

Institut d'élevage
et de médecine vétérinaire
des pays tropicaux (I.E.M.V.T.)

10 rue Pierre Curie
94704 MAISONS ALFORT Cedex

Institut national agronomique
Paris-Grignon (I.N.A.-P.G.)

16 rue Claude Bernard
75005 PARIS

Muséum national
d'Histoire naturelle (M.N.H.N.)

57 rue Cuvier
75005 PARIS

Ecole nationale vétérinaire
d'Alfort (E.N.V.A.)

7 av du Général de Gaulle
94704 MAISONS ALFORT Cedex

- D.E.S.S. DE PRODUCTIONS ANIMALES EN REGION CHAUDES -

INFLUENCE DE LA NOURRITURE SUR LA QUALITE DES PONTES
DE PENAEUS STYLIROSTRIS.

CAROLE MASSON

Mémoire de stage (Juin à septembre 1988)

REMERCIEMENTS.

Les remerciements sont systématiques et perdent ainsi souvent de leur valeur.

Ceux-ci sont vraiment sincères.

Je remercie toutes les personnes du C.O.P. qui ont su m'aider , me conseiller ou simplement me sourire .

Je remercie tout particulièrement:

- Alain Michel , sans qui rien n'aurait été possible.
- Jacques Patrois qui , encadrant ce stage , m'a initié aux techniques de base et a très gentiment corrigé ce travail.
- Jacques Calvas pour sa disponibilité , sa patience , ses conseils judicieux et toujours formateurs.

Je remercie enfin mes amis V.A.T. grâce auxquels je repars la tête pleine de souvenirs.

J'en remercie un , tout particulièrement , qui n'a pas économisé son temps en m'aidant de nombreuses fois.

- PLAN GENERAL -

I. Introduction	p 1
II. Matériel et méthodes.	p 6
II.1. Animaux	p 6
II.2. Conditions d'élevage	p 6
II.2.1. Gestion des femelles .	p 6
* Maturation.	
* Fécondation.	
* Ponte.	
* Eclosion.	
* Alimentation .	
II.2.2. Gestion des mâles.	p 10
* Généralités.	
* Protocole de traitement des spermatophores.	
-Principe.	
-Prélèvement, conservation.	
-Observation, comptages.	
III. Résultats.	p 22
III.1. 1ère Phase: Variables concernant la ♀ .	p 22
III.1.1. Paramètres qualitatifs.	p 22
* % de fécondation,	
* % de nauplii dans l'oeuf.	
* % d'éclosion.	
III.1.2. Autres paramètres.	p 27
* Indice de mue.	
* Indice de ponte.	
* "% de n'ayant jamais pondue."	
* Mortalité.	
III.2. 2ème phase: Variables concernant le ♂.	p 27
IV. Discussion générale.	p 30
V. Conclusion.	p 32
VI. Bibliographie.	p 33 .

I. INTRODUCTION.

La production mondiale de crevettes représentait en 1983 un chiffre de 1.5 millions de tonnes. Alors que ce chiffre n'a pas beaucoup varié, la proportion de crevettes d'élevage a, quant à elle, été multipliée par 5 passant de 3-4% en 1983 à 15-20% en 1987.

Cette progression a notamment été permise grâce aux nombreuses études réalisées en centre de recherche permettant, en seconde phase, le passage du stade expérimental au stade de production commerciale par transfert de technologie.

Les principaux pays producteurs sont la Chine, Taiwan, l'Equateur, les Philippines, l'Inde... (Tableau page 2).

Dans le domaine des Pénéides, l'un des axes de recherche des dernières années a été de se libérer des contraintes liées à l'obtention de géniteurs dans le milieu naturel.

Les études réalisées et les techniques mises au point concernent des espèces "sélectionnées" dont l'aire de répartition géographique est bien souvent limitée et les stocks naturels insuffisants pour répondre à la demande des écloséries de plus en plus nombreuses dans la ceinture tropicale.

L'obtention d'un cycle complet (générations successives) réalisée pour la première fois en captivité par Fujinaga sur *P. japonicus* dans les années 1970, s'est peu à peu généralisée sur *P. merguensis* (Aquacop 1975) puis *P. monodon* (Seafdec 1976 et Aquacop 1977) enfin sur *P. vannamei* et *P. stylirostris* (Hanson et al 1976).

La tendance actuelle est donc l'obtention de géniteurs à partir de post-larves obtenues en captivité.

Alors que les techniques de pré-grossissement et grossissement semblent tout à fait maîtrisées, la phase de Maturation-Reproduction comporte, aujourd'hui encore, des incertitudes.

Le contrôle de la reproduction "sensu-stricto" par des méthodes artificielles et une gestion rigoureuse des mâles (Aquacop 1982, Trichereau 1986) a permis de limiter la variabilité des performances de ponte des animaux, sans pour autant la faire disparaître.

L'ensemble des facteurs extérieurs semble influencer la phase Maturation-Reproduction. Le facteur nutrition étant sans doute l'un des plus importants à considérer.

L'influence de l'alimentation sur cette phase a déjà fait l'objet de nombreux travaux :

- Association de granulés et nourritures naturelles (Aquacop 1975, 1979 ; Primavera et al 1979 ; Emmerson 1980 ; Lawrence et al 1980.)

- Association d'aliments naturels (bivalves, crustacés, poissons, céphalopodes...) (Arnstein et Beard 1975, Beard et al 1977, Santiago 1977, Brown et al 1979, Kelemec et Smith 1980, Beard et Wickins 1980)

- Utilisation d'un aliment naturel unique (ex. moule) (Laubier-Bonnichon et Laubier 1976, Primavera et al 1978, Alikunhi et al 1975, Nurjana et Yang 1976, Lichatowi et al 1978, Chamberlain et al 1981).

Récemment des essais ont été réalisés avec des granulés de formules différentes (Galgani 1987).

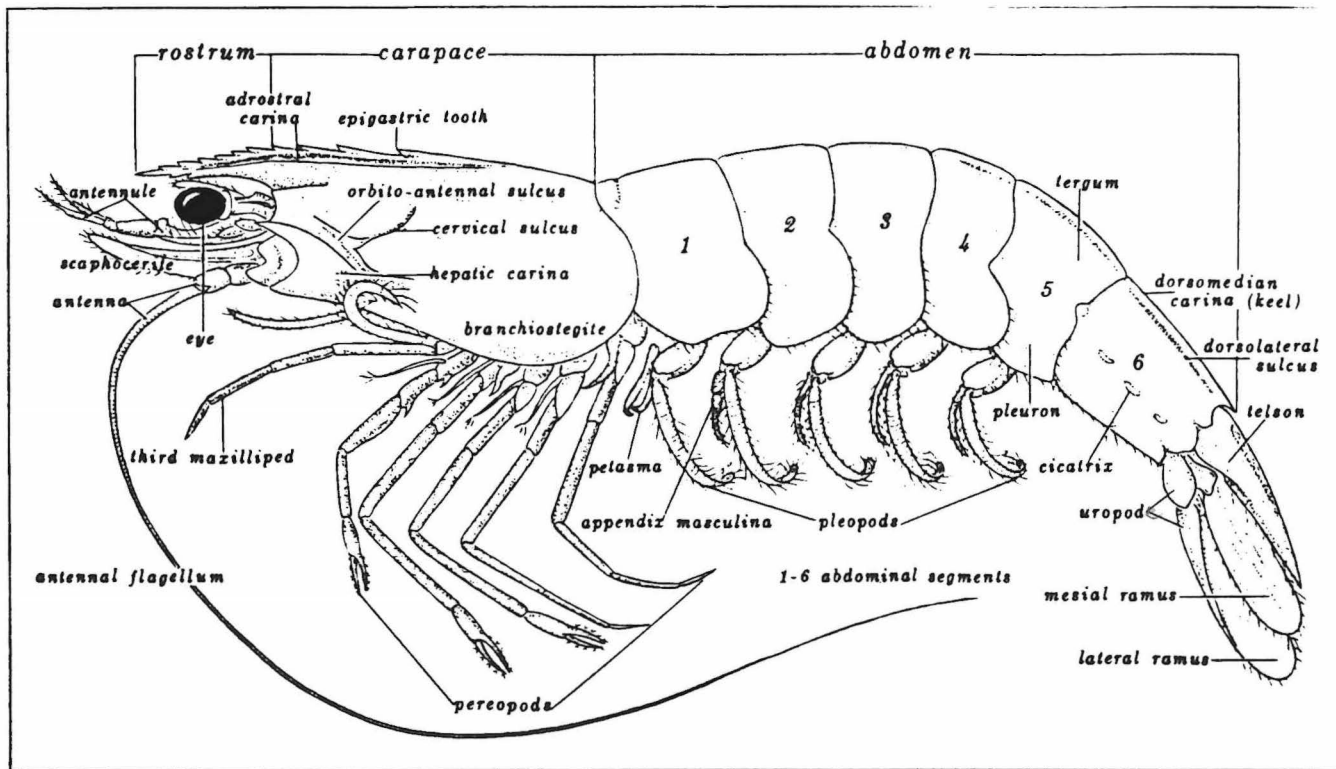
L'utilisation d'un granulé type "Nippai" (aliment de maturation japonais), riche en énergie, semble nécessaire aux animaux pour soutenir la phase de reproduction.

Pays producteurs	Quantités(+)
Chine communiste	85 000
Taiwan	70 000
Philippines	30 000
Indes	20 000
Thaïlande	18 000
Indonésie	15 000
Bengladesh	5 000 (?)
Japon	2 000
Malaisie	1000
Sri Lanka	500
Nouvelle Calédonie	150
Australie	60
Polyésie française	15
Mexique	1100
Panama	1300
Quadrus	1500
Pérou	1583
Bresil	1000
Colombie	1000
E.U. (+ Hawaï)	1000
Cuba	346
Guatemala	260
Rep. dominicaine	83
Vénézuéla	50.
El Salvador	41
Costa Rica	30.
Espagne	85
France	15
Italie	30.

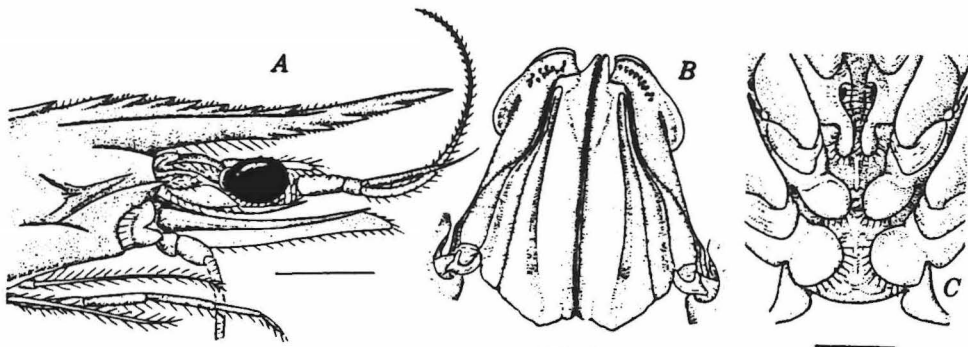
- production de 1987 -

L'équipe de maturation du Centre océanologique du Pacifique à Tahiti associe à ce granulé une série d'aliments naturels souvent congelés : Calmars, moules de Nouvelle Zélande , palourdes locales , trocas (gastéropodes) pêchés dans le lagon.

Il semblait intéressant d'"éclater" cette association d'aliments naturels , représentant un lourd travail de préparation, de les tester seuls avec du nippai afin de déterminer le ou lesquels pouvaient donner de bonnes performances en terme de "qualité de ponte".

