



Unité de Service Enseignement  
et Formation en Elevage  
Campus de Baillarguet  
TA A-71 / B  
34 398 MONTPELLIER Cedex 5



Université Montpellier II  
UFR - Fac de Sciences  
Place Eugène Bataillon  
34 095 MONTPELLIER Cedex 5

## MASTER

**BIOLOGIE GEOSCIENCES AGRORESSOURCES ENVIRONNEMENT**

**SPECIALITE ECOLOGIE FONCTIONNELLE ET DEVELOPPEMENT DURABLE**

**PARCOURS ELEVAGE DES PAYS DU SUD :**

**ENVIRONNEMENT, DEVELOPPEMENT**

## RAPPORT DE STAGE DE SECONDE ANNEE

Contribution à la connaissance et à la mise au point d'un  
protocole d'élevage d'une nouvelle espèce destinée à  
l'aquariophilie marine tropicale,  
le gobie magnifique, *Amblyeleotris aurora*

Présenté par

**Gabriel Bidawid**

Réalisé sous la direction de : Dr Muthuwan Vorathep

Organisme et pays : Institut des Sciences Marines de l'Université de Burapha, Thaïlande

Période du stage : Avril – Août 2008

Date de soutenance : 15 Septembre 2008

**CIRAD-Dist**  
UNITÉ BIBLIOTHÈQUE  
Baillarguet

Année universitaire 2007-2008



## Résumé

Chaque année, plus de 20 millions de poissons tropicaux soit environ 1471 espèces, sont capturés, chaque année, pour approvisionner le marché aquariophile marin. Plus les poissons deviennent rares, plus les pêcheurs, dans beaucoup de régions, se tournent vers des méthodes destructrices comme l'emploi du cyanure ou les explosifs. Sur la planète, 30 % des récifs coralliens ainsi que les écosystèmes leur étant associés ont déjà disparu à cause de l'Homme. C'est dans ce contexte que ce stage à l'Institut des Sciences Marines de Burapha trouvait toute sa pertinence. Participer à l'effort de recherche pour la diversification des espèces coralliennes maîtrisées en éclosion marine tropicale. Pour cela, le travail effectué allait se concentrer sur la reproduction et sur l'alimentation des larves d'une espèce d'intérêt aquariophile qui n'est pour l'instant, disponible que dans la nature.

Le choix d'une espèce pour cette étude s'est arrêté sur le gobie magnifique de la famille des Gobiidae : *Amblyeleotris aurora*. Le comportement de reproduction du couple de géniteurs a été facilement obtenu en captivité. Il suffit pour cela d'apporter des conditions environnementales favorables à cette espèce.

A 29 °C en moyenne, le temps entre deux pontes est exactement de 20 jours. Le jour de la ponte, le couple reste caché et ne se nourrit pas se nourrissent. Ce changement radical de comportement constitue le meilleur indicateur de l'imminence de la ponte. La ponte commence généralement à la tombée de la nuit, et dure 75 minutes ( $\pm 10$  min). La fertilisation par le mâle se passe en même temps que le dépôt d'œufs sur les parois du nid effectuée par la femelle. C'est le mâle qui prend soin des œufs pendant toute l'incubation qui dure 80 heures ( $\pm 4$  heures) à 29 °C, soit 96 degrés jours.

Les œufs non fécondés ont une forme circulaire. Le diamètre moyen d'un œuf non fécondé est de :  $0,35 \pm 0,03$  mm. Un œuf fécondé à 24 HPF a une longueur de  $0,87 \pm 0,01$  mm et une largeur de  $0,45 \text{ mm} \pm 0,01$  mm. Cette taille n'augmente plus avec la suite du développement embryonnaire. Le taux de fertilisation mesurée a été compris entre : 88.5 % et 94.5 %. Le taux de malformation embryonnaire a été compris entre 21 % et 26 %. Une ponte d'*Amblyeleotris aurora* est supérieure à 70'000 œufs.

Le nombre de larves ayant éclos au cours des différentes expériences a été compris entre 20150 et 27420. A la naissance, la longueur moyenne du corps d'une larve est de :  $1.73 \pm 0,04$  mm.

Des taux de survie significativement plus élevés ont été obtenus : avec un transfert précoce des œufs et du mâle dans le bac d'éclosion, avec des conditions d'élevages larvaire réduisant un maximum la tension superficielle de l'eau, ainsi qu'avec une alimentation en mésocosme incluant des ciliés marins. Des recherches supplémentaires seront cependant nécessaires pour évaluer et comprendre les besoins nutritionnelles des larves d'*Amblyeleotris aurora*.

**Mots clés :** *Amblyeleotris aurora*, gobie magnifique, élevage, Thaïlande, éclosion marine, reproduction, alimentation larvaire.

## Abstract

Each year, over 20 millions of tropical fishes, approximately 1471 species, are captured for the marine aquarium trade. As the fishes get rare, fishermen, in many regions, are turning into very destructive fishing methods, such as cyanure or explosives. On the planet, already 30% of coral reefs and ecosystems have dissapeard because of human acivities.

In this context, the « Marines Sciences Institut» of Burapha takes all its importance. It participates to research for coral reefs species diversification in tropical marine hatchery. The work consists in concentrating on reproduction and alimentation of larvas of and aquariophile interest that are only available in wildlife.

The choice for this study has been made on a member of the goby family : *Amblyeleotris aurora*. The reproductive comportement of genitoral couple was easy to obtain in captivity. It just took to bring good environmental conditions to this species.

At 29 °C, time between two spawning is exactly of 20 days. On the spawning day, the couple is hiding and stop eating. This radical change in behaviour is the best indicator of the imminent spawning. The spawning usually starts at sunset and lasts for 75 minutes ( $\pm 10$  min). The fertilization by the male happens on same time that female drops the eggs on the nests walls. The male takes care of the eggs during all the incubation period that lasts for 80 hours ( $\pm 4$  hours) at 29 °C, equals 96 degrees days.

Non fertilized eggs have a circular shape. Average diameter of an unfertilized egg is: 0.35 mm ( $\pm 0.03$  mm). A fertilized egg at 24 HPF has a length of 0.87 mm ( $\pm 0.01$  mm) and a width of 0.45 mm ( $\pm 0.01$  mm). The size does not increase with the embryonic development. The fertilisation rate was mesured between: 88.5 % and 94.5 %. The embryonic malformation rate was between 21 % and 26 %. *Amblyeleotris aurora* spawning is over 70'000 eggs.

The amount of hatched eggs during several experiments was comprised between 20'150 and 27'420. At birth, larva body size is: 1.73 mm ( $\pm 0.04$  mm).

Significant higher survival rates were obtained: with a premature transfert of eggs and male into hatching tanks, with larval breeding conditions that would decrease to a maximum the superficial water tension, as well a feeding with mesocosm including marine ciliates. Some further research will be necessary to evaluate et understand the nutritional needs of *Amblyeleotris aurora* larvas.

**Key words :** *Amblyeleotris aurora*, pinkbar goby, breeding, Thaïland, marine hatchery, reproduction, larval feeding.

# Sommaire

Résumé et mots clés

Abstract and Keywords

Sommaire

Introduction (Page 6)

## I. Contexte et phase préliminaire du stage (Page 9)

### I.1. Lieu du stage

I.1. a) L'Institut des Sciences Marines de Burapha (ISMP)

I.1. b) L'UR d'aquaculture marine

I.1. c) L'écloserie marine tropicale de Burapha

### I.2. Phases préliminaires du stage

I. 2. a) Les deux premières semaines

I. 2. b) L'acquisition des protocoles de reproduction des espèces déjà maîtrisées

I. 2. c) Sélection d'une espèce: *Amblyeleotris aurora*

## II. Matériels et Méthodes (Page 18)

### II. 1. Le matériel biologique : *Amblyeleotris aurora* (famille des *Gobiidae*)

II. 1. a) La famille des gobies

II. 1. b) *Amblyeleotris aurora*

### II. 2. Les conditions d'élevage des géniteurs

II. 2. a) Les bacs d'élevages

II. 2. b) Les conditions environnementales

### II. 3. L'observation du comportement de cette espèce

## II. 4. Ponte, développement embryonnaire et éclosion

II. 4. a) Première ponte

II. 4. b) De la deuxième à la quatrième ponte

II. 4. c) La cinquième ponte

II. 5. d) La sixième ponte

## II. 5. Développement larvaire

II. 5. a) Groupe 1

II. 5. b) Du groupe 2 au groupe 6

## II. 6. Culture de planctons

II. 6. a) Espèces de plancton cultivées à l'ISMB employées pour cette étude

II. 6. b) Culture de ciliés marins

## II. 7. Rôle des différentes espèces de plancton sur la survie des larves

## III. Résultats (Page 27)

### III. 1. Comportement de reproduction d'*Amblyeleotris aurora*

III. 1. a) Comportement inter ponte

III. 1. b) Comportement le jour de la ponte

### III. 2. Caractéristiques de la ponte

### III. 3. Caractéristiques du développement embryonnaire

### III. 4. Caractéristiques du développement larvaire

### III. 5. L'effet de la première alimentation sur le taux de survie larvaire

## IV. Discussion (Page 33)

## Conclusion (Page 40)

## Bibliographie (Page 42)

## Introduction

Plus que jamais, les récifs coralliens, plus grandes constructions réalisées par des êtres vivants, (comme en témoigne la Grande Barrière de Corail en Australie qui s'étend sur plus de 2000 km), sont en danger de disparition. Selon le Programme des Nations Unies pour l'Environnement (PNUE-WCMC, 2006), 30 % des récifs coralliens ainsi que les écosystèmes leurs étant associés, ont déjà disparu. Selon ce même rapport, 80 % des récifs du Sud-est asiatique sont fortement menacés. Il est également estimé, qu'environ 60% des récifs seront perdus d'ici 2030 (par une trop forte pression anthropique), si aucune mesure de protection efficace n'est mis en œuvre (PNUE-WCMC, 2006).

Avec une démographie mondiale croissante, la demande en produits de la mer a elle aussi augmenté. Or malgré des techniques de pêche de plus en plus performantes depuis les années 1990, on assiste à une diminution des stocks naturels dont la conséquence est une régression des quantités débarquées (voir la figure 1). De plus, le nombre de ressources marines surexploitées est de plus en plus important (FAO, 1995).

