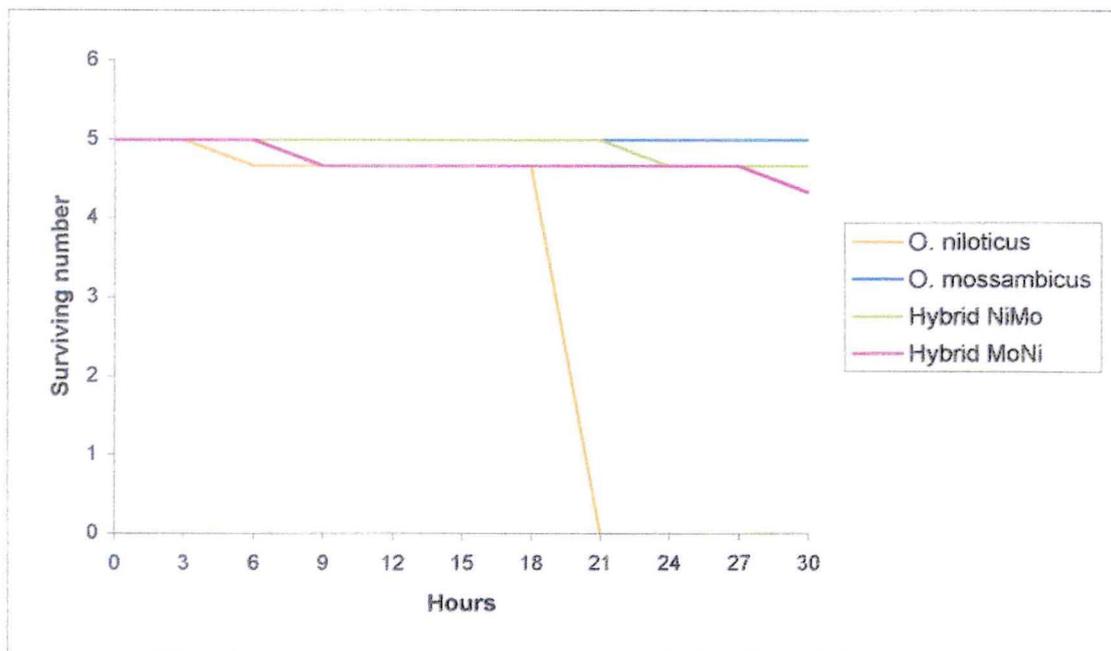
Ce projet, mené à terme, permettra de créer une nouvelle souche de tilapias ayant des caractéristiques zootechniques intéressants. Ces caractères génétiques seront transmissibles au fur et à mesure des générations de poissons, d'où une indépendance importante des pisciculteurs par rapport aux écloseries. Dans le contexte philippin, le potentiel de cette souche de tilapias est important.

D'un point de vue plus général, la coopération France-Philippines lancée dans le cadre de ce programme sur le tilapia peut servir de tremplin pour d'autres projets de coopération avec des pays d'Asie. La Chine, avec son rang de premier producteur mondial de tilapias, et sa contribution énorme dans le domaine des productions aquacoles est un bon exemple.

Annexe 1

Comparison of mean survivals of *O. mossambicus*, *O. niloticus* and their two hybrids when transferred from fresh water to 24 ppt water