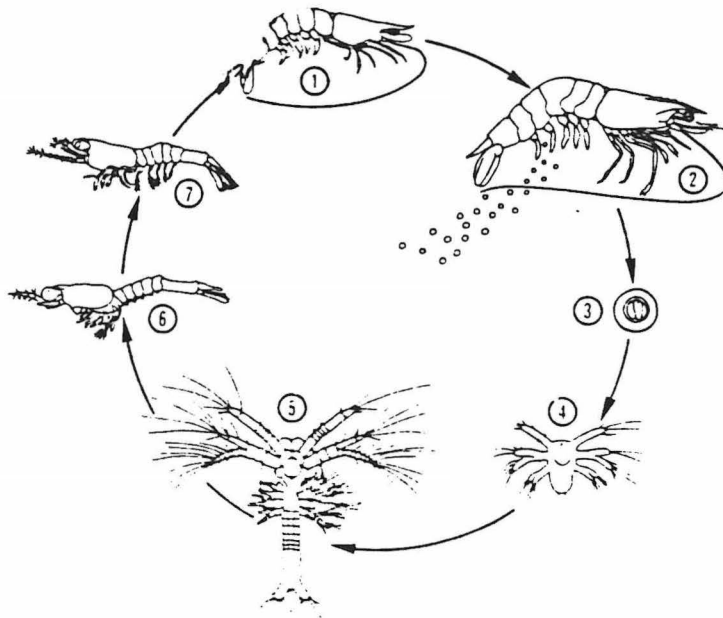


- Vue latérale d'une Penéide.



Penaeus (Litopenaeus) stylirostris

A: vue anterolatérale de la carapace -
 B: vue dorsale du pectus -
 C: Thelycum -



- ① Stades juvénile et adolescent -
- ② Adultes : Reproduction
- ③ Pouté.
- ④ Nauplius
- ⑤ Zoé.
- ⑥ Pynis.
- ⑦ Post-larve -

- Cycle de Reproduction des crevettes Penaeides -

II. MATERIELS ET METHODES .

Les expériences se sont déroulées au Centre Océanologique du Pacifique , Vairao TAHITI . La durée de l'expérience a été de 50 jours.

II.1. Animaux.

Les animaux expérimentaux , *P. stylirostris* , proviennent de pontes issues de géniteurs captifs. Ils ont été élevés dans des conditions intensives pendant 9 mois et ont subi un traitement géniteur durant 3 mois .

- Les femelles sont épédonculées unilatéralement. Au niveau du pédoncule occulaire, se situe l'organe "X" (dessin page 7) où est synthétisée l'hormone inhibitrice de la vittélogénèse (HIG). Cette hormone est véhiculée jusqu'à la glande du sinus où elle est stockée.

La section de ce pédoncule , bloquant la libération et la circulation de cette hormone, permet la levée de l'inhibition précédente: l'hormone gonado-stimulante est alors libérée .

Cette technique permet ainsi une maturation plus précoce des animaux et une augmentation du nombre de leurs pontes.

Afin de permettre un suivi individuel , les femelles sont baguées à l'oeil et marquées d'un numéro collé sur le céphalothorax. (cf. page 8)

- Les mâles sont "déspermés" dès leur transfert en salle de maturation afin de permettre l'utilisation de leur nouveau sperme pendant la phase optimale de qualité des spermatozoïdes (14-28 jours après déspermation selon Trichereau 1986).

II.2. Conditions d'élevage .

II.2.1. Gestion des femelles.

Huit lots de 20 femelles sont constitués: six sont placés dans des bacs circulaires en scobalite noire de 2.5 m³. Les deux lots restants sont introduits dans un bac de 7 m³ , divisé en deux par un filet tendu .

L'éclairage lumineux varie de 18 à 25 lux . La photopériode est de 9 heures de jour et 15 heures de nuit .

Le débit d'eau permet un renouvellement du bac en deux heures. Un diffuseur d'air permet une aération supplémentaire.

-Maturation.

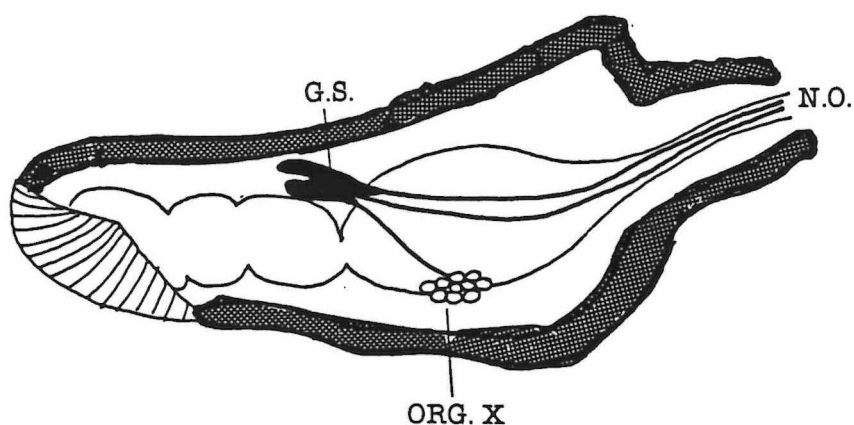
Chaque jour , en fin d'après midi , le stade de maturation de chaque femelle est observé .

L'abdomen étant translucide , la gonade est visible par transparence (cf page 8). L'état de maturité est évalué selon la méthode décrite par Aquacop (1979).

La gonade , quand elle est bien développée, présente de nombreuses circonvolutions sous le céphalothorax.

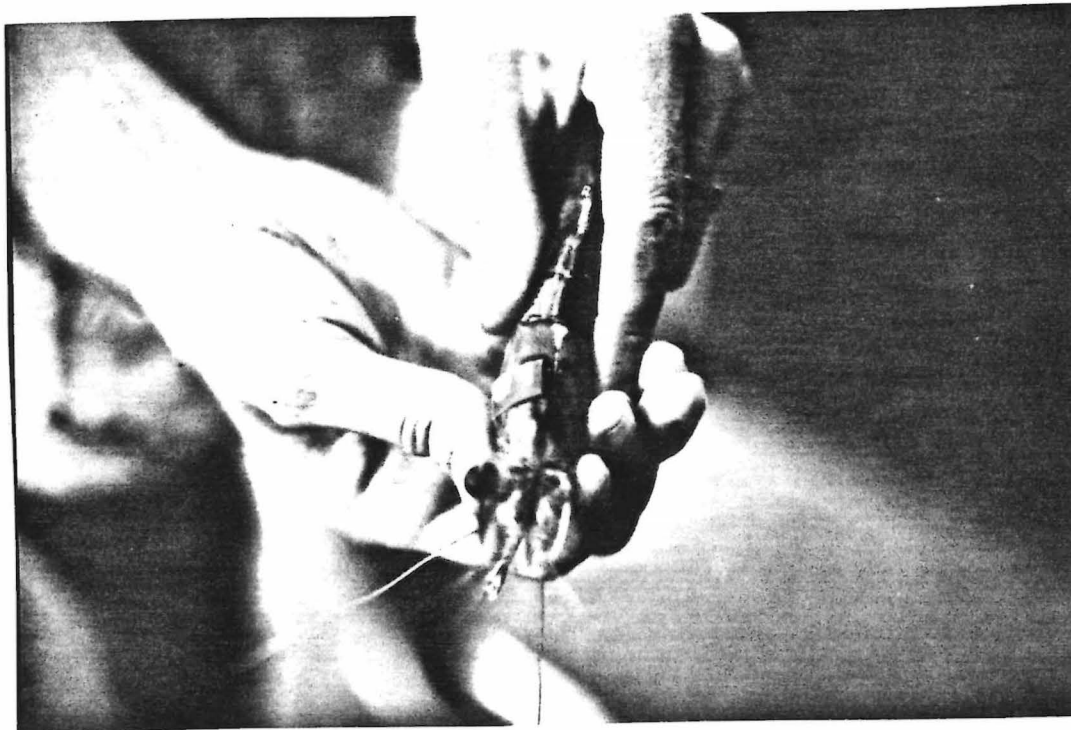
On observe , chez *P. stylirostris*, une constriction importante au niveau du premier segment abdominal (dessin page 8). La couleur apparaît , chez cette espèce , nettement brunâtre quelques heures avant la ponte .

Il est fréquemment apparu des phénomènes de régression de la gonade avant son stade final de maturité. Ce phénomène est suivi , au bout de quelques jours , d'une reprise du développement de la gonade .



{ G.S. : Glande du Sinus.
 ORG. X : Organe X.
 N.O. : Nerf optique -

- Coupe du pédoncule oculaire -



• ♀ "épédauculée" et marquée -



- "N°" collé sur le
Cephalothorax -

- Bague en silicone autour du pédoncule
oculaire -

Identification des ♀

-Fécondation.

Il existe fondamentalement deux groupes de Pénéides, suivant le moment de la copulation par rapport à la mue .

Le premier groupe comprend des espèces à thélycum fermé comme *P.merguiensis* , *P.aztecus* , *P.monodon* et *P. japonicus*.

Dans ce groupe , le mâle introduit son spermatophore dans l' orifice d'une femelle venant de muer.

Chez les espèces à thélycum ouvert telles *P.vannaméi* et *P. stylirostris*, le mâle dépose le spermatophore sur l'orifice d'une femelle dont les gonades sont mûres (quelques heures avant la ponte).

Dans ce groupe , la copulation n'a pas toujours lieu et de nombreuses femelles pondent sans que le spermatophore ait été déposé.

C'est pourquoi en élevage , une méthode de fécondation artificielle a été généralisée à l' ensemble de ces espèces .

Cette technique consiste à prélever le spermatophore d'un mâle , à en extraire le sperme , et à le placer enfin , au niveau de l' orifice génital de la femelle , le thélycum , situé entre la 3ème et la 4ème paire de pattes thoraciques. (cf page 16)

-Ponte.

Les femelles fécondées sont placées dans des pondoirs individuels de 150 litres en scobalite noire (Aquacop 1982).L'eau de mer , filtrée à 0.5 μ , subit , au niveau des pondoirs , un renouvellement total en deux heures .

Une aération complémentaire est assurée par un diffuseur d' air .

La ponte a lieu , dans l'obscurité totale , entre 19 et 21 heures.

Les ovocytes , produits par la femelle , diffusent à travers la boule de sperme et les fécondations ont lieu.La circulation d'eau emmène les oeufs dans un concentrateur (cf page 18).Leur nombre est évalué , le lendemain matin , par prise de 5 échantillons de 1 ml .Le comptage est réalisé deux fois.

Parallelement , un échantillon d'une centaine d'oeufs , est prélevé et observé à la loupe binoculaire.Les différents stades du développement de l'oeuf , décrits notamment par Primavera et al (1981) sur *P. monodon* (schéma page 19) ainsi qu'une observation par différence de réfringence , permettent l' évaluation des % de fécondation , % de stade nauplii dans l'oeuf selon les expressions :

$$\% \text{ fec} = \frac{\text{nombre d'oeufs fécondés.}}{\text{nombre d'oeufs total.}}$$

$$\% \text{ nauplii dans l'oeuf} = \frac{\text{nombre de nauplii ds l'oeuf .}}{\text{nombre d'oeufs total.}}$$

- Eclosion .

Les pontes présentant des nauplii dans l'oeuf , sont mises à éclore dans des éclosoirs rectangulaires (cf photo page 17), avec un faible renouvellement (débit : 1 l / 2 min). La circulation d'eau entraine les nauplii éclos dans un tamis inférieur. Le lendemain , un comptage , comme décrit précédemment pour les oeufs , permet d'évaluer le % d'éclosion selon l'expression :

$$- \% \text{ éclosion} = \frac{\text{nombre de nauplii éclos}}{\text{nombre d'oeufs fécondés.}}$$

Les oeufs de *P. stylirostris* avoisinent 220 u et présentent une couleur légèrement rougeâtre (Aquacop 1977).

Une baisse des températures (cf courbe page 24), ayant entraîné un blocage des éclosions, un dispositif de chauffage par résistances a été mis en place à partir de J 24 jusqu'à J 50 permettant les pontes et les éclosions à une température optimale de 28°C.

-Alimentation.

Chacun des 4 régimes testés sur les femelles $\times$ est appliqué à deux bacs pris au hasard en début d'expérience. La nourriture est distribuée ad libidum comme suit:

-MATIN: Nippai	10 cc
-SOIR : Régime 1 : Palourdes entières	20
Régime 2 : Trocas hachés (corps + gonade)	4
Régime 3 : Moules entières	20
Régime 4 : Nippai	10 cc

Tous les aliments sont au préalable congelés. Les rations sont ajustées en fonction de la mortalité.

II.2.2. Gestion des mâles.

-Généralités.

Cent cinquante mâles, issus d'une même population, constitue le stock initial utilisé pour la fécondation des femelles testées. Ils sont nourris d'une association Nippai-aliment frais (moules, palourdes, trocas, suivant disponibilité.)