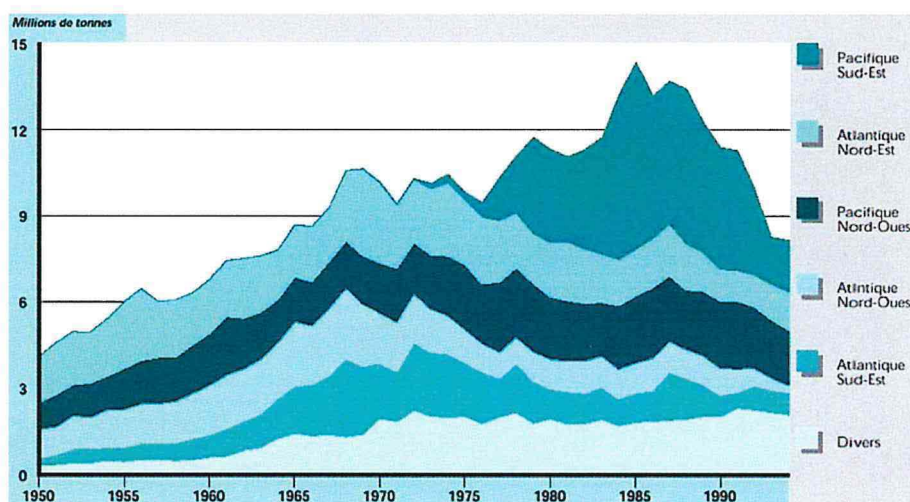


Fig. 1 : Quantités de produits de la mer (en millions de tonnes) débarquées au niveau mondial pendant la deuxième moitié du XXème siècle. (Source : FAO, 1995)

Mais quelles sont les causes de cette disparition ? Selon les deux rapports majeurs en la matière, mis en œuvre par le programme de nations unies pour l'environnement (PNUE, 2003, 2006), voici les principales raisons :

Tout d'abord, la pollution. La circulation maritime générale, les rejets des centres urbains, les accidents de transport de composés chimiques dangereux et les pollutions liées à l'exploitation de gisements de pétrole off shore sont des sources de polluants toxiques.

Or, les hydrocarbures, les polluants organiques persistants, les pesticides et les cyanures perturbent la fécondation et la fixation de certaines larves des polypes, ou sont susceptibles d'inhiber la photosynthèse de ces algues symbiotiques entravant, de ce fait, le renouvellement des colonies et la restauration des récifs déjà dégradés par l'homme. Les herbicides peuvent provoquer le blanchissement des coraux en induisant l'expulsion par les polypes des zooxanthelles, ces algues unicellulaires vivant en symbiose avec le corail. De plus, les herbicides entraînent de graves conséquences sur les herbiers récifaux : diminution de l'activité photosynthétique, durée de reconstitution allongée après une destruction, etc.

Les écosystèmes récifaux sont également détruits directement lors de prélèvements de matériaux de construction ou lors de l'aménagement de ports, de zones industrielles, de marinas qui accompagnent notamment le développement du tourisme balnéaire.

Partout dans le monde, les coraux subissent les effets du réchauffement climatique et notamment, ceux du phénomène El niño qui se traduit par une augmentation de la température des eaux de surface. Or les coraux sont très sensibles aux variations de température. Une augmentation de 1 à 2 °C suffit pour que les polypes commencent à expulser leurs algues symbiotiques, ce qui provoque le fameux blanchiment des coraux.

Or, l'élévation actuelle de la température de l'eau océanique contribue à l'accroissement des maladies de coraux, rendus plus vulnérables. La fréquence de ces maladies a augmenté de manière significative ces dernières années (Spalding *et al.*, 2001). La synergie de facteurs stressants et de l'élévation des températures a eu pour effet d'accroître un certain nombre de pathologies infectieuses. Des cas de maladies d'origine bactérienne : maladie de la bande noire et maladie de la bande blanche ont ainsi été observées un peu partout de façon irrégulière, principalement dans les Caraïbes où des récifs coralliens entiers ont été décimés par la maladie.

A cela, la dégradation des récifs coralliens fait courir à la pêche et aux populations locales un risque supplémentaire: l'apparition de la ciguatera (PNUE- WCMC, 2006). Sur les coraux morts se développe systématiquement une algue filamenteuse et avec elle une algue microscopique toxique. Ingérée par les animaux herbivores qui, à leur tour, servent de nourriture aux poissons carnivores, la ciguatoxine se concentre sur toute la chaîne alimentaire. Dernier maillon de la chaîne, l'homme tombe malade lorsqu'il ingère du poisson infesté.

Dans certaines régions la demande en produits de la mer dépasse largement la capacité productrice des écosystèmes récifaux, surtout quand ceux-ci subissent déjà d'autres pressions humaines. Dans certains cas, l'élimination des poissons les plus prisés qui sont aussi les plus gros prédateurs a complètement bouleversé l'écologie des récifs (Russ *et al.*, 2004). Plus les poissons deviennent rares, plus les pêcheurs, dans beaucoup de régions, se tournent vers des méthodes destructrices comme l'emploi du cyanure ou les explosifs, ce qui dégrade encore plus les écosystèmes récifaux. A tous les niveaux, la pauvreté, les inégalités et le surpeuplement de certaines zones, conditionnent l'utilisation des ressources (PNUE- WCMC, 2006).

Ainsi, la pêche au cyanure a débuté dans les années 1960 aux Philippines et était destinée à alimenter le commerce international des poissons d'aquarium et des poissons vivants destinés à la restauration asiatique (PNUE-IUCN, 2003). En effet, le cyanure accroît de manière considérable le nombre de poissons capturés en les rendant lents et maladroitement mais tue également les coraux et de nombreux autres animaux transformant ces forêts tropicales sous-marines en désert. Pour chaque poisson pêché vivant à l'aide du cyanure, un mètre carré de récif est détruit (PNUE-WCMC, 2006). Depuis les années 1960, plus de 1000 tonnes de cyanure ont été déversés sur les récifs des Philippines (PNUE-WCMC, 2006).

La pêche aux explosifs reste cependant la méthode de pêche la plus destructrice pour les récifs coralliens. Ils sont généralement lancés vers le récif et explosent à la surface de l'eau. L'onde de choc provoquée tue la majorité des espèces de poissons et cause d'énormes dégâts à la structure du récif.

L'accroissement de la pression de pêche, que ce soit en termes de quantité, de méthodes ou d'utilisation de ses produits, tient au développement de nouvelles technologies et de nouvelles demandes émanant d'une population mondiale toujours plus importante (PNUE-WCMC, 2006). L'amélioration des transports et des techniques de conservation en aquarium pour l'aquariophilie ou la restauration a créé des débouchés importants pour des poissons et invertébrés vivants qui sont vendus à des prix très supérieurs à ceux pratiqués sur les marchés traditionnels pour l'alimentation. En se cumulant, ces deux types de demandes ont d'ores et déjà dépassé les capacités productives des récifs dans beaucoup d'endroits (PNUE-WCMC, 2006).

L'aquariophilie constitue un hobby non négligeable chez les particuliers puisque le nombre de passionnés aux Etats Unis est estimé à 10% de la population (Kerstitch, 1995), et que la demande des aquariophiles ne cesse d'augmenter ces dernières années alors que des signes très nets de la diminution des stocks se font sentir (Gomes, 1996, FAO, 1995). En cause une pression humaine en constante croissance, ainsi que l'utilisation de méthodes de pêches destructrices.

Selon l'étude la plus complète jamais effectuée jusqu'ici, plus de 20 millions de poissons tropicaux soit 1471 espèces, sont capturés, chaque année, pour approvisionner le marché aquariophile marin aux Etats-Unis et en Europe et dans une moindre mesure au Japon (PNUE-IUCN, 2003). A cela, il faut ajouter les quelques 9 à 10 millions d'autres animaux marins, dont les mollusques, les crevettes et les anémones, soit environ 500 espèces, qui sont également vendues pour décorer les bacs des aquariophiles (PNUE-IUCN, 2003). Le corail n'est pas en reste puisque chaque année, environ 12 millions de coraux durs sont récoltés, transportés et vendus (PNUE-WCMC, 2006).

Il est estimé que la valeur à l'export des animaux marins d'aquarium rapporte chaque année, plus de 174 millions de dollars américain (USD) ce qui correspond à une valeur à l'import de 257 millions USD (FAO, 2001). Les États-Unis, l'Europe et le Japon sont les marchés où la demande est la plus forte et les exportations vers ces débouchés commerciaux augmentent en moyenne de 14 % par an depuis 1985 (FAO, 2001).

Selon le rapport du PNUE-WCMC (2006), Il est estimé que la pêche dans les récifs rapporte entre 15000 et 150000 USD par kilomètre carré et par an. En l'an 2000, 1 kg de poissons d'aquarium rapportait presque 500 dollars, alors que 1 kg de poissons récifaux pour la consommation alimentaire avait une valeur de 6 dollars. De même, le commerce de corail vivant rapporte 7 000 USD par tonne contre 60 USD pour le corail calcifié. Or, sur 100 poissons marins tropicaux à la vente, seulement 1 provient d'un élevage, contrairement aux poissons d'eau douce pour lesquels on considère que seuls 10 % sont encore pêchés dans le milieu naturel (PNUE-IUCN, 2003).

Dans ce contexte, l'aquaculture marine apparaît comme une solution durable, car elle pourrait permettre d'alimenter le marché en espèces coralliennes vivantes sans prélèvement dans le milieu naturel. En considérant ceci, on peut penser que les fermes de poissons tropicaux marins ont un potentiel de développement énorme, d'autant plus que les techniques et les connaissances dans ce domaine ne cessent de s'accroître. Cependant, les progrès qui sont encore à faire dans ce domaine sont d'autant plus grands que la marge de progrès dont dispose cette toute jeune science qu'est l'aquaculture marine tropicale est encore très importante.



L'aquaculture pour la production alimentaire connaît un développement constant depuis le début des années 80 (voir annexe 1) et constitue le secteur agricole avec la plus forte croissance au niveau mondiale (FAO, 2005). Rien qu'entre 1995 et 2004 la production mondiale a enregistré une hausse de près de 9 % par an (FAO, 2005). Le moteur de ce phénomène, est que la production de poisson issue de la pêche n'est plus en mesure de nourrir la planète en produits aquacole (FAO, 2005). Par tarissement et surexploitation des stocks naturels, les quantités débarquées régressent depuis la fin des années 90 (FAO, 2005).

L'aquaculture semble pouvoir prendre la relève et pallier cette diminution, à condition qu'elle trouve une alternative durable aux farines de poisson (FAO, 2005) ainsi qu'une source d'approvisionnement massive de juvéniles de bonne qualité (Planas *et al.*, 1998). En effet, une des principales limites au développement et à la multiplication des fermes d'élevage de poissons marins tropicaux destinés à l'alimentation, est l'incapacité des éclosiers à fournir des juvéniles de haute qualité, en quantité suffisante pour approvisionner le marché (Battaglene *et al.*, 2007).