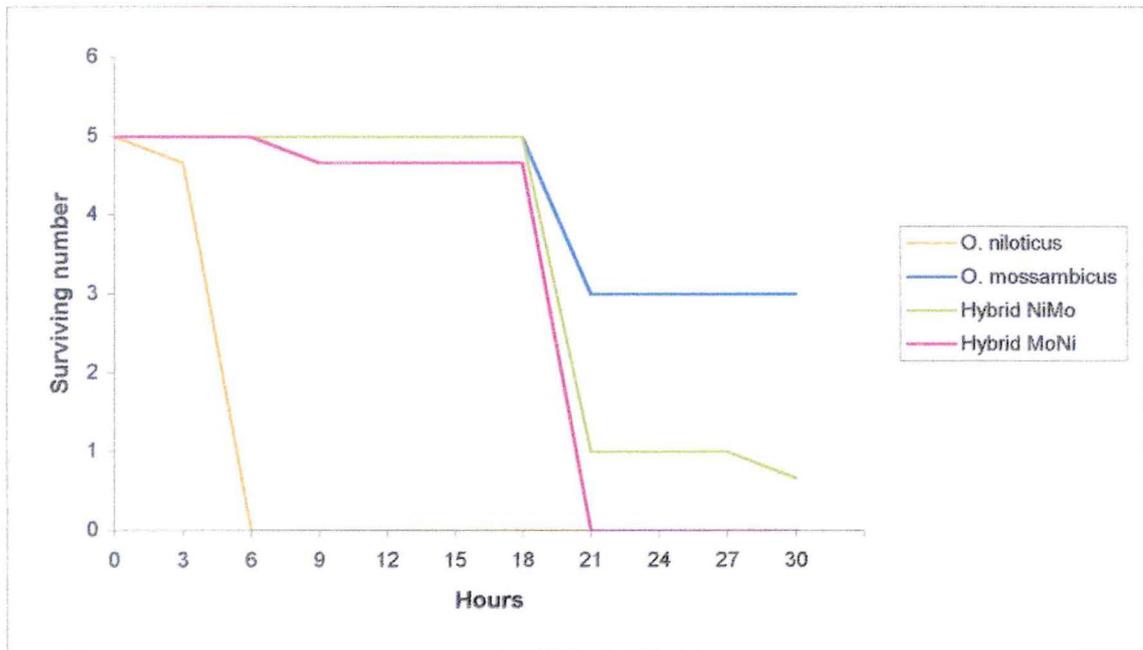
Hours		0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
<i>O. niloticus</i>	mean	5,00	5,00	4,67	4,67	4,67	4,67	4,67	0,00	0,00	0,00	0,00
	σ	0,00	0,00	0,58	0,58	0,58	0,58	0,58	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>O. mossambicus</i>	mean	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
	σ	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Hybrid NiMo	mean	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	4,67	4,67	4,67
	σ	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,58	0,58	0,58
Hybrid MoNi	mean	5,00	5,00	5,00	4,67	4,67	4,67	4,67	4,67	4,67	4,67	4,33
	σ	0,00	0,00	0,00	0,58	0,58	0,58	0,58	0,58	0,58	0,58	1,15



Annexe 2

Comparison of mean survivals of *O. mossambicus*, *O. niloticus* and their two hybrids when transferred from fresh water to 26 ppt water

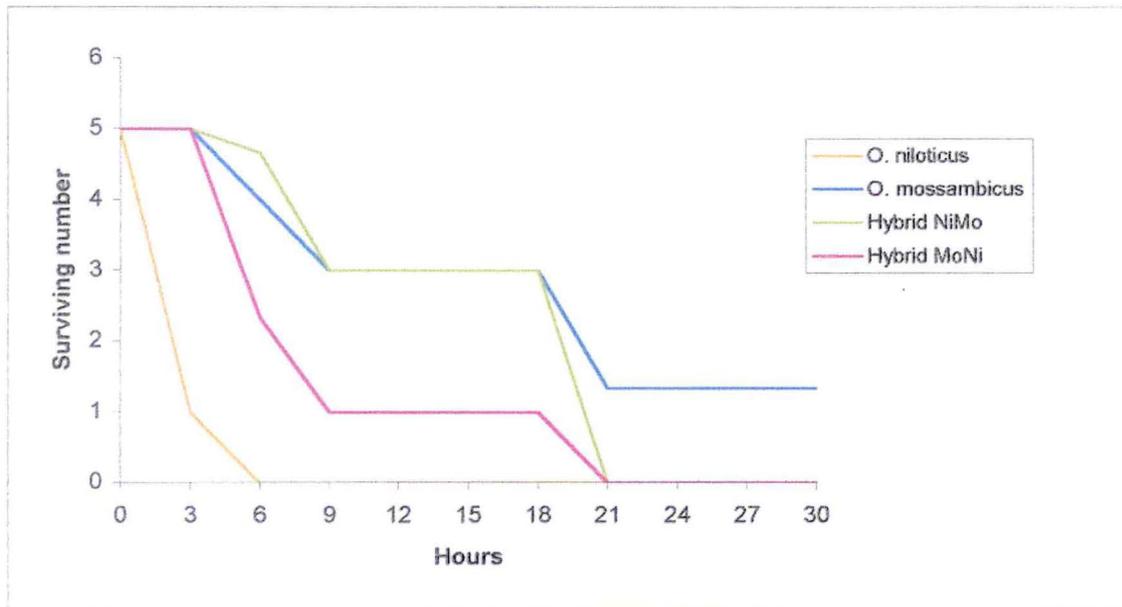
Hours		0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
<i>O. niloticus</i>	mean	5	4,67	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	σ	0	0,58	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>O. mossambicus</i>	mean	5	5	5	5	5	5	5	3	3	3	3
	σ	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2
Hybrid NiMo	mean	5	5	5	5	5	5	5	1	1	1	0,67
	σ	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1,15
Hybrid MoNi	mean	5	5	5	4,67	4,67	4,67	4,67	0	0	0	0
	σ	0	0	0	0,58	0,58	0,58	0,58	0	0	0	0