Ces mâles sont disposés dans un bac initial en scobalite noire de 12 m³.

Ils sont déspermés en début d'expérience et sont uniquement utilisés en première phase pour la fécondation des femelles.

Dans une deuxième phase, les femelles furent fécondées à l'aide de 2 spermatophores provenant de deux mâles différents afin d'étudier la qualité des spermatophores homologues.

La technique utilisée, mise au point au C.O.P., dérive de l'observation en microscopie à épifluorescence du phytoplancton (Porter-Feig 1980) et de comptage en microscopie classique de sperme de Pénéides (Leung-Turjillo and Lawrence -sous presse.)

-Protocole de traitement des spermatophores.

*Principe.

Après une phase de maturation pendant laquelle leurs différentes structures se mettent en place, les spermatozoïdes parviennent à maturité et subissent

[illegible]

alors une involution progressive de leur matériel nucléaire. Durant celle-ci la dégradation des molécules d'ADN passe par la formation de molécules d'ARN. Les proportions relatives des différents acides ribonucléiques permet d'apprécier la qualité des spermatozoïdes.

L'addition d'acridinorange permet la formation de complexes ADN-acridine, ARN-acridine, qui excités sous une longueur d'onde de 450 à 490 nm, émettent une fluorescence respectivement verte et rouge, permettant la visualisation des proportions précédentes.

*Prélèvement et conservation.

Les spermatophores sont conservés pendant 12 heures dans une solution saline sans Ca^{++} , additionnée de 10% de formol.

COMPOSANTS	QUANTITES (Gr)
NaCl	21.63
KCl	1.12
H B O	0.53
NaOH	0.19
MgSO 7H O	4.93

Solution Ca^{++} free. (Quantités pour 1 l)
(d'après J.R. Leung-Turjillo 1985)

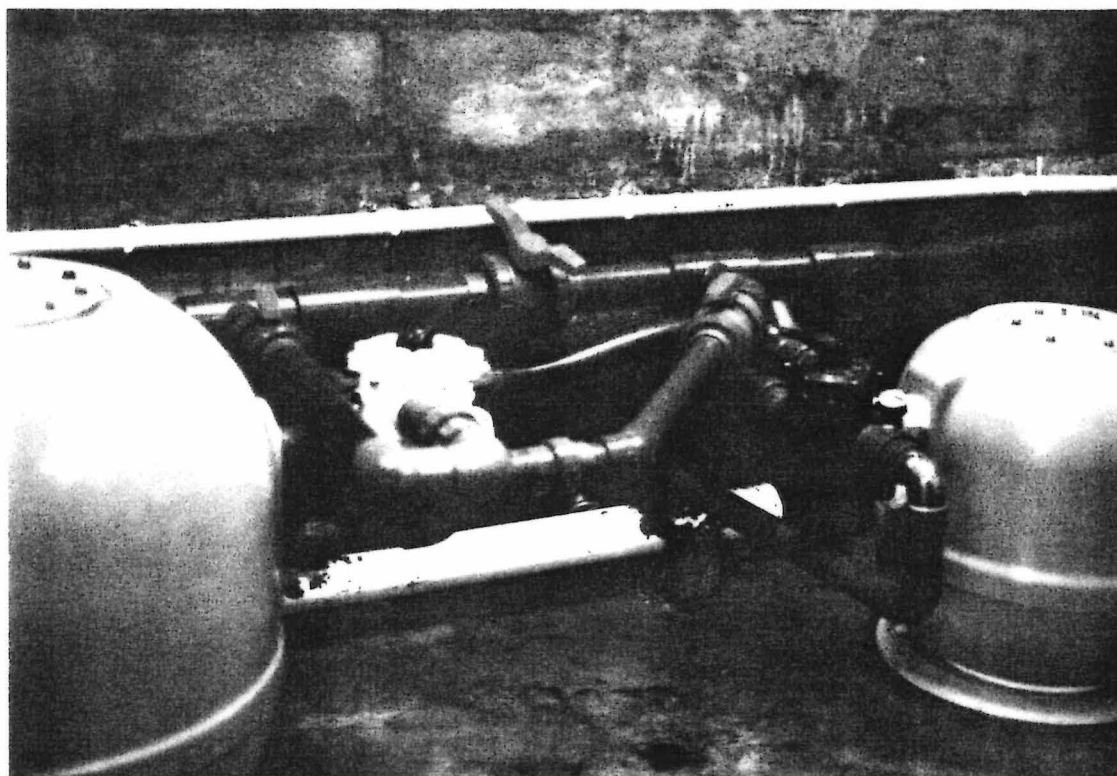
Le spermatophore est pilé dans un broyeur type Potter durant 10 minutes avec 2 ml de solution saline. Après homogénéisation, deux gouttes d'acridinorange sont ajoutées. L'observation est réalisée quelques minutes plus tard sur une goutte déposée entre lame et lamelle.

* Observations-Comptages.

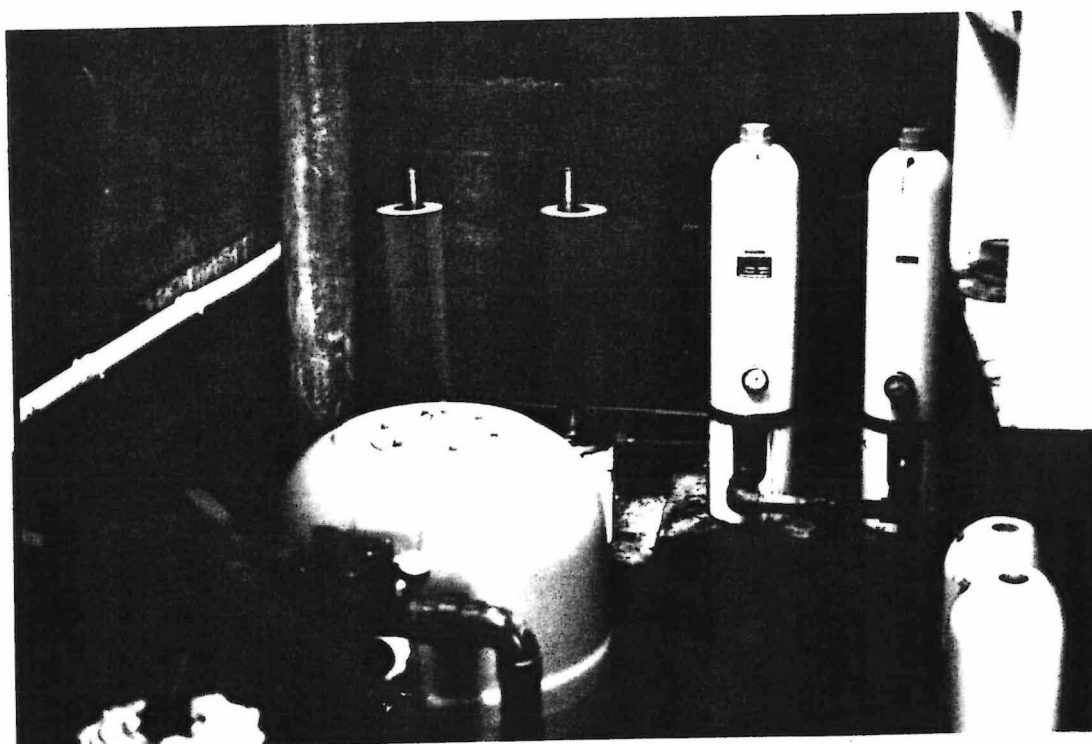
Six zones d'un réticuli, en comprenant 100 et placé au niveau de l'oculaire, sont observées. Le réticuli est déplacé 4 fois sur la lamelle. Un comptage permet d'apprécier le nombre total de spermatozoïdes, leur degré de maturité, et les différentes formes présentes. (cf fiche page II)
On définit :

$$\text{Nombre total de spz} = \frac{\text{Nb moyen par zone} \times 100 \times \text{surface lamelle} \times \text{Vol solution}}{\text{Surface du champs.} \quad \text{Vol prélevé}}$$

La fiabilité de la méthode a été testée grâce à une analyse de variances (Trichereau 1986).



Systeme de conduite d'eau et filtres de la
zone de maturation et de la salle des poudoirs.



Déroulement des manipulations quotidiennes -

- ① Choix d'un mâle ayant ses deux spermatophores développés -
- ② Déspermation -
- ③ Choix d'une ♀ "mûre".
- ④ Pose du sperme au niveau du *Receptum* de la ♀
- ⑤ Fixe en pandoirs -
- ⑥ Récupération, le lendemain, des œufs au niveau du concentrateur.
- ⑦ Observations à la loupe binoculaire.
- ⑧ Fixe en éclosoirs -
- ⑨ Récupération, le lendemain, des nauplii, écloses.



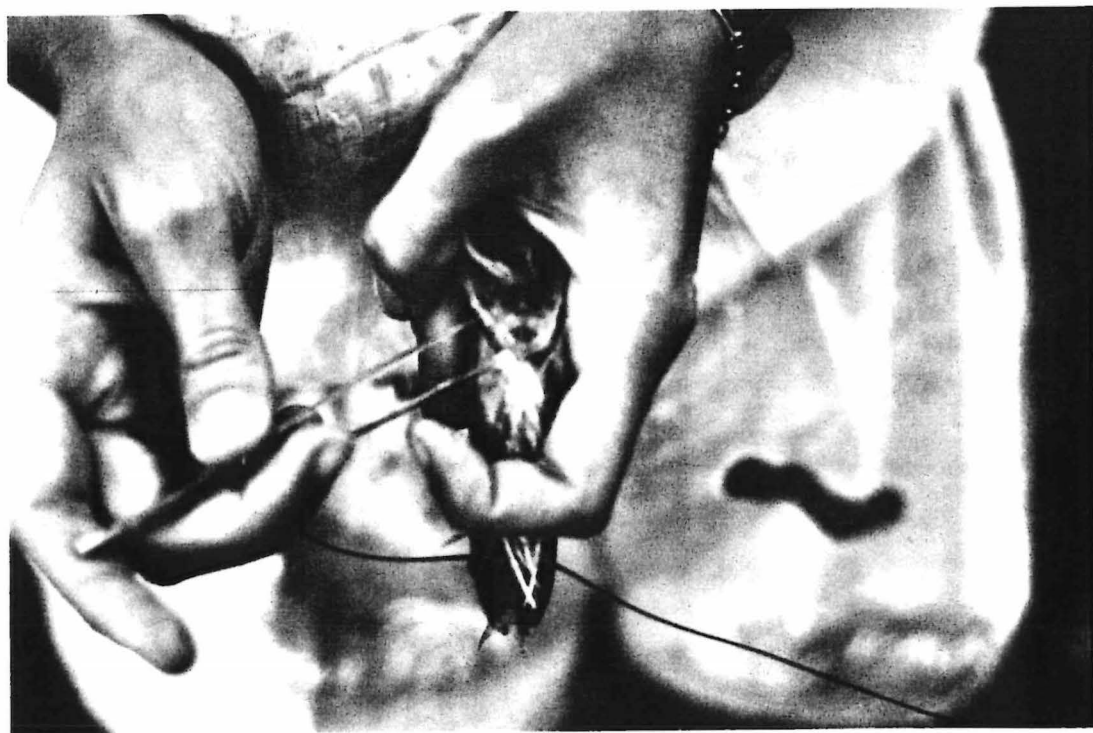
① Spermatophores du ♂ (Vue ventrale)