Pour l'aquaculture marine tropicale ornementale, les défis techniques sont plus importants. D'autant plus, que l'effort scientifique dévolu à cette activité est moindre que pour la production aquacole destinée à l'alimentation. A l'heure actuelle, la production d'espèces coralliennes à une échelle commerciale, n'est maîtrisée que pour 25 espèces (Olivetto *et al.*, 2006). Il existe deux principales limites à la maîtrise du cycle biologique complet de la plupart des espèces coralliennes trouvées sur le marché de l'aquariophilie :

Premièrement, l'acclimatation des géniteurs est souvent longue et difficile ce qui rend rarissime les faits de reproduction en captivité de bon nombres d'espèces (Bransden *et al.*, 2007, Morehead *et al.*, 2001 Olivetto *et al.*, 2005, Olivetto *et al.*, 2006, Butts *et al.*, 2007) .

Deuxième problème, est pas des moindres, les larves sont souvent de très petite taille, occasionnant une alimentation larvaire complexe voir inconnue dans encore bon nombre de cas. La qualité optimale de la première alimentation en terme de : nutrition, taille et de quantité, ainsi que son bon timing, est reconnu comme : La phase critique du cycle biologique des poisson, car elle va directement conditionner le taux de survie des larves (Yùfera *et al.*, 2007 ; Rabe *et al.*, 2000 ; Olivotto *et al.*, 2005 ; Olivotto *et al.*, 2006a ; Olivotto *et al.*, 2006b ; Gilbert *et al.*, 1997 ; Mathew *et al.*, 2007 ; Battaglene *et al.*, 2007 ; Zambobino *et al.*, 2007 ; Duray *et al.*, 1997).

C'est dans ce contexte que ce stage trouvait toute sa pertinence. Participer à l'effort de recherche pour la diversification des espèces coralliennes maîtrisées en éclosier marine tropicale. Pour cela, le travail effectué allait se concentrer sur la reproduction et sur l'alimentation des larves d'une espèce d'intérêt ornementale qui n'est pour l'instant, disponible que dans la nature. L'objectif (peut-être utopique) étant de pouvoir contribuer, même de façon infime, à alléger la pression anthropique sur les écosystèmes coralliens en approvisionnant de façon durable le marché de l'aquariophilie marine.

## I. Contexte et phases préliminaire du stage

### I.1. Lieu du stage

## **I. 1. a) L'Institut des Sciences Marines de Burapha (ISMP)**

Le stage qui a duré cinq mois (d'avril à septembre 2008), s'est passé entièrement au sein de l'unité de recherche d'aquaculture marine de l'institut des sciences marines de l'université de Burapha. Cette université se trouve dans la ville de Bangsien, Province de Chonburi, Sud-Est de la Thaïlande. Bangsien, est en bordure du golfe de Thaïlande. Au niveau national, cette ville et sa région représente un site ostréicole et conchylicole important.

L'institut a été inauguré le 24 juillet 1984, par le Roi de Thaïlande, sa majesté Bumipon IX, avec quatre principaux objectifs pour le futur :

1. Faire de la recherche dans les sciences marines
2. Etre un centre d'éducation du public aux sciences marines
3. Sensibiliser le publique à la conservation des ressources marines et disséminer les nouvelles connaissances en la matière via les médias et des expositions.
4. Fournir un appui scientifique et technique aux professionnels de l'aquaculture.

En 2008, le nombre total de personnes employées par l'institut était de 131 comprenant 98 scientifiques. Le budget total de l'institut est de 1,62 million de dollars américains (USD). 60 % de cette somme provient des subventions de l'état, et 40 % par des sources de revenus trouvés par l'institut lui-même (prix des entrées de l'aquarium et du musée, vente de services comme l'appui scientifique et technique).

L'ISMP est subdivisé en trois parties: le musée des sciences marines, l'aquarium publique et les laboratoires de recherche.

Il y a quatre unités de laboratoires de recherche, chacune s'occupant, de domaines bien distinctes:

1. Unité de recherche sur la biodiversité marine
2. Unité de recherche sur l'environnement marin
3. Unité de recherche sur les biotechnologies marines
4. Unité de recherche dans l'aquaculture marine

C'est dans cette dernière unité de recherche que le stage a été effectué, sous la direction du Dr Muthuwan et du Dr Sawatpira (respectivement directeur et vice-directeur de L'ISMB).

## **I. 1. b) L'UR d'aquaculture marine**

Les principaux accomplissements de l'unité de recherche en aquaculture marine ont été :

- La recherche, le développement et la propagation des techniques pour la culture à une échelle commerciale de l'escargot: *Babylonia areolata* (produit consommé localement pour l'alimentation) (voir la figure 2).
- La recherche, le développement et la propagation des techniques pour la culture à une échelle commerciale de 10 espèces de poissons clowns (*Pomacentridae*) (figure 2).

La recherche, le développement et la propagation de techniques pour la culture de nouvelles espèces à une échelle commerciale, se fait parallèlement avec des programmes de recherches plus précis comme :

- Le développement et la propagation des techniques pour la culture à une échelle commerciale du coquillage dur : *Meretrix meretrix*.
- Le développement et la propagation des techniques pour la culture à une échelle commerciale du coquillage vénus : *Donax faba*.
- L'effet du bouturage sur la croissance des coraux mous : *Sarcophyton sp.*
- Les infections parasitaires par le protozoaire *Cryptosporidium sp.* qui touchent la production d'huîtres sur la côte Est de Thaïlande.



Fig. 2 : A Gauche, photo de *Babylonia areolata* ; A droite, photo de *Amphiprion ocellaris*

Pour ses recherches et ses expériences l'UR d'aquaculture marine dispose de deux supports majeures: une station expérimentale (hors campus), permettant des tests grandeur nature avec les espèces destinées à la consommation alimentaire, et une écloserie principalement tournée vers les espèces ornementales (voir la figure 3). C'est plus exactement dans cette dernière, que le stage s'est déroulé.



Fig. 3 : A gauche, photo de la station expérimentale, A droite, photo d'une partie de l'écloserie

### I. 1. c) L'écloserie marine tropicale de Burapha

L'écloserie compte près de 200 différentes espèces marines tropicales répartis dans un volume d'élevage total de 110 mètres cube. Parmi ces espèces, les principales familles de poissons, de crustacés, de mollusques, et de coraux trouvés sur le marché de l'aquariophilie marine sont représentées. Voici une liste non exhaustive du stock biologique de l'écloserie.

**En poissons (à nageoires rayonnées) (*Actinoptérygiens*) :**

Des poissons clown et des demoiselles (*Pomacentridae*), des poissons anges (*Pomacanthidae*), des poissons chirurgiens (*Acanthuridae*), des poissons papillons (*Chaetodontidae*), des balistes (*Balistidae*), des gobies (*Gobiidae*), des blennies (*blenniidae*), des anthias (*Serranidae*), des labres (*Labridae*), des poissons cardinal (*Apogonidae*), des poissons mandarins (*Callionymidae*), des grammidés (*Grammatidae*), des dottyback (*Pseudochromidae*) et des poissons écureuils (*Holocentridae*).

**En crustacés (*Decapoda*):**

Des crevettes nettoyeuses (*Hippolytidae*), des crevettes arlequin (*Gnathophyllidae*), des Bernard l’Hermite (*Paguroiidae*) et des langoustes tropicales (*Nephropidae*).

**En mollusques (*Molusca*) :**

Des bénitiers (*Tridacnidae*), des abalones (*Haliotidae*), des vénus (*Donacidae*).

**En coraux (*Anthozoa*) :**

Des *Acroporidae*, des *Faviidae*, des *Fungiidae*, des *Sarcophytans*, des *Corallimorphaires*, et des anémones de mers (*Actiniaria*)

**Divers :**

Des requins nurses (*Hemiscylliidae*), des hippocampes (*Syngnathidae*), des algues marines (*Caulerpaceae*) ainsi que divers échinodermes (*Echinodermata*) comme les concombres de mer (*Holothuridae*) et les étoiles de mer (*Asteriodes*).

Certains individus (poissons et coraux) y sont entretenus depuis plus de vingt ans. Les arrivages de nouvelles espèces ne sont souvent pas programmés. Les nouvelles acquisitions se font au grès des opportunités et des disponibilités. L’écloserie se fait livrer l’eau de mer qu’elle utilise par camion citerne. Les conditions environnementales de l’élevage sont naturelles, en effet, il n’y a aucun contrôle de la température et de la photopériode.

Au total, 9 personnes travaillent à plein temps pour répondre aux objectifs de cette structure. Ils sont répartis comme suit :

4 personnes au sein de l’écloserie elle-même (dont une technicienne de laboratoire)

2 personnes pour la production de phytoplancton

1 personne pour la production de zooplancton (rotifères et artémias)

1 personne pour la production de poissons clown à grande échelle

1 coordinateur

Au regard de la biodiversité présente et de la quantité de travail (de « routine ») nécessaire au bon fonctionnement et à l’entretien de l’écloserie, 4 personnes, même à plein temps, sont insuffisantes pour entreprendre des essais de reproduction avec toutes les espèces. Le cycle biologique complet a été maîtrisé pour moins de 15 % des espèces présentes dans l’écloserie. Bon nombre d’espèces, sont donc entretenues sans observation approfondie, attendant d’être étudiées. D’après le Dr. Muthuwan, certaines espèces qui sont connues pour avoir du mal à s’acclimater à la captivité et donc à se reproduire en aquarium, comme les poissons anges, pondent à l’écloserie les nuits de pleine lune. Mais faute de personnel, les œufs sont perdus, évacués dans le système de circulation d’eau général.

Dans ce contexte, tout effort de recherche non rémunéré était le bienvenue. Il n'y avait pas d'obligation pour ce stage, le choix de l'espèce(s) pour une étude approfondie était totalement libre. La maturation finale des géniteurs et la première alimentation des larves sont souvent les deux principales limites au développement et à la diversification de l'aquaculture marine ornementale. C'est pour cela que même si l'espèce n'était initialement pas choisie, l'étude allait principalement s'intéresser au comportement de reproduction et à la première alimentation larvaire d'une espèce encore peu ou pas étudiée.

## I.2. Phases préliminaires du stage

### I. 2. a) Les deux premières semaines

En arrivant à l'ISMB, la première étape a été de rencontrer les différentes personnes y travaillant ainsi que de retenir leur fonction précise au sein de l'Institut. Le travail devait se faire de façon totalement autonome, il était donc important de connaître la place de chaque personne, de savoir où se trouve le matériel, les produits vétérinaires, les différents laboratoires, etc.

Au sein de l'écloserie en elle-même, une connaissance exacte du circuit d'eau utilisé à l'écloserie était primordiale pour éviter, par exemple, de confondre les robinets d'eau douce avec ceux d'eau de mer... De plus, il fallait assimiler la place des divers objets employés pour le travail.