Annexe 3

Comparison of mean survivals of *O. mossambicus*, *O. niloticus* and their two hybrids when transferred from fresh water to 28 ppt water

Hours		0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
<i>O. niloticus</i>	mean	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	σ	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>O. mossambicus</i>	mean	5	5	4	3	3	3	3	1,33	1,33	1,33	1,33
	σ	0	0	0	0	0	0	0	1,53	1,53	1,53	1,53
Hybrid NiMo	mean	5	5	4,67	3	3	3	3	0	0	0	0
	σ	0	0	0,58	1,73	1,73	1,73	1,73	0	0	0	0
Hybrid MoNi	mean	5	5	2,33	1	1	1	1	0	0	0	0
	σ	0	0	2,08	1	1	1	1	0	0	0	0



Comparison of mean survival number of *O. mossambicus* and the hybrids H2 (MoNi x MoMo & NiMo x MoMo) transferred from fresh water to 26 ppt water.

	Hours	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<i>O. mossambicus</i>	mean	10	10	10	10	10	10	9,5	9,5	9,25	9	9	9
	σ	0	0	0	0	0	0	1	1	1,5	2	2	2
Mo x MoMo	mean	10	10	10	10	10	9,25	9	8,75	8,25	8	8	7,25
	σ	0	0	0	0	0	0,5	0,816497	1,258306	2,217356	2,708013	2,708013	2,872281
Ni x MoMo	mean	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9,5	8,75	8,5
	σ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,57735	0,5	0,57735

	Hours	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
<i>O. mossambicus</i>	mean	9	9	8,75	8,75	8,75	8,25	8,25	7,75	7,75	7,75	7,75	7,5
	σ	2	2	2,5	2,5	2,5	3,5	3,5	3,201562	3,201562	3,201562	3,201562	3,696846
Mo x MoMo	mean	7,25	7	6,75	6,75	6,25	6,25	6,25	6,25	6,25	5,75	5,75	5,75
	σ	2,872281	2,828427	2,629956	2,629956	2,217356	2,217356	2,217356	2,217356	2,217356	2,5	2,5	2,5
Ni x MoMo	mean	8,25	8,25	8,5	8,5	8,5	8,5	7,75	7	7	6,75	6,5	6,5
	σ	0,5	0,5	0,57735	0,57735	0,57735	0,57735	0,5	1,414214	1,414214	1,5	1,290994	1,290994

	Hours	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
<i>O. mossambicus</i>	mean	7	7	7	6,75	6,75	6,75	6,75	6,75	6,75	6,75	6,75	6,75
	σ	3,464102	3,464102	3,464102	3,201562	3,201562	3,201562	3,201562	3,201562	3,201562	3,201562	3,201562	3,201562
Mo x MoMo	mean	5,75	5,75	5,75	5,75	5,75	5,75	5,75	5,75	5,75	5,75	5,75	5,75
	σ	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Ni x MoMo	mean	6,25	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	σ	1,5	1,154701	1,154701	1,154701	1,154701	1,154701	1,154701	1,154701	1,154701	1,154701	1,154701	1,154701

	Hours	36	37	38	39	40	41
<i>O. mossambicus</i>	mean	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
	σ	3	3	3	3	3	3
Mo x MoMo	mean	5,75	5,75	5,75	5,75	5,75	5,75
	σ	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Ni x MoMo	mean	6	6	5,75	5,75	5,75	5,75
	σ	1,154701	1,154701	0,957427	0,957427	0,957427	0,957427

Annexe 4

Annexe 5

Le problème des familles non produites

Nous rencontrons actuellement quelques problèmes pour produire les familles H2C et H2F résultats du back-cross entre un géniteur hybride F1 et un géniteur *O. mossambicus* de souche pure.

Deux familles sont manquantes pour le moment (Cf. Généalogie).