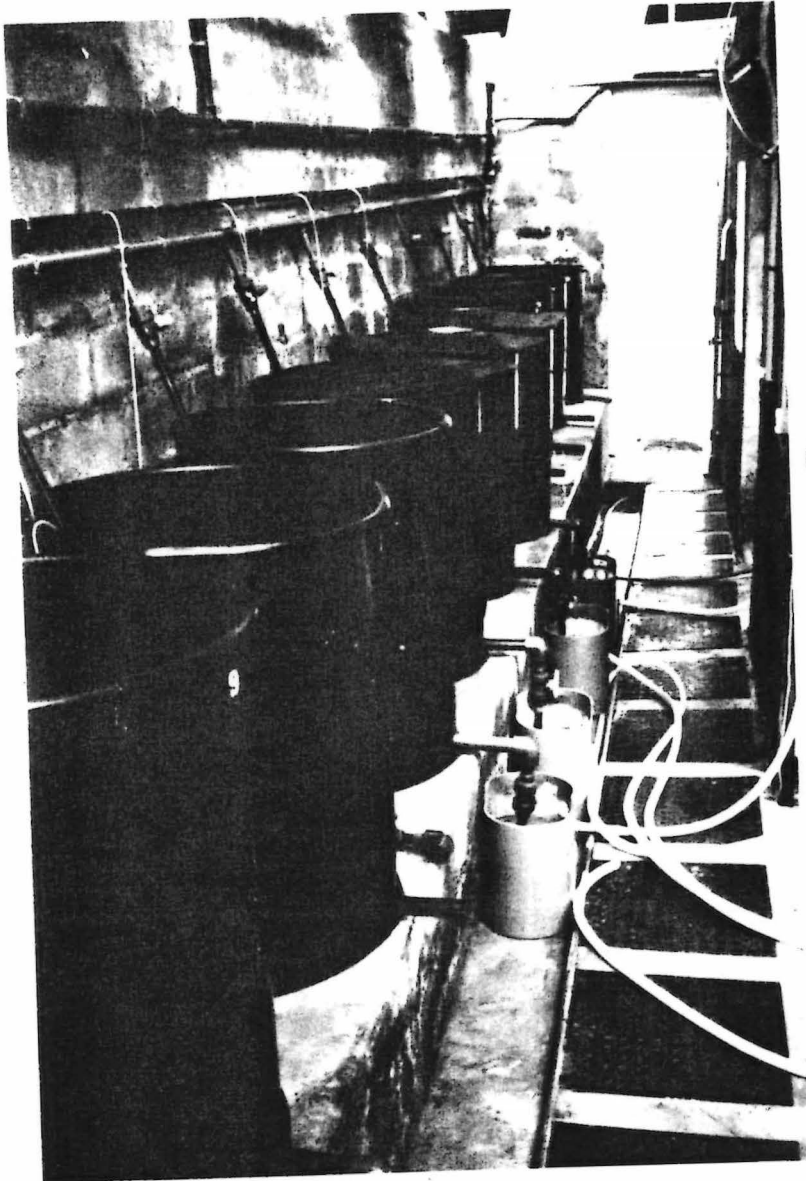
② "Déspermatation"



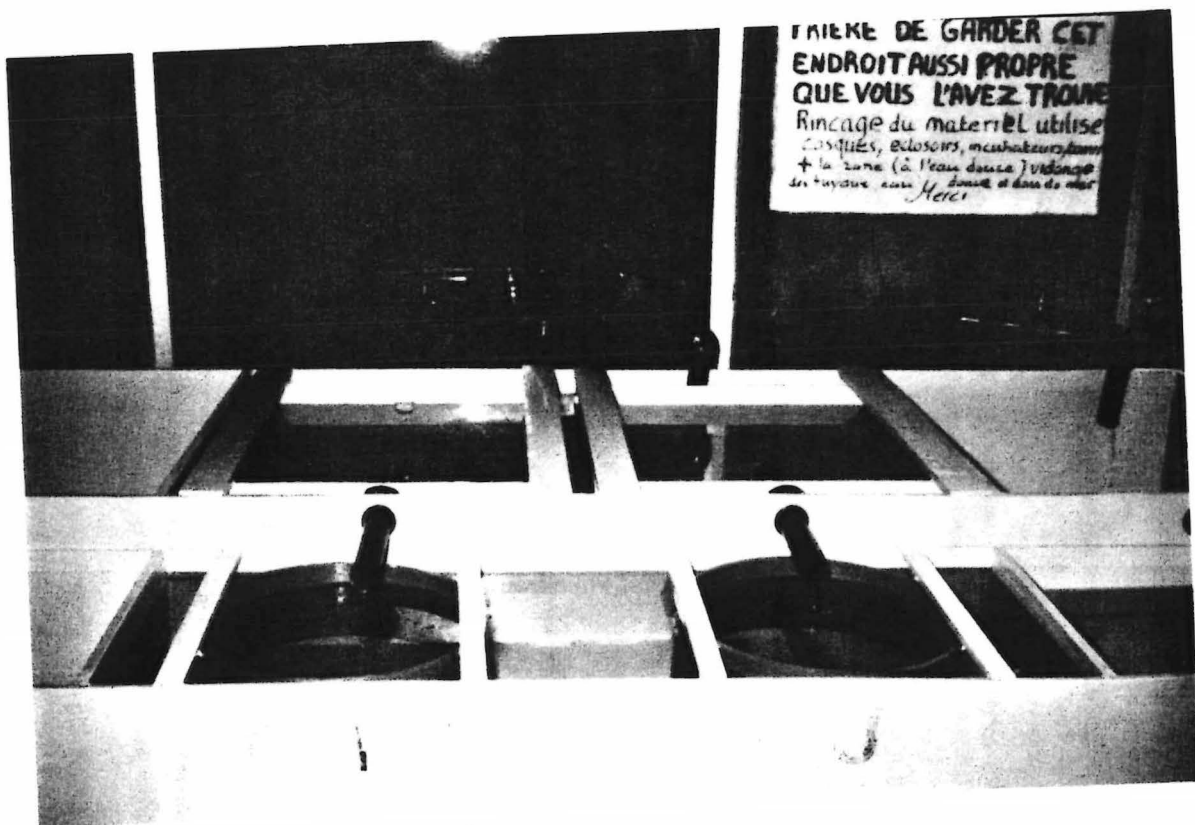
③ "♀ mûre": gouade développée visible par transparence.



④ Pose du sperme de ♂ au niveau du phélyum d'une ♀ mûre: Fécondation artificielle.

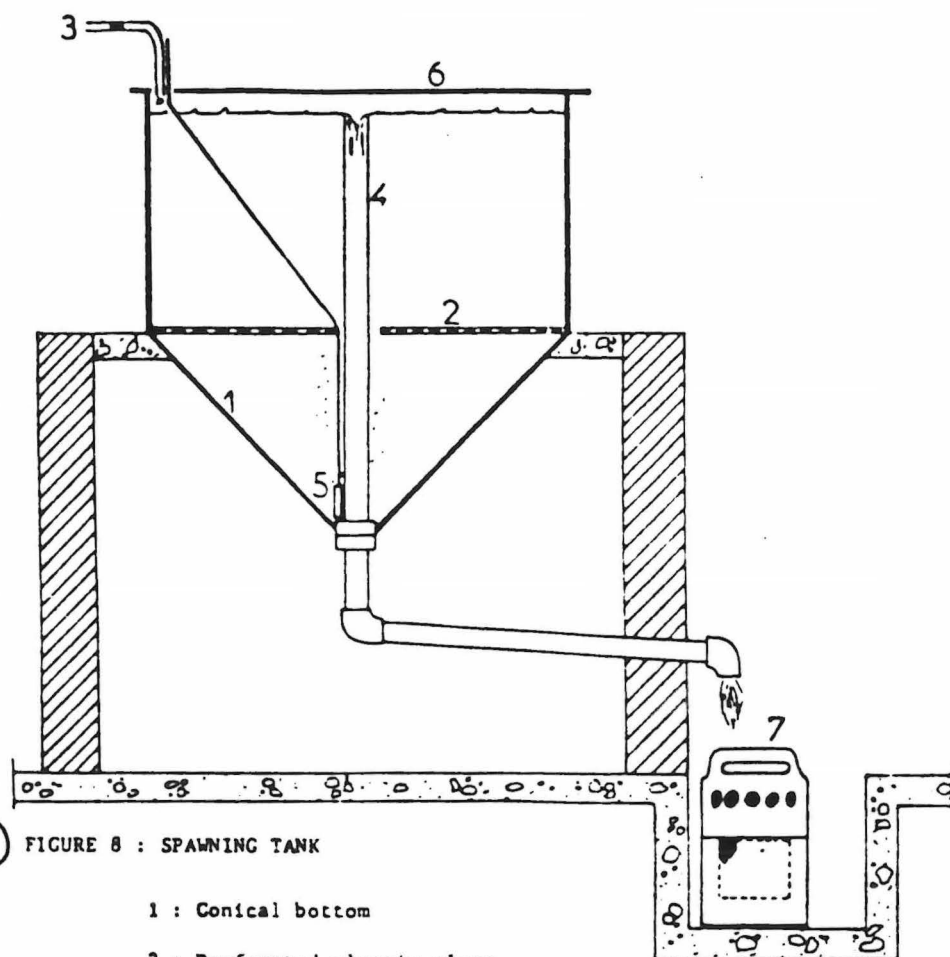


⑤ Salle des Poudres -



PRENEZ DE GARDER CET
ENDROIT AUSSI PROPRE
QUE VOUS L'AVEZ TROUVE
Rincage du matériel utilisé
casques, écluseurs, incubateurs, etc.
+ la zone (à l'eau douce) vidange
des tuyaux, aussi. Merci

⑨ - Ecluseurs -

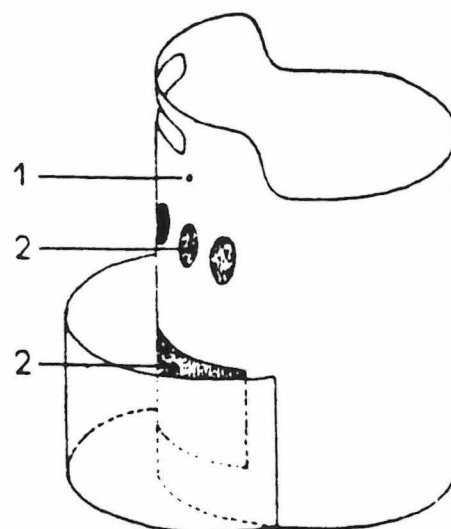


⑤ FIGURE 8 : SPAWNING TANK

- 1 : Conical bottom
- 2 : Perforated plastic plate
- 3 : Water inlet pipe
- 4 : Water outlet pipe
- 5 : Air-stone
- 6 : Black cover
- 7 : Eggs concentrator