L'écloserie peut s'appuyer sur du personnel qualifié pour la fournir en phytoplancton et zooplancton de qualité. Cependant, il était intéressant de se rafraîchir la mémoire dans ce domaine et d'avoir une bonne vue d'ensemble du travail réalisé dans les unités de production de phytoplancton et de zooplancton. Comme l'alimentation larvaire est « le nerf de la guerre » en écloserie marine tropicale, il est important d'être capable de pouvoir produire soi-même du phyto et du zooplancton...

Les protocoles de production ne vont pas être décrit dans ce présent rapport. Ils sont cependant très similaires aux méthodes énoncées par la FAO (1996). Mais l'entraînement à la production de phytoplancton a commencé par la préparation des milieux de culture, le repiquage des souches mères, puis par les doubléments de volumes successifs (et les contrôles de concentration) qui amènent au volume final de 20 litres directement utilisable pour les besoins de l'écloserie. De même, il était important de connaître les principales caractéristiques des espèces de phytoplancton cultivées à l'ISMB (voir le tableau 1).

Par contre, l'ISMB ne cultive que deux types d'aliment vivant d'origine animal que nous avons appelé grossièrement zooplancton :

- Des rotifères : *Brachionus rotundiformis* d'une taille (naupli – adulte) de : 150 – 250 microns. Ils sont nourris avec *Nannochloropsis oculata*.
- Des artémias : *Artemia salina* d'une taille (naupli-adulte) de : 250 microns – 1 cm. Les artémias du centre sont nourries avec *Tetraelmis suecia*.

Liste des abréviations utilisées dans le tableau 1 (ci-après) :

Prasino : Prasinophyceae ; Chloro : Chlorophyceae ; Barci : Barciliariophyceae ; Hapto : Haptophyceae

Nom de l'espèce	Classe	Couleur	Forme	Taille (Microns)	Concentration en culture (cellules/ml)
<i>Tetracelmis suecia</i>	Prasino	Verte	Ovale	7 - 12	4 x10 <sup>6</sup>
<i>Nannochloropsis occulata</i>	Chloro	Verte	Sphérique	1 - 2	40 x10 <sup>6</sup>
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	Barci	Marron	Cubique	4 - 5	5 x10 <sup>6</sup>
<i>Isochrysis galbana</i>	Hapto	Marron	Sphérique	2 - 3	17 x10 <sup>6</sup>
<i>Chorella stigmatophora</i>	Chloro	Verte	Sphérique	1 - 2	40 x10 <sup>6</sup>
<i>Skeletonema costatum</i>	Barci	Verte	Allongée	5 - 8	3 x10 <sup>6</sup>
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	Barci	Verte	Allongée	12 - 40	5 x10 <sup>6</sup>

Tableau 1 : Liste des espèces phytoplanctoniques cultivées à l'ISMB ainsi que leurs principales caractéristiques.

## I. 2. b) L'acquisition des protocoles de reproduction des espèces déjà maîtrisées

Avant de s'intéresser à une nouvelle espèce et essayer de la reproduire, il était important d'acquérir les techniques d'élevage des espèces déjà maîtrisées au sein de l'écloserie. Les protocoles sont assez simples car ils n'utilisent aucun traitement hormonal et emploient les températures et les photopériodes naturelles. Voici la liste des 23 espèces dont le cycle biologique complet est maîtrisé par l'écloserie de l'ISMB (remarque : cela ne veut pas dire que l'ISMB est capable de toutes les produire à une échelle commerciale):

### **Poissons clowns (Pomacentridae) :**

*Amphiprion ocellaris* ; *A. percula* ; *A. polymnus* ; *A. ephippium* ; *A. frenatus* ; *A. akallopisos* ; *A. clarkii* ; *A. nigripes* ; *A. perideraion* ; *Premnas biaculeatus*.

### **Demoiselle (Pomacentridae) :**

*Paraglyphidodon oxyodon*

### **Cardinal (Apogonidae) :**

*Pterapogon kauderni*

### **Hippocampes (Syngnathidae) :**

*Hippocampus kuda* ; *H. trimaculatus* ; *H. mohnikei* ; *Syngnathoides biaculeatus* ; *Corythoichthys hacurapterus*.

### **Requins nurses (Hemiscylliidae) :**

*Chiloscyllium griseum* ; *C. punctatum*

### **Mollusques (Molusca) :**

*Donax faba* ; *Haliotis asinina* ; *H. ovina* ; *H. varia*

Chacune de ces espèces a ses spécificités biologiques. Le but de ce rapport n'est pas de décrire les protocoles de reproduction ainsi que les itinéraires zootechniques des espèces maîtrisées. Afin d'acquérir de l'expérience et de « se faire la main » aux techniques de travail en éclosion marine tropicale, cette phase de début de stage, a surtout été effectuée avec la star des aquariums marins : le poisson clown « Némé », *Amphiprion ocellaris* (voir figure 2). Comme de nombreux lots, d'âges différents sont disponibles en grandes quantités à l'ISMB, l'entraînement a pu être réalisé pour toutes les étapes importantes de l'élevage de cette espèce :

Formation des couples ; gestion des pontes et de l'incubation, élevage et alimentation larvaire, sevrage post-métamorphose, élevage des juvéniles en conditions intensives jusqu'à la taille commercialisable.

## **I. 2. c) Sélection d'une espèce: *Amblyeleotris aurora***

L'objectif initial de ce stage était d'apporter des connaissances supplémentaires sur une nouvelle espèce marine tropicale destinée à l'aquariophilie. Mais le but à peine avoué, était de réussir à développer un protocole de reproduction et d'élevage d'une espèce dont le cycle biologique complet, n'a encore jamais été maîtrisé en captivité. Pour ce stage, les critères pour le choix d'une espèce ont été les suivants :

- Disponibilité de géniteurs à l'éclosion
- Faisabilité technique
- Possibilité d'obtenir des résultats scientifiques inédits
- Une haute valeur marchande
- Un cycle biologique complet jamais réussi en captivité.

Pour cela, il fallait tout d'abord commencer par l'observation et le recensement de toutes les espèces marines dont dispose l'éclosion (voir partie I.1.c). Celles-ci sont réparties dans des bacs d'élevage d'un volume compris entre 30 litres (aquariums en verre) et 2000 litres (bacs en béton ou en fibre de verre renforcée). Comme certains bacs sont richement décorés, pour reproduire au mieux des conditions environnementales naturelles, il était nécessaire de prendre son temps. En effet, certaines espèces sont particulièrement discrètes, immobiles et camouflées dans le décor. Distribuer la nourriture, est souvent le moyen idéal pour observer les pensionnaires d'un aquarium.

Lors du recensement, des recherches bibliographiques ont été réalisées sur bon nombre d'espèces pour connaître : l'état des connaissances, si le cycle biologique a déjà été maîtrisé en captivité, spécificité de l'espèce, valeur marchande, etc.

Globalement il est possible de classer les principales familles d'espèces destinées à l'aquariophilie, en fonction de la difficulté à maîtriser leur cycle biologique complet (voir la figure 4). La reproduction et l'alimentation larvaire sont quasiment tout le temps les étapes qui posent le plus de problèmes. La figure 4, est une synthèse des données disponibles sur le « Marine Atlas » (Baensch *et al.*, 1997), sur la base de données online Fishbase (2008), et d'une discussion sur le sujet avec le Dr Muthuwan (directeur de l'ISMB).

Le choix d'une espèce pour le stage allait donc se porter vers une famille jugée faisable et donc, se trouvant dans les étages inférieur et moyen de la figure 4. Il est à noter, que de façon générale, le prix d'une espèce est proportionnel à la difficulté de sa maîtrise en éclosion. Les familles qui sont techniquement les moins faisables (en haut de l'échelle, voir figure 4), sont très souvent, les plus chères sur le marché de l'aquariophilie. Comme toujours, la rareté conditionne le prix.

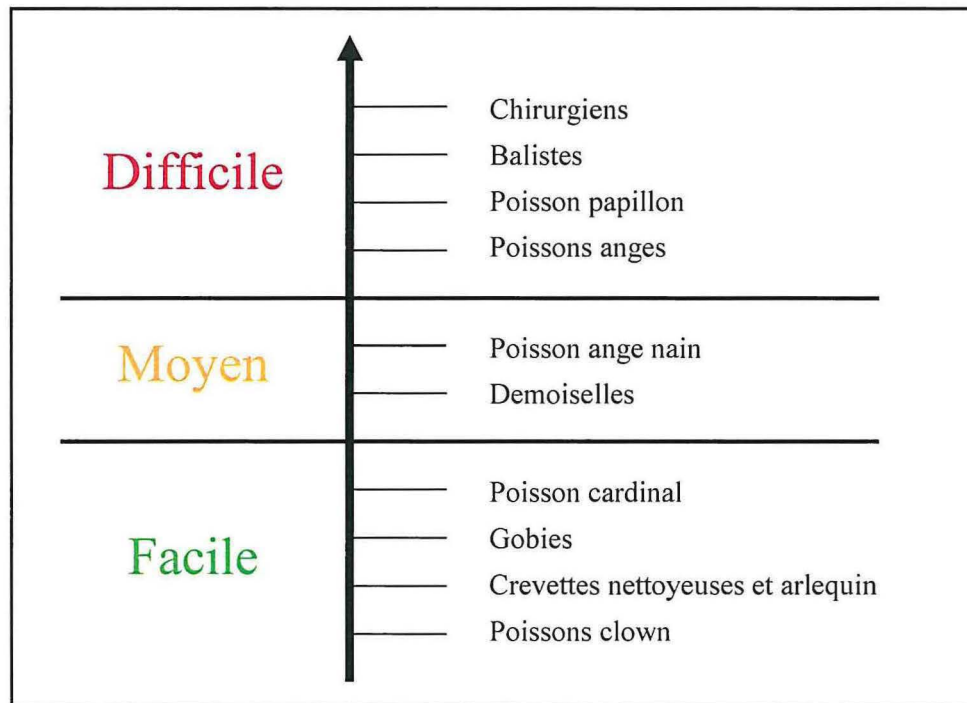


Fig.4 : Echelle (sans unité) du niveau de difficulté (croissant) pour la maîtrise de la reproduction et de l'élevage larvaire des principales familles coralliennes destinées à l'aquariophilie marine.