Dans le cas des H2C, beaucoup de femelles rencontrent des difficultés pour produire des œufs de bonne qualité et le nombre faible de géniteurs est problématique.

Dernièrement, après bien des tentatives, 114 alevins H2C ont été produits le 28/05/00 (Une autre famille H2C a été produite la semaine dernière).

Vu leur jeune âge, nous ne pouvons être sur du devenir de ces alevins, et pour le moment, la production d'une seule famille est insuffisante.

Une solution peut s'offrir à nous : d'autres hybrides MoNi (MoNiE exactement) avaient été produits dans le passé. Ces individus sont en nombre suffisant et nous connaissons les parents de ces derniers (marques magnétiques et nageoires à disposition.).

Devons-nous dans ce cas :

- 1) Utiliser ces MoNiE pour produire les H2C ?
- 2) Continuer les reproductions avec les MoNi3 ?

Un autre problème se pose avec les H2F. Actuellement, nous ne disposons plus que de 5 femelles MoMo6 reproductrices et l'une d'elle est atteinte par les *Saprolegnia*. Il est impossible de recréer ces femelles MoMo6, car le père de ces individus est mort (Cf. Arbre). Nous avons à notre disposition d'autres reproductrices de souche pure *O. mossambicus* : des femelles MoMo10. Un problème se pose avec l'emploi de ces individus : le parent mâle à l'origine de ce groupe a été totalement perdu (point noir dans la généalogie).

Devons-nous dans ce cas :

- 1) S'acharner à continuer les reproductions avec les quelques femelles MoMo6 restantes ?
- 2) Utiliser les femelles MoMo 10 de père inconnu ?
- 3) Employer des femelles *O. mossambicus* provenant d'un autre lieu ?

Annexe 6

1. First, in relation of our last discussion in France before your travel.

During the hybrids generations, you have to alternate the sex of the mossambicus used for the back-cross => it has been done by the team according to the big graphic "genealogy of the hybrid molobicus," that I have received. Until that it's ok. But, for the next generations you have to organize a rotation in the familial origin of the mossambicus used => Purpose: reduce or control the level of inbreeding inside the population created. But inside the classical diagrams of crossing system in its place, either it's not clear, or even there is a risk of confusion between the same family origin from a generation to another. => to avoid, because these things would be arrived earlier than we can imagine. You have to do a rotating plan, to control the breeding and to retrace the earlier as possible some linked breeders.

2. Inside different families of produced hybrids (example: H2A, H2B) there is plenty groups => This were produced in the same moment (a few hours of gap.) or not? If it's not the case, it's impossible to consider these groups included in the same family because it would be impossible to select the future breeders (animals not similar) In this case, you have to keep the best group and not the best fish inside all of the groups of the family. (best number, best health...)
3. About your question for MoNiE: What is the signification of the letter "E"? There is not letter inside the graphic but only some small number. Is it the 4th group of MoNi (on the graphic there is MoNi1, MoNi2, MoNi3)? If yes, then of course you can use this one instead of MoNi3. => We would obtain H2C from this family and you would have to put MoNi3 outside the protocol to avoid the mixture.
4. For H2F: What are these MoMo10 (in the diagram we just go from MoMo1 to MoMo6 => Why you go to MoMo10 => you have register some mortalities in the intermediate families, or other utilization? Otherwise, for the utilization with an unknown father/ OK if you haven't got other families of mossambicus available. One Question: this unknown father, was it completely unknown? Do you think that this father would have been used with an other pure family or no?
5. In the table of genealogy and references of the sample included with the graphics, we can see the same animal has the same tag number. (this point is highlight by you.) They are the same => So be careful in the management of the animals not to do some breeding with animals really next. Or is it only a pb in the sample that I have received who are redundant?

Regards for all of the team.

Xavier

Annexe 7

Mon cher Xavier,

J'ai été très heureux de recevoir des nouvelles de toi. Je réponds très tardivement à ta lettre du 19 juillet, je te prie de m'en excuser par avance.

1) Plan de rotation.

Je comprends parfaitement qu'il faut freiner ou au moins contrôler le niveau de consanguinité, mais j'aimerais que tu me précises ce que tu veux dire par "rotation dans l'origine familiale." Il faut éviter au maximum d'utiliser des géniteurs identiques pour produire une même famille est-ce cela ? Par exemple, pour produire les deux groupes de la famille H2A (H2Aa et H2Ab), le même père NiMo2 a été utilisé, c'est ce genre de choses qu'il faut éviter ? Peux-tu me préciser comment faire la rotation en prenant un exemple concret ?