⑥ FIGURE 9 : EGGS CONCENTRATOR

- 1 : 250 mm PVC pipe
- 2 : 160 μ plancton mesh



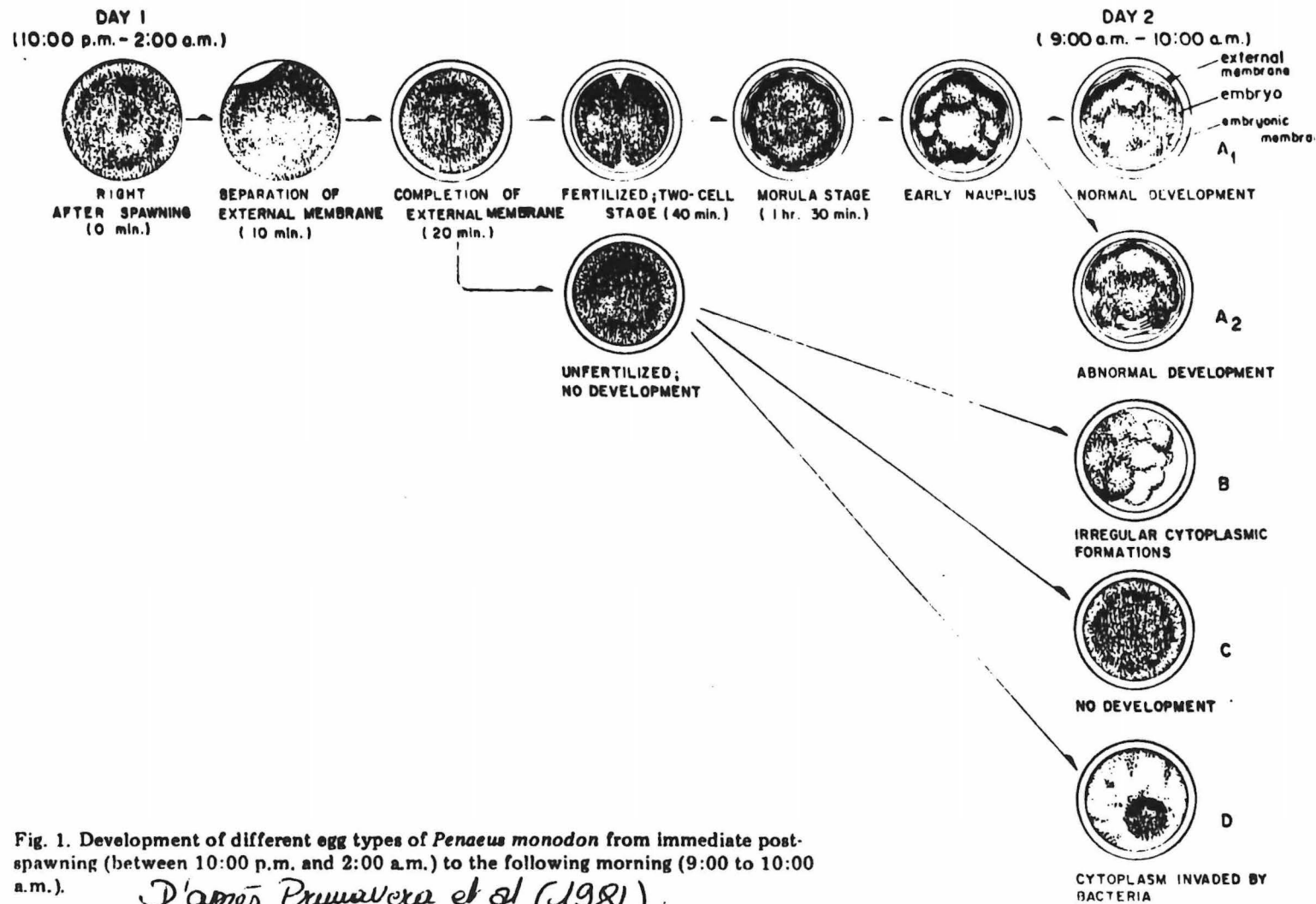
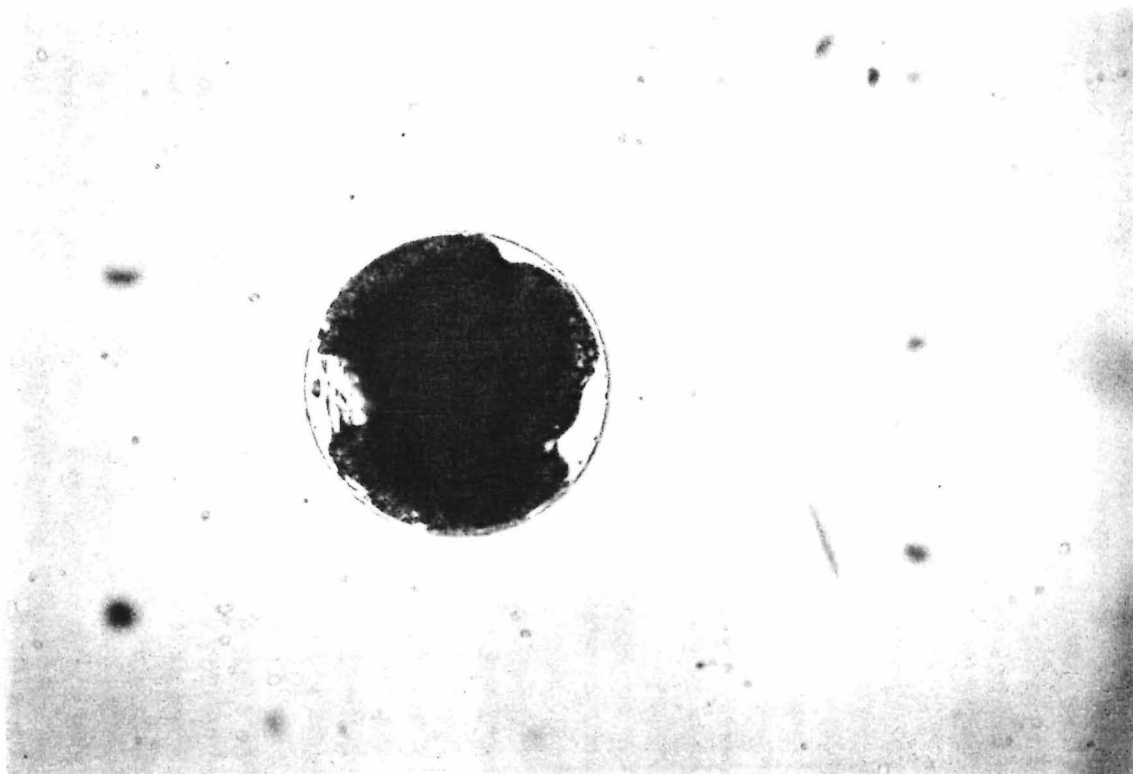


Fig. 1. Development of different egg types of *Penaeus monodon* from immediate post-spawning (between 10:00 p.m. and 2:00 a.m.) to the following morning (9:00 to 10:00 a.m.).

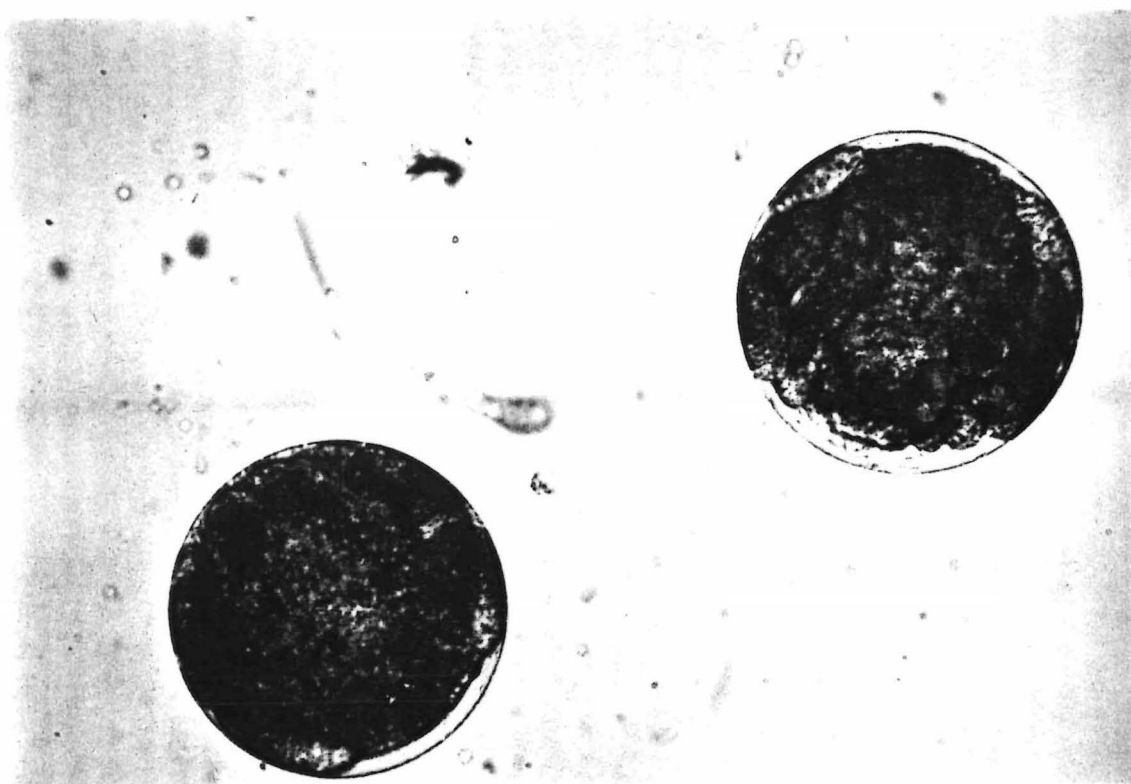
D'après Primavera et al (1981).

7 Observation des oeufs à la loupe binoculaire -

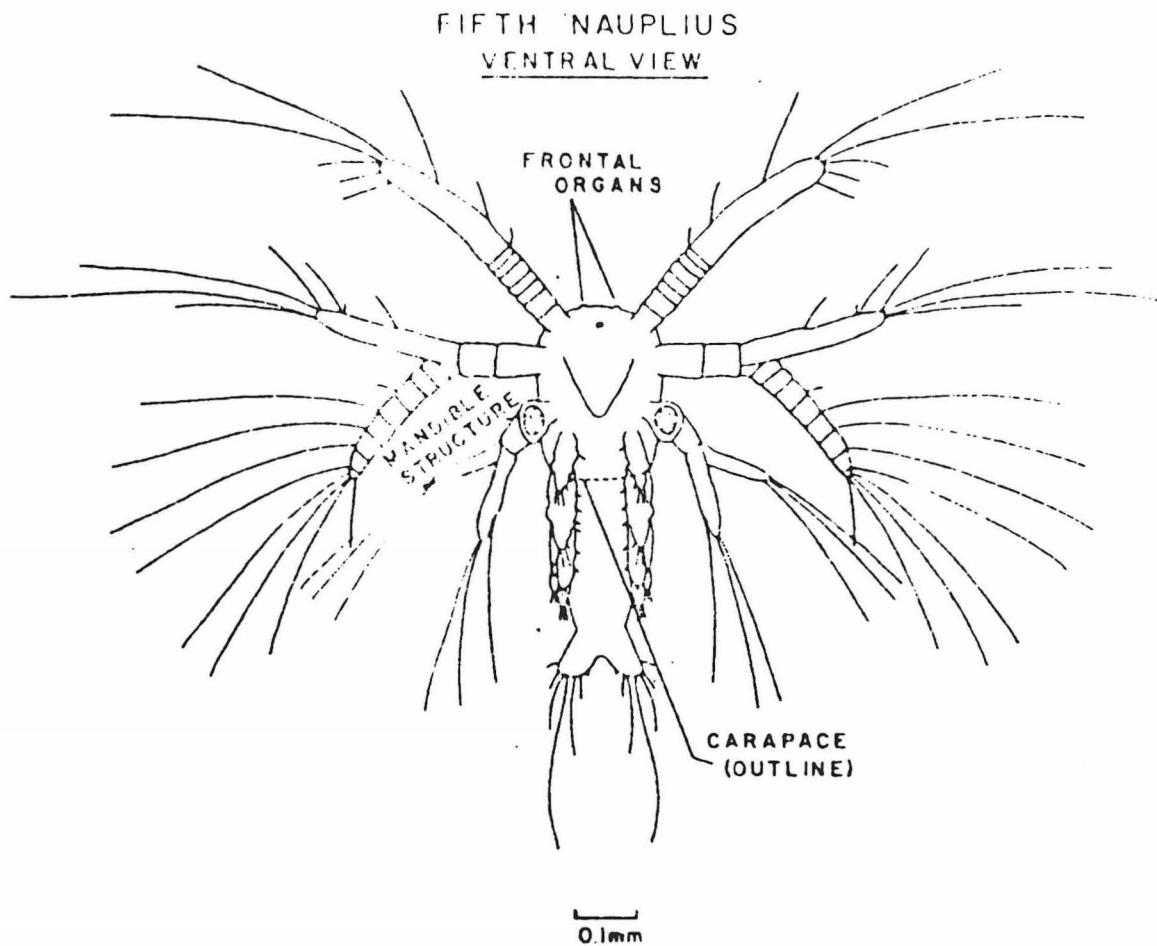
⑦ Suite



- Nauplius dans l'eau.



- Idem. Stade suivant



⑨ *Nauplius éclos.*

III. RESULTATS.

III. 1. Première phase : Variables concernant la femelle.

Le tableau , page 23, présente les différents résultats obtenus. Ces résultats sont traités statistiquement par analyse de variances (ANNOVA. TEST DE TUKEY $\alpha = 5\%$). L'unité expérimentale considérée est la femelle .

La condition de normalité est obtenue par une transformation des pourcentages par "Arcsin ".

Condition d'indépendance : Les différents résultats de ponte d'une même femelle , étant des évènements dépendants , sont regroupés sous une même donnée. Il est à préciser que la condition d'indépendance n'est pas entièrement réalisée du fait de l'environnement même des femelles. Nous en ferons cependant ici l'hypothèse.

L'étude des spermatophores des mâles (cf paragraphe suivant) nous a permis de montrer une forte liaison entre pontes non fécondées et spermatophores "de mauvaise qualité" (jeunes spz $< 50\%$, spz normaux $< 50\%$). C'est pourquoi les pontes , dont le taux de fécondation est nul , ne sont pas prises en compte dans le traitement statistique considérant un "facteur mâle " trop important.