La sélection d'une espèce pour le stage s'est faite par élimination suivant les critères énoncés précédemment. Certaines familles comme les chirurgiens et les poissons anges ont été directement éliminées, car même après une acclimatation de plusieurs années, il est impossible de maintenir deux individus de la même espèce dans le même bac. Pour cela il faudrait des volumes d'élevages supérieurs à ceux trouvés à l'écloserie (2000 litres). Cinq espèces semblaient pouvoir apporter des résultats intéressants (voir la figure 5). Les essais de reproduction et d'élevage larvaire de ces 5 espèces se sont fait en parallèle. Seules les expériences concernant le poisson cardinal *Apogon cyanosoma* ont débuté un plus tardivement, les géniteurs ayant été reçus par l'écloserie trois semaines après le début de cette phase du stage. Pour chacune de ces espèces, une fiche de suivi d'élevage était réalisée quotidiennement. Les données techniques ainsi que les diverses observations y étaient inscrites.

Les crevettes nettoyeuses et arlequin ont déjà été maîtrisées en captivité mais pas à Burapha. Même si cela semblait intéressant de développer ces espèces pour le compte de l'ISMB (d'autant plus que de nombreuses pontes s'y produisaient régulièrement), les résultats n'auraient pas été inédits. De l'avis du Dr Muthuwan, l'espèce la plus faisable en trois mois sur les cinq retenues, était *Amblyeleotris aurora*. En effet, de nombreux succès d'élevage ont été obtenus avec la famille des gobies. Par contre, aucune étude sur la reproduction et l'élevage de cette espèce n'existe à ce jour. De plus, *A. aurora* a une bonne valeur marchande sur le marché de l'aquariophilie (voir figure 5). Même si les travaux ont continué avec les quatre autres espèces, la décision de se concentrer plus particulièrement sur *Amblyeleotris aurora* était prise.

Pour cette étude, une attention particulière a été portée sur : le comportement de cette espèce (très discrète), ses principales caractéristiques zootechniques, le développement embryonnaire et larvaire, et la première alimentation exogène. La première alimentation a été étudiée selon son incidence sur le taux de survie larvaire.



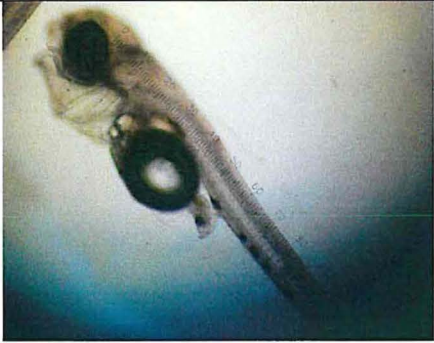




	<p style="text-align: center;"><b><i>Amblyeleotris aurora</i></b></p> <p>Famille : <i>Gobiidae</i></p> <p>Nombre de couples disponibles : 1</p> <p>La reproduction dans la nature ou en captivité, n'a jamais été décrite. Le cycle biologique complet n'a donc jamais été maîtrisé.</p> <p>Prix unitaire (Poisson d'or, 2008): 23,50 €</p>
	<p style="text-align: center;"><b><i>Apogon cyanosoma</i></b></p> <p>Famille : <i>Apogonidae</i></p> <p>Nombre de couples disponibles : 5</p> <p>La reproduction en captivité a déjà été observée en captivité. L'élevage larvaire n'a jamais été maîtrisé.</p> <p>Prix unitaire (Le Grand Bleu, 2008): 15,95 €</p>
	<p style="text-align: center;"><b><i>Pomacentrus pavo</i></b></p> <p>Famille : <i>Pomacentridae</i></p> <p>Nombre de couples disponibles : 3</p> <p>La reproduction en captivité a déjà été observée en captivité. L'élevage larvaire n'a jamais été maîtrisé.</p> <p>Prix unitaire (Le grand Bleu, 2008): 13,50 €</p>
	<p style="text-align: center;"><b><i>Hymenocera picta</i></b></p> <p>Famille : <i>Gnathophyllidae</i></p> <p>Nombre de couples disponibles : 5</p> <p>Le cycle biologique complet a déjà été maîtrisé en captivité (USA). Si de nombreuses pontes ont eu lieu à l'ISMB, l'élevage larvaire n'y a jamais été maîtrisé.</p> <p>Prix unitaire (Poisson d'or, 2008): 23,79 €</p>
	<p style="text-align: center;"><b><i>Lysmata amboinensis</i></b></p> <p>Famille : <i>Hippolytidae</i></p> <p>Nombre de couples disponibles : 3</p> <p>Le cycle biologique complet a déjà été maîtrisé en captivité (USA). Si de nombreuses pontes ont eu lieu à l'ISMB, l'élevage larvaire n'y a jamais été maîtrisé.</p> <p>Prix unitaire (Poisson d'or, 2008): 14 €</p>

Fig.5 : Liste des cinq espèces (photos des larves obtenues et critères de choix pour cette étude) pour lesquelles des essais de reproduction et d'élevage larvaire ont été réalisés lors de ce stage à l'ISMB.

## II. Matériels et méthodes

### II. 1. Le matériel biologique : *Amblyeleotris aurora* (famille des *Gobiidae*)

#### II. 1. a) La famille des gobies (Baensch *et al.*, 1997)

Il existe près de 2000 espèces de gobies, mais, fréquemment, de nouvelles espèces de cette vaste famille des *Gobiidae* sont découvertes. On les retrouve à des latitudes allant des cercles polaires à l'équateur. Ils ont colonisé une grande variété de substrat à travers les mers et les océans, vivant dans la vase, sur les fonds sablonneux, les récifs rocheux et coralliens.

Globalement, les gobies sont des poissons peureux qui se réfugient dans le sable ou dans les anfractuosités du récif à la moindre alerte. Leur taille dépasse rarement les 10 cm mais la plus petite espèce de cette famille (*Trimmatom nanus*) trouvée dans l'archipel des Chagos (Océan Indien) ne dépasse pas les 8 mm. La principale caractéristique des gobies est la présence de deux nageoires dorsales. Cela permet de les distinguer avec d'autres familles similaires comme les blennies qui en ont qu'une seule. De manière générale, il n'y a pas de dimorphisme et de dichromatisme sexuel. Cependant les mâles de certaines espèces vivant dans les eaux tropicales peuvent être identifiés grâce à des couleurs plus vives que les femelles.

Les périodes de ponte varient grandement suivant les espèces et suivant les régions où elles se trouvent. Certaines se reproduisent lors des périodes correspondant aux plus hautes températures alors que d'autres lors de la saison froide. Par contre, les membres de cette famille pondent toujours leurs œufs sur un substrat et non pas, en pleine eau. En général, cela se passe le matin, au lever du jour. La fécondation est externe et se produit après une parade nuptiale qui dure entre une heure et demie. Les œufs peuvent être collés contre les parois de la petite cave naturelle faisant office de nid, sous un rocher ou encore dans une coquille vide. C'est le mâle qui nettoie le nid avant la ponte. De plus, pendant l'incubation qui dure en moyenne entre 5 à 6 jours, c'est lui qui prend soin des œufs en les ventilant.

Le nombre d'œufs pondus dépend de l'espèce. Pour les espèces de gobies connues à ce jour, leur nombre varie entre 10 et 100000. Mais en moyenne, les gobies pondent entre 300 et 500 œufs. Certains gobies peuvent pondre deux à trois fois par semaine mais cela peut aller jusqu'à 9 pontes en deux semaines avec *Gobiosoma oceanops*. La durée de vie de gobies se situe entre une à deux années.

#### II. 1. a) *Amblyeleotris aurora* (Polunin & Lubbrock, 1997), le gobie magnifique

Classe: *Actinoptérygiens*

Ordre: *Perciformes*

Famille: *Gobiidae*

Sous famille: *Gobiinae*

Nom FishBase: Pinkbar goby

Nom commun français: gobie magnifique



Morphologie: Taille maximale : 11 cm Épines dorsales (Total): 7 - 7; Rayons mous dorsaux (Total): 13 - 13; Épines anales 1; Rayons mous anaux: 14. Nageoires caudales avec des points rouges (Polunin & Lubbrock, 1997).

Cette espèce vit dans des environnements de type récifal, ou sur les fonds sablonneux des récifs coralliens. On la trouve à des profondeurs comprises entre 1 et 35 mètres dans les eaux tropicales (21 – 28°C) de l’Océan Indien Ouest: du sud des Maldives au Natal nord, Afrique du Sud, mer des Andaman. Sa résilience est haute, puisque son temps minimum de doublement de population inférieur à 15 mois (Polunin & Lubbrock, 1997).

Dans la nature il vit en symbiose avec une crevette : *Alpheus randalli*, dans des tunnels creusé dans le sable sous les rochers ou les coraux (Banner *et al.*, 1990). Sa catégorie de prix commercial est : très haute (Fishbase, 2008). Un individu de 3 à 5 cm de long, est vendu 23,50 euros chez un détaillant aquariophile belge (Poisson d’or, 2008).

Les expériences de reproduction présentées dans la suite de ce rapport, ont toutes été réalisées à partir d’un seul couple (voir figure 6). Ce couple a été prélevé dans la nature (Océan Indien) au moyen d’un filet, la provenance exacte étant inconnue. Quand l’expérience a commencé, le couple était maintenu depuis 10 mois dans un bac de 2000 litres, reproduisant un écosystème récifales à fond sablonneux et contenant divers espèces de poissons coralliens. Le couple avait élu domicile dans le tuyau de vidange de ce bac. De ce fait, aucune ponte d’*A. aurora* n’avait jamais pu être enregistrée à L’ISMB. Car en cas de ponte, les jeunes larves auraient directement été aspirées et évacuées dans le système de circulation d’eau de l’écloserie.



Fig.6 : Photo du couple de gobies (*A. aurora*) de l’écloserie de Burapha. A droite (de face), le mâle, à gauche (de dos) la femelle.

## II. 2. Les conditions d’élevage des géniteurs

### II. 2. a) Les bacs d’élevages

La première étape, a été de transvaser le couple de gobies dans un autre bac. Le but étant de pouvoir l’observer et de pouvoir recueillir les œufs en cas de ponte. Le seul aquarium disponible et déjà conditionné (en eau depuis plus de 2 mois) avait un volume de 50 litres. Il faisait partie d’une batterie de 9 aquariums (9 x 50 l) avec un système d’évacuation par trop plein et un système de filtration indépendants à sable et aux caulerpes.

Des caulerpes et des rochers ont été rajoutés sur le sable déjà présent dans ce bac (voir la figure 7) ainsi que deux tubes en PVC en forme de T, faisant office de nid. Les dimensions de ceux-ci : 2,6 cm de diamètre (couleur bleu) pour 9,5 cm de long ; et 3,6 cm de diamètre, (de couleur noire) pour 10 cm de long. Ce bac était présent à un endroit très mouvementé, juste à côté de la porte reliant les deux parties de l'écloserie. De plus, ses faibles dimensions ne permettaient pas de reproduire le biotope de cette espèce et donc d'obtenir le comportement naturel de cette espèce.