2) Fratries appartenant à un même groupe d'hybrides.

Je comprends parfaitement là où tu veux en venir. Je peux te dire que dans de très rares cas, les différentes fratries ont été produites à quelques heures d'intervalle (trop complexe à faire). Les animaux ne sont pas comparables. La sélection devra donc s'opérer au niveau de la fratrie et non pas au niveau de l'individu, c'est OK ! Message bien compris.

3) Pour MoNi E.

La lettre "E" veut dire que c'est le cinquième groupe de MoNi produit. MoNi 1, MoNi 2, MoNi3 puis MoNi D, MoNi E ..., l'emploi des lettres se justifiant car il s'agit des groupes mis de côté pour faire soit les tests de salinité, soit pour servir de réserve en cas de problème et en aucun cas de reproducteurs s'incluant par la suite dans la généalogie. Le groupe MoNi D a été entièrement sacrifié pour un test de salinité. De toute façon, le problème pour produire les H2C ne se pose plus car finalement avec une amélioration de la nourriture, nous avons réussi à obtenir un nombre suffisant de familles à partir des femelles MoNi 3 et des mâles MoMo3 (Cette question avait été soulevée dans le passé, mais à présent les choses ont évolué heureusement dans le bon sens).

4) Les MoMo 10.

C'est comme pour les MoNiE ... ce sont des groupes de mossambicus gardés en cas de problèmes. Là aussi tout est rentré dans l'ordre et donc nous n'aurons pas besoin d'avoir recours à ces MoMo 10. Les MoMo 7, 8, 9 ont été utilisés à d'autres fins ou sont morts (donc pas disponibles ... c'est le moins que l'on puisse dire!).

Là aussi les H2F ont été produits à partir des MoMo 6, donc il n'y a plus de problèmes.

5) Animaux avec le même code.

Si ils ont le même code, c'est qu'effectivement ce sont les mêmes animaux. Dans la boîte d'échantillon, les scotchs ont été mis de façon à ce que l'on comprenne parfaitement que tel géniteur a été utilisé plusieurs fois. Effectivement, ce n'est pas une bonne chose pour ce qui est de la consanguinité, mais à l'avenir nous ne referons pas les mêmes erreurs.

Merci pour ces informations concernant le côté génétique. Pour ma part, voilà une question que j'ai à te poser puisque tu m'as dit qu'il ne fallait pas hésiter.

Est-il possible d'utiliser une femelle mossambicus pour produire des purs mossambicus de troisième génération (M3) puis de réutiliser cette même femelle en back-cross pour produire des H3 ? Je pense que non, car cela augmenterait le taux de consanguinité, mais je te pose la question pour être sur.

Sinon, nous allons passer bientôt à la génération G3 où il faut féconder une ponte par le sperme de 3 mâles ... affaire à suivre.

Bon, c'est tout ce que je peux te dire pour le moment.

Merci encore pour ta lettre, j'ai salué l'équipe de ta part.

Yann.

Annexe 8

Two Methods of Treatment for Saprolegnia

1. Using malachite green

- add 0.1 mg/liter malachite green directly into the tank (water should not be flow-through) for one hour, once a day, for three consecutive days.

2. Using sodium chloride

- place in water bath for 30 minutes to 3 hours in saline water (5 to 30 ppt), for 3 consecutive days.

Formalin treatment is used for parasites (flagellates, ciliates, monogeneans, etc...) Use 25 to 40 ml per m³ for one hour, once a day, for 3 consecutive days. (Take note of decrease in level of O₂).

In Montpellier, combination of formalin and malachite green is used. Mix 4 grams of malachite green in 1 liter of formalin. Concentration should be 25 ml per m³. Treat fish for one hour, once a day, for 3 consecutive days. Use this treatment on very sick fish.

During treatment, turn off water supply in the aquarium. After one hour of treatment, turn on the water supply to dilute treatment concentration.

Drain the water for 20 minutes or more to prevent formalin affecting the biological filter and destroy the denitrifying bacteria.