L'analyse de variances (Tukey $\alpha = 5\%$) permet dans un premier temps de déclarer l'homogénéité des deux bacs d'un même traitement pour les variables considérées. Il n'y a pas d'"effet bac". Les traitements sont donc analysés dans leur globalité.

On notera , que les variables considérées se révèlent globalement inférieures aux résultats couramment admis pour *P. stylirostris*.

La température , tombée en dessous de 26° (cf courbe page 24), ainsi qu'une manipulation importante des animaux peuvent expliquer ces différences.

III.1.1. Paramètres qualitatifs.

* % fécondation, % nauplii dans l'oeuf, % éclosion.

-Traitements 1 (palourde) et 3 (moule).

Ces deux régimes présentent des résultats proches quelque soit la variable considérée (cf page). Aucune différence significative n'a pu être mise en évidence. L'étalement des valeurs autour de la moyenne est , pour les trois variables considérées , peu étendu. On notera que , selon le test de Tukey , le traitement 3 (moule) ne se distingue pas statistiquement du traitement 2 (troca) en ce qui concerne le pourcentage de fécondation.

-Traitement 2 (troca).

C'est le régime qui , quelle que soit la variable considérée , donne les meilleurs résultats en terme de qualité de ponte.

Ces différences peuvent être considérées comme très significatives en ce qui concerne le % de nauplii dans l'oeuf et le % d'éclosion , le risque de première espèce pouvant être égal à 0.11%.

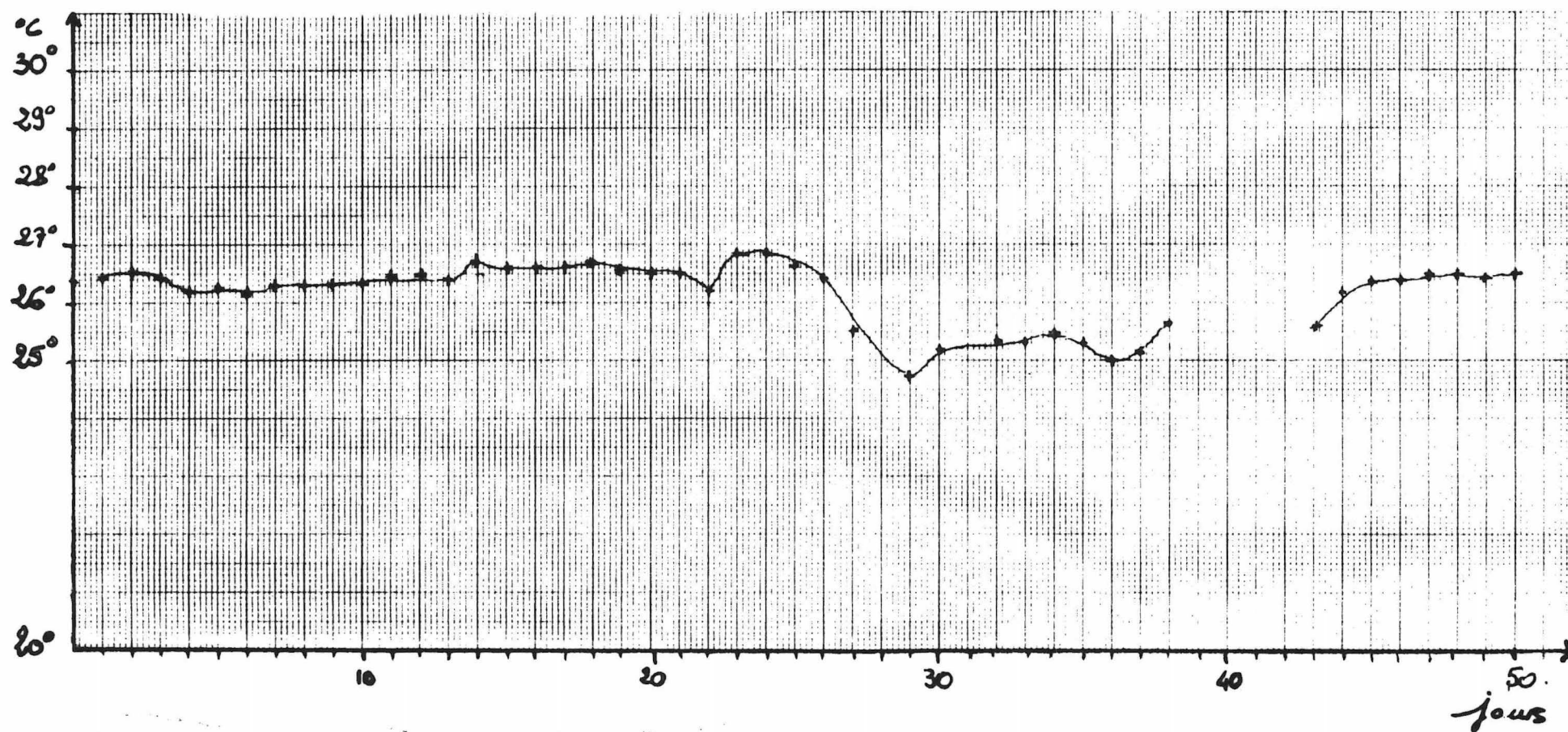
On notera qu'en ce qui concerne le % de fécondation , le traitement 3 et le traitement 2 font partie du même groupe d'homogénéité.

- Influence des différents régimes testés -

	T ₁ : PALOURDE	T ₂ : TROCA.	T ₃ : MOULE.	T ₄ : NIPPAN
Mortalité	20%	22%	17,5%	5%
Indice de mue nbre / 30 j - / ♀	<u>1,61</u>	<u>1,52</u>	<u>1,55</u>	<u>1,57</u> *
Durée intermue (j)	16	17	17,5	18.
Indice de ponte nbre / 30 j / ♀.	<u>1,26</u>	<u>0,59</u>	<u>1,05</u>	<u>1,1</u> *
% œufs de ♀ ayant jamais pondu.	15%	20%	20%	7,5%.
Nombre moyen d'œufs par ponte.	73 400	66 000	91 200	81 800.
% Fécondation	<u>21,6</u>	<u>27,9</u>	<u>23,3</u>	<u>20,1</u> **
% Nauplii dans l'œuf.	<u>11,0</u>	<u>16,3</u>	<u>11,1</u>	<u>8,5</u> **
% Ecllosion -	<u>16,8</u>	<u>31,1</u>	<u>15,0</u>	<u>12,6</u> **

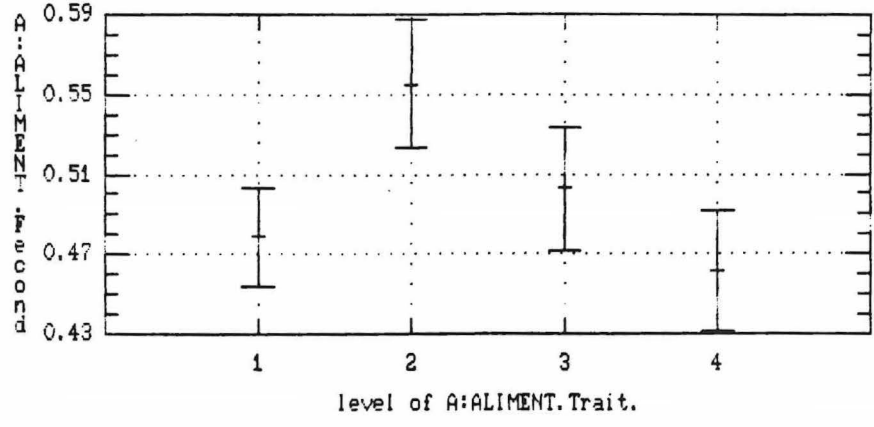
Analyse de variances: Test de Tukey $\alpha = 5\%$: ** — Comparaison de moyennes: Test de Student $\alpha = 5\%$ *. Une différence de niveaux entre les traits horizontaux indique une différence significative.