De ce fait, au même moment, un aquarium de 200 litres, au fond de l'écloserie (l'endroit le moins agité), a été mis en eau, avec du sable déjà conditionné, des rochers, des caulerpes et deux tuyaux PVC. Le premier en forme de T et le second un simple cylindre avec comme dimensions respectives : 3,6 cm et 6 cm de diamètre ; 10 cm et 15 cm de long. Le but de ce bac étant de reproduire au mieux l'habitat naturel d'*A. aurora* à savoir la zone de transition entre la fin du tombant récifal et le fond sablonneux (voir la figure 7). Ce bac était relié au système de circulation et de filtration principal de l'écloserie. Il a « murit » pendant un mois avant qu'y soit transféré (en soirée) le couple de gobies.

Dans ce dernier, le sable et les rochers avaient la même couleur qu'*Amblyeleotris aurora* afin de créer un environnement plus rassurant. Tout a été pensé dans la décoration pour que l'endroit où sont les tuyaux en PVC leur convienne et qu'ils n'aient pas envie de changer de nid. Par exemple, qu'ils aménagent une grotte en creusant le sable sous un rocher (comme ils le font dans la nature). Il serait dès lors plus difficile de récolter les œufs.

Des escargots de mer : *Tectus niloticus* se nourrissant des cyanophycées (algues filamenteuses proliférant dans les nouveaux aquariums) ainsi qu'une holothurie des sables ; *Holothuria scabra* (détritivore) y ont été rajoutés pour garder le bac propre. Avant le transfert du couple, deux coraux mous : *Simularia brassia* ont été rajoutés afin de servir d'indicateurs pour la surveillance de la qualité de l'eau ainsi que des roches dites « vivantes » de couleur rose-rouge pour compléter le décor.

L'expérience avec *Amblyeleotris aurora* a duré 4 mois. Le couple est resté le premier mois dans l'aquarium de transition (50 l) et les trois suivant dans l'aquarium définitif (200 l).



Fig.7 : Photos des aquariums utilisés pour le maintien du couple de géniteurs *Amblyeleotris aurora*. A gauche : bac de transition (50 litres); à droite : bac définitif (200 litres) 5 jours après sa mise en route.

## II. 2. b) Les conditions environnementales

A l'écloserie de l'ISMB, tout se passe en photopériode et températures naturelles. Comme les deux bacs utilisés pour le maintien des géniteurs n'étaient pas reliés au même circuit d'eau, le tableau 2 présente les valeurs des caractéristiques physico-chimiques de l'eau pour chacun d'eux.

	Bac de transition (50 l)	Bac définitif (200 l)
Température (°C)	27 – 30	28.5 – 29.5
Salinité (‰)	34 – 36	34.5 - 35
pH	8.2 – 8.4	8.3-8.4
Alcalinité	90 - 110	108-112
NH <sub>3</sub> (mg/l)	0.015 – 0.021	0.058 – 0.067
NO <sub>2</sub> (mg/l)	0.01 – 0.012	0.017 – 0.025
NO <sub>3</sub> (mg/l)	0.07- 0.11	0.016 – 0.12
PO <sub>4</sub> (mg/l)	0.03 – 0.08	0.06 – 0.14

Tableau 2 : Minimum et maximum des différents paramètres de la qualité d'eau employée pour le maintien du couple de géniteurs *Amblyeleotris aurora*.

Les analyses de la qualité d'eau étaient réalisées une fois par semaine, par la technicienne en laboratoire de l'écloserie. Il apparaît clairement que les oscillations de température et de salinité étaient bien plus importantes dans le bac de transition que dans le bac définitif. Ceci à cause d'une différence de volume. Le premier, faisait partie d'une batterie d'aquariums d'un volume total de 500 litres. Le second était connecté au circuit d'eau principal reliant près de 100 mètres cubes d'eau. Il était donc normal que l'eau du bac de transition soit plus affectée par les variations de températures jours/nuits. Par contre, la batterie d'aquarium à laquelle appartient le bac de transition, étant quasiment vide, l'eau y était moins polluée que dans le circuit d'eau principal. Cependant cela n'a pas de réelles conséquences les concentrations en matière azotées et phosphatées étant dans les deux cas très faible.

## II. 3. L'observation du comportement de cette espèce

L'étude d'*Amblyeleotris aurora* a duré 4 mois en tout, ce qui a permis d'observer et d'étudier 6 faits de pontes au total. Toutes les photos (bacs d'élevage, géniteurs, embryons et larves) prises pendant cette étude ont été réalisées à l'aide d'un appareil photographique numérique : Panasonic Lumix DMC-TZ3.

Durant les trois premiers mois de cette étude, des notes sur le comportement de cette espèce ont été prises au minimum trois fois par jour entre : 7 h 30 – 8 h 30 ; 13 h – 14 h ; 17 h 30 – 20 h 00. L'observation durait en moyenne 25 – 30 minutes. Toutes les observations ou les travaux effectués, ont été inscrites sur un journal de suivi d'élevage.

L'attention s'est concentré sur : le sexe des deux individus (réussir à distinguer le mâle de la femelle), le comportement du couple lors des trois distributions quotidiennes d'aliments, le comportement pré-reproductif et le comportement de reproduction impliquant : l'aménagement du nid, la parade nuptiale, le soin apporter aux œufs.

## II. 4. Ponte, développement embryonnaire et éclosion

Au cours des six pontes d'*Amblyeleotris aurora*, différentes méthodes ont été employées en fonction des différents objets d'études.

### II. 4. a) Première ponte

Pour la première ponte, les objets d'études étaient principalement : le développement embryonnaire et le temps d'incubation. Ainsi, 4 heures post fertilisation (HPF), le tuyau PVC faisant office de nid ainsi que les deux géniteurs ont été transvasés dans le bac d'éclosion. Celui-ci était un aquarium en verre contenant un volume d'eau net de 30 litres, sans système de filtration, sans décors, avec un système d'aération par bullage (un seul bulleur). Il a été rempli avec l'eau du bac d'origine, filtrée à 150 microns. Les géniteurs ont été enlevés du bac, qu'une fois l'éclosion terminée. A 38 HPF, un changement d'eau filtrée, de même température et provenant du bac d'origine a été effectué à hauteur de 30 % à environ.

Des échantillons d'œufs ont été prélevés du nid à : 2HPF, 6HPF, 12 HPF, 24 HPF, 36 HPF, 42 HPF, 48 HPF, 62 HPF, 68 HPF, 72 HPF, 74 HPF.

La taille des échantillons était très variable, les œufs étant attachés les uns aux autres. Le nombre d'œufs contenu dans un échantillon a toujours été supérieur à 100. A l'aide d'un microscope (de marque : Olympus BH-2), des photos du développement embryonnaire étaient prises pour chacun de ces échantillons. Des photos de l'amas d'œufs constituant chaque échantillon ont également été réalisées afin d'obtenir une vue générale.

Il est à noter que les heures de la ponte et de l'éclosion ont pu être relevées avec une précision estimée à quelques minutes. La température de l'eau au sein du bac d'éclosion était relevée lors de chaque prélèvement d'échantillons d'œufs.

### II. 4. b) De la deuxième à la quatrième ponte

Pour ces trois pontes, les objets d'études étaient principalement : Le taux de fertilisation, le taux de malformation et le nombre d'œufs total produit par la femelle. A noter que l'alimentation larvaire était également au centre des préoccupations (voir la partie II. 7. de ce rapport). Seul le tuyau contenant les œufs était placé dans le bac d'éclosion moins de 6 heures avant le début de l'éclosion. Le bac d'éclosion avait les mêmes caractéristiques que précédemment. L'eau avec laquelle il a été rempli provenait également du bac d'origine, mais a été filtrée à 48 microns. Le transfert était réalisé avec le plus de soin et de calme possible afin d'éviter tout choc et donc, une éclosion précoce. Il n'y a pas eu de changement d'eau effectué durant l'incubation.

A 65 HPF, deux échantillons d'œufs étaient prélevés au hasard dans l'amas d'œufs principal. Puis 100 œufs ( $\pm 1$ ) y étaient détachés, comptés et observés au microscope pour connaître le taux de fertilisation ainsi que le taux de malformation. Une fois les comptages terminés, les échantillons étaient posés sur du papier toilette pour absorber un maximum d'eau (exogène) contenu par celui-ci. Puis, les échantillons de 100 œufs étaient pesés séparément à l'aide d'une balance haute précision ( $d = 0.1$  mg) de marque : Sartorius BP 221 S (voir la figure 10).

Une fois l'éclosion terminée, (environ 12 HPE), l'amas principal d'œufs (non éclos) était pesé à l'aide de la même balance une fois un maximum d'eau épongeée (voir la figure 10).

Pour connaître le nombre d'œufs total pondus par *Amblyeleotris aurora*, le nombre de larves éclos était également compté (voir la partie II. 5. Développement larvaire). Ensuite, il suffisait d'additionner le nombre d'œufs non éclos avec le nombre de larves éclos pour connaître approximativement le nombre d'œufs pondus au total.

#### **II. 4. c) La cinquième ponte**

Lors de la cinquième ponte, les objets d'études étaient principalement : l'effet du volume d'élevage et de la première alimentation sur le taux de survie larvaire. Ainsi, moins de 6 heures avant l'éclosion, seul le tuyau contenant les œufs a été placé dans le bac d'éclosion. Le bac avait un volume d'eau net de 90 litres. L'eau employée pour le remplir provenant du bac des géniteurs et ayant été filtrée à 150 microns. Cet aquarium n'avait ni décor, ni système de filtration, mais était aéré grâce à deux bulleurs. Un écrémeur de surface artisanal (réalisé avec quatre tubes en PVC de 20 cm de long, relié entre eux par des coudes), a été mis en service avant le début de l'éclosion.

#### **II. 5. d) La sixième ponte**

Cette dernière ponte sur laquelle se base cette étude, avait comme principaux objets d'études : l'effet du soin paternel et la première alimentation sur le taux de survie larvaire. Seul le mâle a été transféré avec le nid dans le bac d'éclosion, et ce, à 24 HPF. Le bac d'éclosion avait un volume net de 120 litres. L'eau employée pour le remplir provenant du bac des géniteurs et ayant été filtrée à 150 microns. Cet aquarium n'avait ni décor, ni système de filtration, mais était aéré grâce à trois bulleurs. L'écrémeur de surface a également été mis en service avant le début de l'éclosion.

### **II. 5. Développement larvaire et nombre de larves écloses.**

Au cours de cette étude, les bacs d'élevage larvaire ont toujours eu les mêmes dimensions que les bacs d'éclosion décrits précédemment. Les larves issues de la deuxième ponte seront appelées : groupe 2, celle issues de la troisième ponte : groupe 3, etc.