BIBLIOGRAPHIE

- 1) AVELLA M., DOUDET T., 1996. Physiological adaptation of *Oreochromis niloticus* and *O. aureus* to salinity, p. 461-470. In R.S.V. Pullin, J. Lazard, M. Legendre, J.B. Amon Kothias and D. Pauly (eds) The third International Symposium on Tilapia in Aquaculture. ICLARM Conf. Proc. 41, 575p.
- 2) BAROILLER J. F., octobre 1997. Hybridation intergénérique des tilapias, Action Thématique Programmée 1998 (ATP) Montpellier, CIRAD-EMVT, 23 p. (Document interne)
- 3) BARTLEY D. M., 1998. Genetics and breeding of aquaculture species. In Proceedings of the seminar of the Centre International de Hautes Etudes Agronomiques Méditerranéennes (CIHEAM) Network on Technology of Aquaculture in the Mediterranean (TECAM), Zaragoza, Spain, 28-29 April 1997. Cahiers-Options-Méditerranéennes, 34 : 13-30 ; 58 ref.
- 4) BARTLEY D. M., RANA K., IMMINK A. J., December 1997. The use of interspecies in aquaculture and their reporting to FAO. *FAO Aquaculture Newsletter, FAN*, number 17, p.7-13.
- 5) BEZAULT E., 1999. Etude de la conservation de locus microsatellites chez les Tilapias et application à l'analyse de la ségrégation méiotique chez les hybrides inter-génériques (*O. niloticus* x *S. melanotheron*). Mémoire pour l'obtention du diplôme d'études supérieures de sciences naturelles, université Paris VI, 40p.+ annexes.
- 6) DAGET, J. and MOREAU, J. 1981. Hybridation introgressive entre deux espèces de *Sarotherodon* (Pisces, Cichlidae) dans le lac de Madagascar. *Bull. Mus. Nat. Hist. Nat. (Paris)* 4(4) : 689-703.
- 7) DUNHAM, R. A., 1995. The Contribution of Genetically Improved Aquatic Organisms to Global Food Security. Thematic paper presented to the Japan/FAO International Conference on Sustainable Contribution of Fisheries to Food Security, 4-9 December, Kyoto, Japan, 15p.
- 8) FALGUIERE, J. C., DENIS, O., VIANAS, V., LEROUX, A., SEVERE, A., BOEUF, G. 1994. Seawater adaptation in red tilapia hybrid reared in freshwater in French West Indies. Evaluation de la capacité d'adaptation à l'eau de mer de la souche hybride de tilapia rouge exploitée en eau douce aux Antilles françaises. In : *Le Robert Martinique ; Plouzane, France*, 12p.
- 9) GJERDE B., RYE M., 1998. Design of breeding programmes in aquaculture species : possibilities and constraints. In Proceedings of the seminar of the Centre International de Hautes Etudes Agronomiques Méditerranéennes (CIHEAM) Network on Technology of Aquaculture in the Mediterranean (TECAM), Zaragoza, Spain, 28-29 April 1997. Cahiers-Options-Méditerranéennes, 34 : 181-192 ; 58 ref.
- 10) HULATA, G., 1995. The history and current status of aquaculture genetics in Israel. *Isr. J. Aquacult. Bamidgeh*, 47 : 142-154.
- 11) JUBB, R. A., 1967. Freshwater fishes of southern Africa. A.A. Balkema, Cape town. 238p.
- 12) KOCHER D. T., 1997. Introduction to the Genetics of Tilapia. *Tilapia Aquaculture*, Proceedings from the Fourth International Symposium on Tilapia in Aquaculture, November 9-12, Volume 1, 61-64.
- 13) LAHAV M., LAHAV E., 1990. The development of all-male tilapia hybrids in Nir David. *Isr. J. Aquacult. Bamidgeh* 42: 58-61.
- 14) LEA MASTER, B. R., BROCK, J.A., FUJIOKA, R. S., NAKAMURA, R.M.S., 1990. Hematologic and blood chemistry values for *Sarotherodon melanotheron* and a red hybrid tilapia in freshwater and seawater. *Comp. Biochem. Physiol.*, a, no 4 : pp. 111-116.
- 15) LEMARIE, G., octobre 1999. Essai de caractérisation de la résistance à la salinité des souches parentales et hybrides des genres *Oreochromis niloticus* et *Sarotherodon melanotheron*. Action Thématique Programmée 1998 (ATP) Montpellier, CIRAD-EMVT, INRA, IFREMER (Station de Palavas les Flots), 14 p. + annexes. (Document interne)

16) LOVSHIN, L.L. 1982. Tilapia hybridization, p. 279-308. In R.S.V. Pullin and R.H. Lowe-McConnel (eds.) The biology and culture of tilapias. ICLARM Conference Proceedings 7, 432 p. International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines.