Courbe des températures pendant la durée de l'expérience

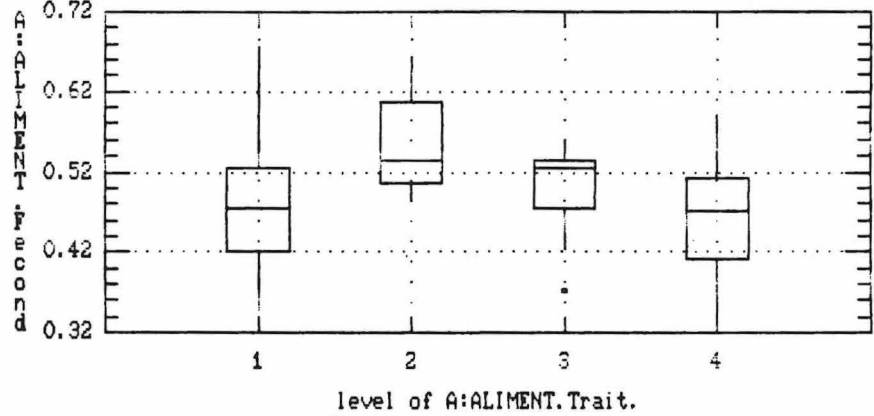


Fecundation

95 Percent Tukey HSD
Intervals for Factor Means

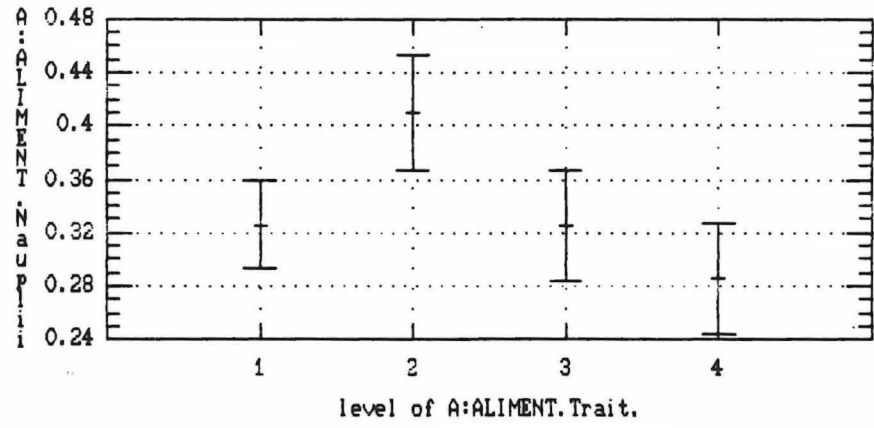


Box and Whisker Plots
for Factor Level Data

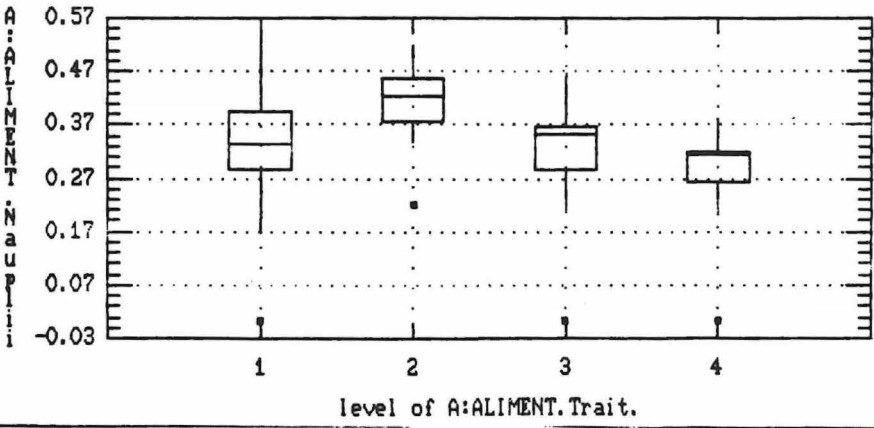


Nauplii dans
Oeuf-

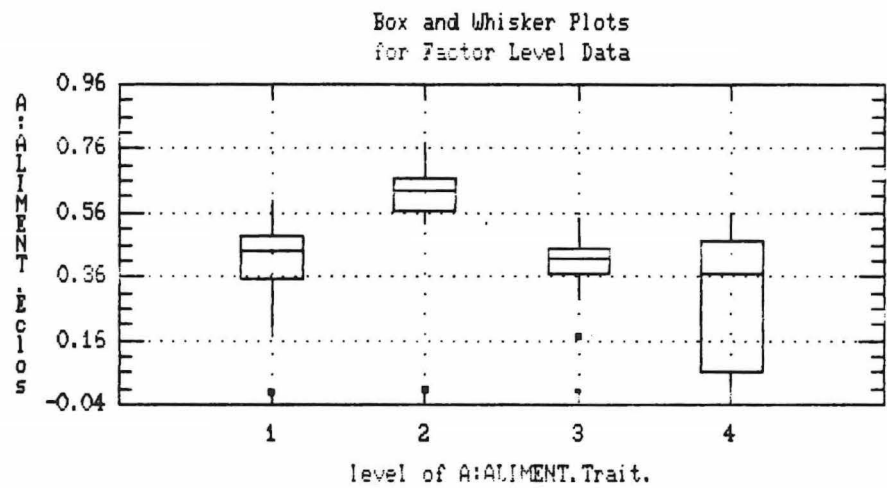
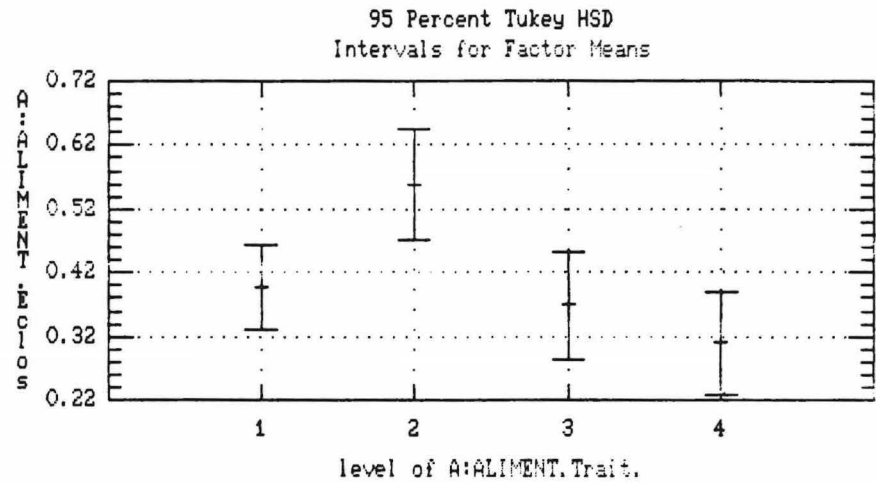
95 Percent Tukey HSD
Intervals for Factor Means



Box and Whisker Plots
for Factor Level Data



Eclosion



-Traitement 4 (nippai').

En accord avec les résultats obtenus en production , on constate que ce régime fournit les moins bonnes performances en terme de qualité de ponte . On notera cependant que les résultats obtenus pour le traitement 4 , s'ils sont plus faibles , ne s'avèrent pas significativement différents de ceux des traitements Moules ou Palourdes .

La figure page 26 nous montre cependant une distribution étendue des valeurs autour de la moyenne du % d'éclosion , avec un poids important des valeurs inférieures. Ceci semble indiquer que le Nippai' , utilisé seul , ne constitue pas un granulé "garantisant" un taux d'éclosion correct.

III.1.2. Autres paramètres.

* Indice de mue.

Les indices de mue des quatre traitements (les mortes n'étant pas prises en compte) ainsi que les temps d'inter-mue ne s'avèrent pas significativement différents . (Test de Student . Comparaison de moyennes $\alpha = 5\%$)

* Indice de ponte.

Un traitement statistique identique au précédent permet la mise en évidence d'une différence significative au niveau de l'indice de ponte entre le traitement 2 et les autres traitements.

Le régime Troca (+Nippai') présente en effet un indice plus faible que celui des autres régimes (0.59 contre 1.26 ; 1.05 ; 1.1)

* % de femelles n'ayant jamais pondu.

Les traitements 1 , 2 , 3 , constituent un groupe homogène pour ce pourcentage. Le traitement 4 (Nippai') fournit , quant à lui , de meilleurs résultats (7.5% contre 15% , 20% , 20%).

* Mortalité.

Le régime 4 Nippai' se distingue à nouveau des autres traitements par une mortalité plus faible : 5% contre 20% , 22% et 17.5% .

III.2. Deuxième phase : Variables concernant le mâle.

Il semblait intéressant de se demander si les différences observées entre les régimes pouvaient impliquer , non seulement la qualité de la femelle et donc le traitement , mais aussi la qualité des mâles.

Pour déclarer l'influence d'un régime , il était indispensable d'éliminer le biais introduit par le mâle ou , s'il existait , de tenter de le prendre en compte .

L'utilisation au hasard de mâles , provenant d'un même stock , dans une période étalée entre 14 et 28 jours post-déspermatation (période considérée

comme optimale) devait théoriquement permettre de minimiser ce facteur.

Une analyse systématique du spermatophore, homologue à celui assurant la fécondation, a permis de préciser la qualité des mâles utilisés.

Un traitement statistique par analyse de la variance à deux critères dans le cas de données non orthogonales (Méthode de RAO) permet de mettre en évidence:

- Une différence significative entre traitements -variable considérée: % d'éclosion- ($F=9.069$ ddl=3 et 17 $\alpha=1\%$)

-Une différence significative entre les mâles.
($F=44.43$ ddl=1 et 17 $\alpha=1\%$)

-Une interaction entre les deux facteurs non significative.
($F<1$ ddl=3 et 17 $\alpha=1\%$)

Ces analyses permettent de tirer les conclusions suivantes :

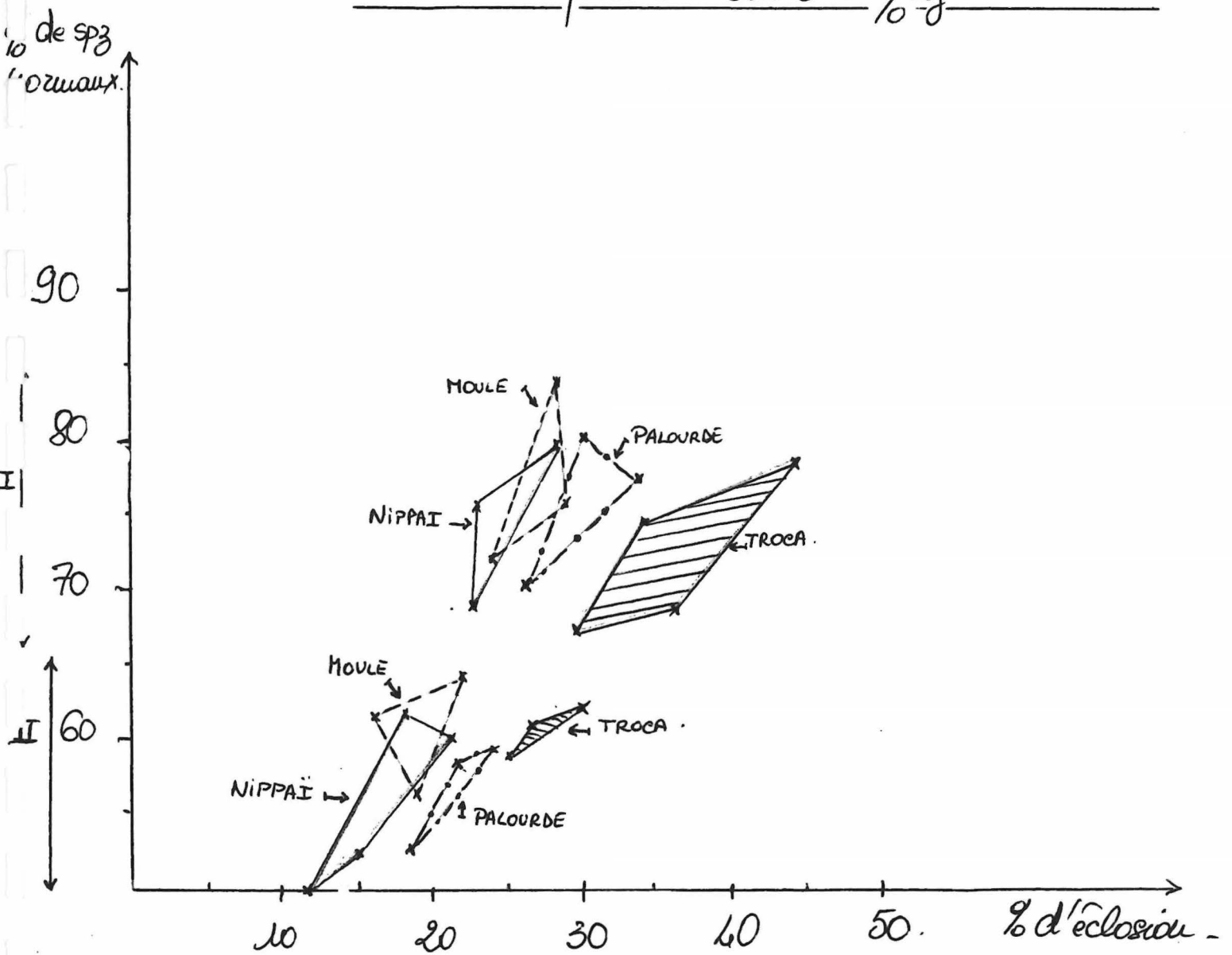
On observe tout d'abord une différence significative entre les mâles. Cette différence est en désaccord avec l'hypothèse d'uniformité des mâles émise sur *P. vannaméi* (Trichereau 1986). Ainsi des mâles utilisés entre 14 et 28 jours post-déspermatation présentent des % de spermatozoïdes normaux allant de 50 à 80% .

Cette analyse permet enfin et surtout de déclarer que la différence entre les traitements, au niveau de la qualité des pontes, n'est pas imputable à des types de mâles différents.

Il n'y a donc pas lieu de considérer un facteur mâle .

Une liaison précise entre les pourcentages de spermatozoïdes normaux du mâle et le taux d'éclosion de la ponte de la femelles a pu être établie (cf graphe page 29). Le facteur mâle étant négligé, cette courbe permet de confirmer les résultats précédents: à " catégorie de mâles égale " (catégorie 1 ou 2), ce sont les femelles nourries au Troca (+ Nippai) qui donnent les meilleurs résultats en terme qualitatif (% d'éclosion). On peut donc considérer que ces femelles ont fourni des ovocytes de meilleure qualité .

Relation: Qualité du ♂ - %age d'éclosion.



I : Categorie 1 $\Rightarrow$ Spermatozoïdes $\left\{ \begin{array}{l} + \text{ de } 50\% \text{ jeunes} \\ \text{de } 50 \text{ à } 65\% \text{ normaux.} \end{array} \right.$

II : Categorie 2 $\Rightarrow$ Spermatozoïdes $\left\{ \begin{array}{l} + \text{ de } 50\% \text{ jeunes} \\ \text{de } 65\% \text{ à } 85\% \\ \text{normaux.} \end{array} \right.$

IV . DISCUSSION GENERALE .

-Le facteur mâle étant écarté , les résultats précédents permettent de montrer une influence positive d'un régime TROCA (+ Nippai) sur la qualité des pontes de *P. stylirostris*.

Parallèlement on note , pour ce régime , un indice de ponte plus faible , peut-être dû à un moindre niveau énergétique de l'aliment Troca ou à une moindre consommation de celui-ci par les animaux d'expérience.

On peut émettre l'hypothèse qu'une fréquence de ponte plus faible pourrait permettre une meilleure préparation par accumulation de réserves sur un temps plus long . Il en résulterait une meilleure qualité des ovocytes.

-Contrairement aux résultats de Chamberlain (1981) sur *P. vannaméi* et *P. stylirostris* , il ne semble pas y avoir , dans cette expérience , d'influence du régime alimentaire sur le cycle de mue .

-Si , en terme de qualité de ponte , le granulé Nippai ne donne pas de bons résultats, on notera que cet aliment se distingue par un indice de ponte correct et un faible % de mortalité (sans doute explicable par un niveau énergétique supérieur de cet aliment ou/et par une moindre pollution des bacs par rapport aux aliments naturels).

-Les différences observées , même si elles sont nettes , doivent cependant être prises avec prudence.