#### **II. 5. a) Groupe 1**

L'objectif principal était d'étudier la taille et le développement biologique des larves. Ainsi, des échantillons de 30 larves (vivantes) ont été prélevés à : au moment de l'éclosion, 12 heures post-éclosion (HPE), 24 HPE, 36 HPE, 48 HPE, 60 HPE, 72 HPE. Elles ont été observées vivantes à l'aide d'une loupe binoculaire (de marque : American scientifique SWF) avant d'être plongées dans une solution de formol à 15%. Puis elles ont été étudiées et mesurées à l'aide du microscope. Des photos de larves ont été réalisées pour chaque échantillon.

#### **II. 5. b) Du groupe 2 au groupe 6**

L'objectif principal était d'étudier le nombre de larves écloses ainsi que le rôle de la première alimentation sur le taux de survie (voir aussi la partie II. 7.). Ainsi, à 12 HPE, 30 échantillons de 20 ml étaient prélevés (sans remise et au hasard) dans le bac d'éclosion. Le nombre de larves (vivantes) contenues dans chaque échantillon était dénombré à la loupe binoculaire. Puis, en connaissant le nombre moyen de larve dans 20 ml d'eau, il était possible d'estimer le nombre total de larves contenues dans le volume d'eau (connu) du bac d'éclosion.

L'opération a été répétée à 36 HPE, 60 HPE, 84 HPE (et à 108 HPE pour les larves issues de la dernière ponte) dans les bacs d'élevages larvaires. Ainsi le taux de survie pouvait être suivi en fonction des différents aliments utilisés (voir la partie II. 7. de ce rapport). Après le comptage, les larves mortes étaient siphonnées. Le volume d'eau siphonné était remplacé par de l'eau neuve contenant les mêmes concentrations en plancton que l'eau d'origine. Ces changements d'eau, étaient compris entre 10 et 15 % du volume total des bacs d'élevage larvaires. A chaque fois, à 60 HPE, des échantillons de 10 larves vivantes ont été prélevés et plongés dans une solution de formol à 15 % afin de pouvoir étudier leurs prises alimentaires.

## II. 6. Culture de plancton

### II. 6. a) Espèces de plancton cultivées à l'ISMB employées pour cette étude

Une seule espèce de zooplancton et trois espèces de phytoplancton cultivées à l'ISMB ont été utilisées lors des différentes expériences. Pour plus de détail concernant ces espèces, voir la partie I. 2. a) de ce rapport.

- *Brachionus rotundiformis*
- *Nannochloropsis occulata*
- *Isochrysis galbana*
- *Chorella stigmatophora*

### II. 6. b) Culture de ciliés marins

La plus petite espèce du zooplancton disponible en masse à l'ISMB, est *Brachionus rotundiformis*. Or les nauplies (juste écloses) de cette espèce mesurent près de 150 microns. Comme il paraissait important de fournir aux larves d'*Amblyeleotris aurora* une alimentation ayant une taille inférieure aux nauplies de rotifères, il a été décidé de réaliser la culture de ciliés. Une famille de ciliés était plus particulièrement recherchée, celle des *Euplotes* (voir la figure 8).

Toute la méthodologie des différentes expériences réalisées pour obtenir, identifier, tenter d'isoler et cultiver les différentes espèces de ciliés ne va pas être détaillée dans ce présent rapport. Cela nécessiterait un travail de restitution à part.

Cependant, il est assez aisé d'obtenir des ciliés en grande quantité. Une méthode efficace a été de :

- filtrer à 120 microns l'eau du circuit général d'eau de l'écloserie.
- Mettre 10 grammes de riz blanc cuit par litre d'eau filtrée et laisser vieillir la solution en l'aérant par un système de bullage.
- Une fois que la solution « mère » a 8 jours, la filtrer à nouveau à 120 microns (pour y retirer le riz en décomposition) et réaliser un dédoubleage (diviser le volume en deux).
- Diluer à 50 % avec de l'eau neuve (filtrée à 120 microns) et rajouter 8 grammes de riz par litre d'eau neuve ajoutée.
- Au bout de 4 jours la concentration en ciliés atteint son maximum soit, environ 500 cellules par ml.
- Filtrer la solution à 120 microns pour y retirer le riz.
- Laisser reposer la solution avec une aération par bullage pendant 24 heures pour que les ciliés puissent assimiler un maximum de bactéries présentes dans la solution.

En partant d'un volume de un litre, et par dédoubleage successif tous les 4 jours (avec du riz neuf), il est possible, de produire de grande quantité de ciliés.



Voici une synthèse des éléments intéressants sur la biologie des ciliés (Biodeug, 2008). Les ciliés, sont les protozoaires les plus élevés en organisation. Le caractère fondamental des espèces de ce groupe est la présence de cils vibratiles couvrant totalement ou partiellement la surface du corps. Ces formes sont communes, dans les plans d'eau riches en matière organique comme ceux contenant des matières végétales en décomposition où abondent les bactéries qu'ils absorbent par contact. La reproduction est en relation avec une conjugaison préalable, qui n'est autre que la fusion de parties (éléments nucléaires) de deux individus différents. Ils se multiplient tous par scissiparité, et les divisions successives s'effectuent si rapidement chez certaines espèces qu'un seul individu peut en donner plusieurs centaines d'autres en vingt-quatre heures.

Les solutions de culture de ciliés obtenues lors de cette étude n'étaient pas monospécifiques. Trois espèces de ciliés étaient présentes dans toutes les solutions de cultures obtenues. Les tentatives d'isoler et de cultiver uniquement des *Euplotes* ont toutes échoué. Ainsi, sans autres choix, trois espèces de ciliés (*Ciliophora*), ont été distribuées lors des expériences utilisant ces protozoaires comme aliment larvaire. Leurs principales caractéristiques sont résumées dans le tableau 3. Ce sont ces mêmes caractéristiques observées et mesurées au microscope qui ont permis de les identifier.

Espèce	<i>Euplotes sp.</i>	<i>Balanion comatum</i>	<i>Tiarina fusus</i>
Classe	<i>Spirotrichea</i>	<i>Prostomatea</i>	<i>Prostomatea</i>
Longueur moyenne (microns)	85	15	80
Largeur moyenne (microns)	50	10	25
Forme	Ovale (voir figure 8)	Sphérique - Ovale	Fusifforme, allongée
Type de nage	Lente, déplacement continue en pleine eau ou le long des « objets » qu'ils rencontrent	Rapide et en hélice voir saltatoire	Lente et en spirale

Tableau 3 : Principales caractéristiques des espèces de ciliés présentes dans les solutions de culture utilisées pour l'alimentation larvaire d'*Amblyeleotris aurora*.

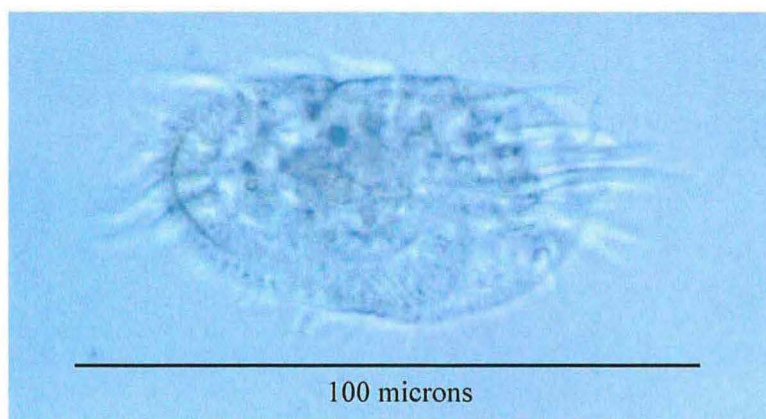


Fig. 8 : Photos d'un *Euplotes* cultivé lors de cette étude

## II. 7. Rôle des différentes espèces de plancton sur la survie des larves

Comme chacune des six pontes d'*Amblyeleotris aurora* devaient permettre de répondre à une hypothèse, les essais concernant la première alimentation n'ont pas tous été réalisés de la même manière et avec les mêmes espèces de plancton.

### II. 7. a) Larves issues de la première ponte

Comme l'objectif principal de cette première ponte n'était pas d'étudier le taux de survie larvaire en fonction de la première alimentation, toutes les larves contenues dans le bac d'éclosion ont été alimentées à 12 HPE de la même façon avec :

- Nauplies de *Brachionus rotundiformis* (15 / ml)
- *Nannochloropsis occulata* (50'000 cellules / ml)
- *Isochrysis galbana* (50'000 cellules / ml)

### II. 7. b) Larves issues de la deuxième à la sixième ponte

Une fois les larves comptées à 12 HPE, elles étaient divisées en trois parts égales, réparties dans trois bacs d'élevage larvaire de même volume que le bac d'éclosion (ce qui simplifiait grandement les calculs). Soit :

- 30 litres pour les larves issues des deuxième, troisième et quatrième pontes
- 90 litres pour la cinquième
- 120 litres pour la sixième

Comme dit précédemment, le taux de survie était évalué par échantillonnages (30 x 20 ml sans remise) à 36 HPE, 60 HPE, 84 HPE (et 108 HPE avec les larves issues de la dernière reproduction). Un contrôle visuel était également réalisé à 24 HPE, 48 HPE et 72 HPE pour voir si il y avait encore des larves vivantes dans le bac. Le contenu du système digestif d'un échantillon de 10 larves était observé au microscope à 60 HPE. Le groupe témoin était composé dans tous les cas, d'un échantillon de 100 larves, placées dans un bac de 10 litres avec bullage très modéré.

Les différentes possibilités d'alimentation testées avec les larves des différents groupes sont synthétisées dans le tableau 4. Chaque groupe a été divisé en trois parts égales, appelés : « Batch ».