17) MICHA J.-C., CUVELLIER R., TILQUIN CH., MURAILLE B., BOURGOIS M., FALTER U., 1996. Comparative growth of hybrids (F1, F2 and F3) of *Oreochromis niloticus* (L.) and *O. macrochir* (Bigr.), p. 354-360. In R.S.V. Pullin, J. Lazard, M. Legendre, J.B. Amon Kothias and D. Pauly (eds) The third International Symposium on Tilapia in Aquaculture. ICLARM Conf. Proc. 41, 575p.

18) MIRES, D. 1982. A study of the problems of the mass production of hybrid tilapia fry, p. 317-329. In R.S.V. Pullin and R.H. Lowe-McConnel (eds.) The biology and culture of tilapias. ICLARM Conference Proceedings 7, 432 p. International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines.

19) NGAGNE M., 1992. Essais d'obtention d'Hybrides intergénériques entre *Oreochromis niloticus* et *Sarotherodon melanotheron*, Mémoire de fin d'Etude pour l'obtention du D.H.E.T. Option Ichtyologie Appliquée, septembre 1992, 57 p. + Tabl. Mat.

20) OWUSU-FRIMPONG M., BEHREND L. L., HARGREAVES J. A., 1997. A strategy for the Development and Production of Genetically Improved Tilapia through Inbreeding and Hybridization. *Tilapia Aquaculture*, Proceedings from the Fourth International Symposium on Tilapia in Aquaculture, November 9-12, NRAES-106, Volume 1, 65-73.

21) RANA K. J., McANDREW B. J., WOHLFARTH G. W., MACGOWAN L., 1996. Observations of intergeneric hybrids in tilapias, p. 391-397. In R.S.V. Pullin, J. Lazard, M. Legendre, J.B. Amon Kothias and D. Pauly (eds) The third International Symposium on Tilapia in Aquaculture. ICLARM Conf. Proc. 41, 575p.

22) ROSARIO W. R., NIPALES C. B., CAOILE N. B., MATEO D. A., 1999. Molobicus-Genetic Selection for a Salinity Tolerant Tilapia Through Hybridization. Progress Report (4th Quarter) BFAR-NIFTDC PCAMRD CIRAD Project, Dagupan city, Philippines, 8p. + annexes. (Document interne)

23) SAGNA A., 1997. Stage sur les pratiques aquacoles au laboratoire du G.A.M.E.T., Formation de chef de projet, C.R.E.U.F.O.P., 32p. + annexes. (Document interne)

24) TAVE D., 1986. Genetics for Fish Hatchery Managers, Westport, CT : AVI Publishing Company Inc, 299 p. (A consulter en priorité)

25) VERDEGEM M.C.J. , 1987. Response of fecundity and growth to hybridization and crossbreeding of *Tilapia hornorum*, *Tilapia nilotica* and Taiwanese red tilapias in hapas. PhD Thesis, University of Puerto Rico, Mayaguez, 18 pp.

26) VILLEGAS C. T., 1990. Evaluation of the salinity tolerance of *Oreochromis mossambicus*, *O. niloticus* and their F1 hybrids. *Aquaculture*, 85 : 281-292.

27) WATANABE, W. O., CHAN, J. R., SMITH, S. J., WICKLUND, R. I., OLLA, B.L., 1996. Production of Florida red tilapia (*Oreochromis sp.*) in flowthrough seawater pools at three stocking densities, p. 168-174. In R.S.V. Pullin, J. Lazard, M. Legendre, J.B. Amon Kothias and D. Pauly (eds) The third International Symposium on Tilapia in Aquaculture. ICLARM Conf. Proc. 41, 575p.

28) WOHLFARTH G. W., 1994. The unexploited potential of tilapia hybrids in aquaculture. *Aquaculture and Fisheries Management*, 25, 781-788.

29) WOHLFARTH G. W., HULATA G. I., 1981. Applied genetics of tilapias. *ICLARM Studies and reviews*, 6, 26p. International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines.



Attention ! Toute copie des photographies présentées dans ce rapport devra recevoir un accord préalable de l'auteur. Merci...

Tous les documents en anglais présentés dans ce rapport ont été créés par les membres de l'équipe du projet Molobicus dont j'ai fait partie durant 6 mois.