La qualité des proies fraîches subit , en effet au cours de l' année et en fonction de la localisation de leur habitat (Middleditch et al 1980) , une très grande variabilité.

Il semblerait que l'utilisation des moules et trocas pêchés , alors que leurs gonades sont mûres , favorise la viabilité des oeufs chez *P. monodon* (Aquacop 1977). Des résultats similaires sont mis en évidence chez *P. japonicus* (Laubier-Bonnichon et Laubier 1976).

La catégorie de nutriments mise en cause , semble être celles des lipides dont le métabolisme est accentué pendant la période de maturation , du fait de la constitution des réserves de l'oeuf .

Au sein des lipides , de nombreuses observations semblent indiquer que la composition en Acides Gras , notamment ceux que les décapodes sont incapables de synthétiser (AG des séries linoléiques et linolééniques ainsi que les polyinsaturés à longues chaînes qui en dérivent) , est un facteur essentiel dans l'obtention de maturations ovariennes et de pontes (Brown et al 1979 , 1980 . Middleditch et al 1979 , 1980 . Lawrence et al 1980.)

Des profils d'acides gras , réalisés sur *P. setiferus* (Middleditch et al 1979 .) , démontrent dans la gonade du mâle et dans les tissus de la femelle , un taux important d' Acides Gras 20:4 ; 20:5 et 22:6.

L'obtention de maturations et pontes sur cette même espèce grâce à un régime comprenant une annélide riche en 20:4 ; 20:5 et 22:6 , semble préciser les catégories d' acides gras concernées.

Des travaux récents (Cahu , Fauvel et Aquacop 1986) sur *P. vannaméi* , tendent à prouver l'influence des acides gras en C20 et C22 sur la qualité des pontes (% d'éclosion).

Les acides en C20 et C22 , notamment 20:3n-6 , 20:5n-3 , 22:6n-3 , sont enfin des précurseurs de prostaglandines (dérivés partiellement cyclisés des acides gras polyinsaturés supérieurs) chez de nombreux animaux (Galois 1986).

Des expériences in vitro ont montré la synthèse d'une prostaglandine E1 à partir de l' acide 20:3 chez le homard (Christ et Van Dorp 1972). Des résultats similaires sont notés chez l'ecrevisse et le crabe bleu (Nomura et

Ogata 1976; Ogata et al 1978).

Il a enfin été démontré le rôle d'un facteur issu du 20:5n-3 comme facteur d'éclosion des oeufs d'une balane (Clare et al 1982 ; Holland et al 1985). Les données concernant les crustacés sont encore fragmentaires: aucun travail n'implique de prostaglandine endogène.

L'ensemble de ces données laisse supposer une éventuelle liaison entre certaines catégories d'acides gras et des paramètres de reproduction.

Il nous a donc semblé intéressant de récolter différents échantillons des régimes testés afin d'en déterminer les grandes catégories de lipides , les taux de stéroïdes , d'acides gras (HUFA : w3 et w6), les rapports w3/w6 , afin de mettre en évidence d'éventuelles différences à rapprocher des résultats précédents. Ces analyses n'ont à ce jour pas été réalisées.

V. CONCLUSION.

Cette expérience , réalisée sur *P. stylirostris* a permis de dégager deux types de conclusins :

- L'aliment Troca semble fournir de bons résultats en terme de qualité de pontes .

- Le Nippai , quant à lui , entraîne des taux de mortalité faibles et présente un indice de ponte correct allié à un pourcentage faible de "femelles n'ayant jamais pondu".

En terme de production , les variables citées précédemment étant tout aussi importantes que l'aspect qualitatif , on peut proposer pour les animaux en maturation une association Nippai-Troca , tel le régime 2 , avec une proportion augmentée de granulé.

On rappellera enfin que ces résultats ne peuvent être généralisés à l'ensemble de l'année en raison de la variabilité de l'aliment frais .

Des analyses ultérieures devraient permettre de compléter les informations existantes sur le rôle éventuel des acides gras.

VI. BIBLIOGRAPHIE.

- 1) Alikunhi, K.H., A. Poernomo, S. Adisukrès, M. Budiono, and S. Busman. 1975. Preliminary observations on induction of maturity and spawning in *Penaeus monodon* Fabricius and *Penaeus merguensis* de Man by eye-stalk extirpation. Bulletin of the Shrimp Culture Research Center (Pusat Penelitian Udang, Jepara) 1:1-11.
- 2) Aquacop. 1975. Maturation and spawning in captivity of penaeid shrimp: *P. merguensis* de Man, *Penaeus japonicus* Bate, *Penaeus aztecus* Ives, *Metapeneus ensis* de Hann, and *Penaeus semisulcatus* de Haan. Proceedings World Mariculture Society 6: 123-132.
- 3) Aquacop. 1977. Observations on the maturation and reproduction of penaeid shrimp in captivity in a tropical medium. Aquaculture Workshop International Council for Exploration of the Seas, May 10-13 1977, Brest, France, pp 1-34.
- 4) Aquacop. 1979. Penaeid reared broodstock: closing the cycle of *P. monodon*, *P. stylirostris* and *P. vannamei*. Proceedings World Mariculture Society 10:445-452.
- 5) Aquacop. 1982. Constitution of broodstock, maturation, spawning and hatching systems for penaeid shrimps in the Centre océanologique du Pacifique. In Handbook of mariculture Vol 1: Crustacean Aquaculture. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, USA 1983.
- 6) Arnstein, D.R., and T.W. Beard. 1975. Induced maturation of prawn *Penaeus orientalis* (Kishinouye) in the laboratory by means of eyestalk removal. Aquaculture 5:411-412.
- 7) Beard, T.W., J.F. Wickins, and D.R. Arnstein. 1977. The breeding and growth of *Penaeid merguensis* de Man in laboratory recirculation systems. Aquaculture 10:275-289.
- 8) Beard, T.W. and J.F. Wickins. 1980. Breeding of *Penaeus monodon* Fabricius in laboratory recirculation tanks. Aquaculture 20:79-89.
- 9) Brown, R. Jr., J. Mc Vey, B.S. Middleditch, and A.L. Lawrence. 1979. The maturation of white shrimp (*Penaeus setiferus*) in captivity. Proceedings World Mariculture Society 10:435-444.
- 10) Cahu, C. C. Fauvel et Aquacop. 1986. Effect of food fatty acid composition of *P. vannamei* broodstock on egg quality. International Council for the exploration of the Sea. Mariculture Committee.
- 11) Chamberlin, G.W. and A.L. Lawrence. 1981. Maturation, reproduction and growth of *Penaeus vannamei* and *P. stylirostris* fed with natural diets. In: J. World Mariculture Soc. 12(1):209-224.
- 12) Christ, E.J., D.A. Van Dorp. 1972. Comparative aspects of prostaglandin biosynthesis in animal tissues. Biochim. Biophys. Acta, 270, 537-545.
- 13) Clare, A.S., G. Walker, D.L. Holland, D.J. Crisp. 1982. Barnacle egg hatching.

- 14) Emmerson , L.D. 1980. Induced maturation of prawn *Penaeus indicus*. Marine Ecological Progress Series 2:121-131.
- 15) Galgani , M.L. 1986. Influence du regime alimentaire sur la reproduction en captivité de *Penaeus vannamei* et *Penaeus stylirostris*. Rapport de stage C.O.P. Ifremer .Tahiti.
- 16) Galgani , M.L. 1987. Influence du régime alimentaire sur la reproduction en captivité de *Penaeus Indicus* . Rapport de stage , C.O.P. Ifremer Tahiti.
- 17) Galois , R. 1987. Metabolisme lipidique et besoin en lipides neutres chez les crustacés décapodes dans "La nutrition des crustacés et des insectes . Compte rendu du Colloque organisé par le centre national de coordination des études et recherches sur la nutrition et l'alimentation (C.N.E.R.N.A.) Mai 1986. Coordinateur du colloque : C.L. Léger.
- 18) Hanson , J.A. , J.E. Huguenin and H.L. Goodwin . 1976. Marine shrimp farming in the Americas. The Oceanic Institute Waimanolo Hawai, 108 p.
- 19) Holland , D.L., J. East , E. Clayton , and A. Oldfield .1985. Identification of the hatching factor of the barnacle *Balanus Balanoides* as a novel ecosanoïde 10,11,12- trihydroxy-5,8,14,17 -eicosatetraenoïc acid . Prostaglandins,29,1021-1029.
- 20) Kemelec , J. A. and I. R. Smith .1980. Induced ovarian developement and spawning of *Penaeus plebejus* in a recirculating laboratory tank after unilateral eyestalk enucleation . Aquaculture 21:55-62.
- 21) Laubier-Bonnichon , A. et L. Laubier.1976. Reproduction contrôlée chez la crevette *Penaeus japonicus* . F.A.O. Technical conference on Aquaculture , Kyoto , Japon. FIR:AQ/CONF/76/E.36 6pp.
- 22) Lawrence , A.L. , Y. Akamine , B.S. Middleditch , G.W. Chamberlain , and D.L. Hutchins. 1980. Maturation and reproduction of *Penaeus setiferus* in captivity . Proceedings World Mariculture Society.
- 23) Leung-Turjillo , J. R., and A.L. Lawrence .1984. Observation on the decline in sperm quality of *P. setiferus* under laboratory conditions-In Press-
- 24) Lichatowich , T. ,T. Smalley, and F.D. Mate.1978. The natural reproduction of *Penaeus merguensis* (de Man 1888) in an earthen pond in Fidji. Aquaculture 15:377-378.
- 25) Middleditch , B.S., S.R. Missler , D.G. Ward, J.P. Mc Vey , A. Brown , and A.L. Lawrence.1979. Maturation of penaeid shrimp : dietary fatty acids. Proceedings World Mariculture Society , 10 , 472-476.
- 26) Middleditch , B.S. , S.R. Missler , H.B. HINES , E.S. Chang , J.P. Mc Vey , A. Brown and A.L. Lawrence .1980. Maturation of penaeid shrimp: lipids in the marine food webs. Proceedings World Mariculture Society . 11:463-470.
- 27) Nomura , T. , H. Ogata . 1976. Distribution of prostaglandins in the animal kingdom . Biochim. Biophys. Acta , 431 , 127-131.
- 28) Nurjana , M.L. and W.T. Yang .1976. Induced gonad maturation , spawning , and postlarval production of *Penaeus merguensis* de Man. Bulletin of the Shrimp culture Research center II (1 and 2): 177-186.

- 29) Ogata , H. , T. Nomura , and M. Hata .1978. Prostaglandin biosynthesis in the tissue homogenates of marine animals . Bull. japan. Soc. scient. Fish. , 44 , 1367-1370.
- 30) Prawn Maturation Team of Seafdec .1976. Development of a broodstock of the tiger prawn *Penaeus monodon* Fabricius. Technical Report n° 1.
- 31) Primavera , J.H. 1978. Induced maturation and spawning in five-month-old *Penaeus monodon* Fabricius by eyestalk ablation . Aquaculture 13:355-359.
- 32) Primavera J.H. , E. Borlongan , and R. A. Posadas.1978. Mass production in concrete tanks of sugpo *Penaeus monodon* Fabricius spawners by eyestalk ablation. Fisheries Research Journal of the Philippines 3:1-12.
- 33) Primavera , J.H. , C. Lim , and E. Borlongan.1979. Effect of different feeding regimes on reproduction and survival of ablated *Penaeus monodon* Fabricius. Southeast Asian Fisheries Development Center , Aquaculture Department , Quarterly Research Report 3:12-14.
- 34) Primavera , J.H. , and R.A. Posadas.1980. Studies on the egg quality of *Penaeus monodon* Fabricius based on morphology and hatching rates. Contribution n°70 , Southeast Asian Fisheries Development Center , Aquaculture Department . 18pp.
- 35) Primavera J.H. , T. Young , and C. de los Reyes . 1980. Survival , maturation , fecundity , and hatching rates of unablated and ablated *Penaeus indicus* H.M. Edwards from brackish water ponds . Contribution n°59 , Southeast Asian Fisheries Development Center , Aquaculture Department , presented at the International Symposium on coastal Aquaculture , 12-18 January 1980 , Cochin , India. 14pp.
- 36) Trichereau , J. 1986. La régénération du spermatophore de *P. vannamei* . Rapport de stage C.O.P. IFREMER Tahiti.