	<b>Batch 1</b>	<b>Batch 2</b>	<b>Batch 3</b>	<b>Lot témoin</b>
<b>Groupe 2</b> Dans 30 l	Rot : 15 / ml Cho: 200'000 /ml	Rot: 20 / ml Cho: 400'000 / ml	Rot 15 / ml Iso: 50'000 / ml Nanno: 50'000 /ml	O
<b>Groupe 3</b> Dans 30 l	Rot: 15 / ml Iso: 50'000 / ml Nanno: 50'000 /ml	Ciliés : 10 / ml Iso: 50'000 / ml Nanno: 50'000 /ml	Rot: 15 / ml Ciliés : 10 / ml Iso: 50'000 / ml Nanno: 50'000 /ml	O
<b>Groupe 4</b> Dans 30 l	Ciliés : 20 / ml Rot: 15 / ml Iso: 50'000 / ml Nanno: 50'000 /ml	Ciliés : 30 / ml Rot: 15 / ml Iso: 50'000 / ml Nanno: 50'000 /ml	Ciliés : 50 / ml Rot: 15 / ml Iso: 50'000 / ml Nanno: 50'000 /ml	O

<b>Groupe 5</b> Dans 90 l	Ciliés : 20 / ml Rot: 15 / ml Iso: 50'000 / ml Nanno: 50'000 /ml	Ciliés : 50 / ml Rot: 15 / ml Iso: 50'000 / ml Nanno: 50'000 /ml	Rot: 15 / ml Iso: 50'000 / ml Nanno: 50'000 /ml	O
<b>Groupe 6</b> Dans 120 l	Ciliés : 20 / ml Rot: 15 / ml Iso: 50'000 / ml Nanno: 50'000 /ml	Ciliés : 50 / ml Rot: 15 / ml Iso: 50'000 / ml Nanno: 50'000 /ml	Rot: 15 / ml Iso: 50'000 / ml Nanno: 50'000 /ml	O

Tableau 4 : Différents types d'alimentation testés pour l'élevage larvaire d'*Amblyeleotris aurora*  
Abréviations : Rot : Rotifères ; Iso : Isochrysis ; Nanno : Nannochloropsis ; Cho : Chorella

### III. Résultats

#### III. 1. Comportement de reproduction d'*Amblyeleotris aurora*

En temps normal, il n'y avait pas de grandes différences permettant de différencier le mâle de la femelle, mise à part que le mâle était légèrement plus grand (1 cm) et légèrement plus coloré que la femelle. Cependant, et plus particulièrement en fin de gestation, la femelle était facilement reconnaissable grâce à son abdomen gonflé.

##### III. 1. a) Comportement entre deux pontes

A 29 °C en moyenne, le temps entre deux pontes est exactement de 20 jours. En temps normal, *Amblyeleotris aurora* fait le guet posé sur le sable ou un rocher. Le couple se nourrit tout les jours, même si la femelle, de par ses importants besoins énergétiques occasionné par la gamétogénèse, a toujours la priorité lors du nourrissage. Le mâle pouvant s'alimenter si il n'est pas chassé par la femelle.

##### III. 1. b) Comportement le jour de la ponte

Le jour de la ponte, ni la femelle ni le mâle se nourrissent. Le mâle reste terrer dans le futur nid et le nettoie. La femelle reste caché à proximité du nid. Ce changement radical de comportement constitue le meilleur indicateur de l'imminence de la ponte.

Puis, à la tombée de la nuit, le mâle entraîne la femelle dans le nid. Pour cela, il nage en arrière, la poussant avec l'extrémité arrière de son corps dans le nid. Une fois qu'elle l'a suivi dans le nid, ces nageoires sont grandes ouvertes et il les exhibe fièrement pour attirer l'attention de la femelle. Après être resté 3 - 4 minutes dans le terrier à le regarder faire « le pan » elle ressort du nid. Le mâle la suit. Puis, la parade nuptiale commence. Ils nagent en tournant en rond, les nageoires grandes ouvertes, la tête en arrière, la gueule grande ouverte, se frôlant entre eux à de nombreuses reprises, le mâle lui donne des petits coups sur le postérieure avec son museau. La femelle répond en relâchant un liquide ovarien ce qui stimule d'autant plus le mâle. Après une petite heure de danse, le mâle part dans le nid, la femelle le suit et commence à déposer ses œufs. La ponte commençait généralement vers 19 h 30 ( $\pm$  30 min) et durait 75 minutes ( $\pm$  10 min). La fertilisation par le mâle se passe en même temps que la ponte (voir la figure 9), il est pris de brefs mais violents frissonnements. La femelle frissonne également mais pas aussi violemment. Elle dépose ses œufs sur tout le pourtour du nid sauf à l'endroit où le mâle sera positionné pour ventiler les œufs (voir la figure 9). Les tubes PVC choisi comme nid, ont toujours été ceux, ayant le diamètre le plus proche de celui d'*Amblyeleotris aurora*.

### III. 1. b) Comportement pendant l'incubation

Durant toute l'incubation qui dure 80 heures ( $\pm$  4 heures) à 29 °C, c'est le mâle qui s'occupe des œufs. Pendant cette période, il ne s'alimente pas, il reste dans le nid à ventiler les œufs en utilisant à tour de rôle ses nageoires dorsales, ventrales, caudales et pectorales (voir la figure 9). La femelle reste en dehors du nid mais reste à proximité. Elle s'alimente dès le lendemain (environ 18 après la ponte).

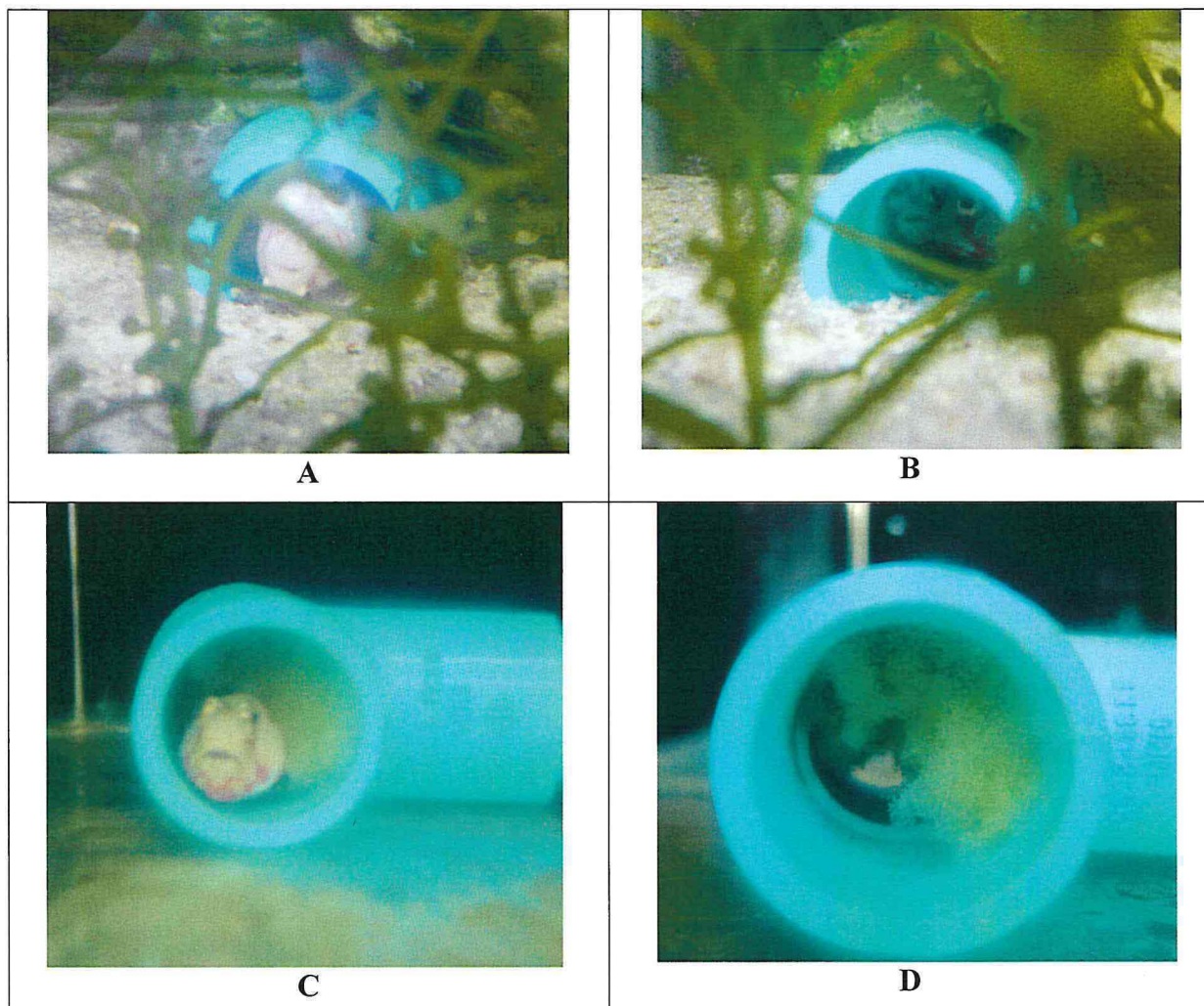


Fig. 9 : Photos de la ponte d'*Amblyeleotris aurora*

- A : La femelle entrain de déposer des œufs au niveau du « plafond » du nid
- B : La ponte et la fécondation se passent en même temps
- C : Le mâle entrain de ventiler les œufs lors de l'incubation
- D : Aperçu visuel de l'aspect et du volume d'une ponte à 18 HPF

A noter que : la première ponte s'est passé 24 jours après le début de l'étude (et donc après le transfert dans le bac de transition). La femelle a arrêté de s'alimenter 3 jours avant la ponte et quatre jours après. Le mâle ne s'est alimenté que 7 jours après la première ponte, soit un jour après que le couple ai été transvasé dans le bac définitif. La deuxième ponte s'est produit 21 jours après la première ponte observée lors de cette étude. Sinon, le comportement a toujours été celui décrit précédemment (soit une période inter-ponte de 20 jours).

### III. 2. Caractéristiques de la ponte

Le nombre d'œufs total pondus par la femelle a été le paramètre le plus difficile à évaluer avec précision. Cependant voilà les résultats de l'étude concernant cette caractéristique biologique d'*Amblyeleotris aurora* :

Le poids moyen de 100 œufs non éclos d'*Amblyeleotris aurora*: 0.0062 gramme ( $\pm 0.0002$  g), voir la figure 10. Pour les 3 pontes étudiées, le poids du tas d'œufs n'ayant pas éclos a été respectivement de: 3.1606 ; 3.3102 ; 3.1997 grammes. Cela équivaut à un nombre d'œufs de : 50'977 ; 53'390 ; 51'608. Cependant les nombreux œufs qui se sont détachés de l'amas principal dans le bac d'éclosion n'ont pas pu être pesés. Le nombre d'œufs n'ayant pas pu être pesé est estimé à 20 – 30 % de la masse d'œufs mesurée.

Le nombre de larve ayant éclos (voir partie III. 3. de ce rapport) a été respectivement pour ces trois pontes : 20'150 ( $\pm 151$ ); 22'970 ( $\pm 150$ ); 22'280 ( $\pm 156$ ). De ce fait, il est possible d'affirmer qu'une femelle *Amblyeleotris aurora* est capable de pondre au minimum 70'000 œufs même si ce nombre est vraisemblablement plus proche des 100'000.

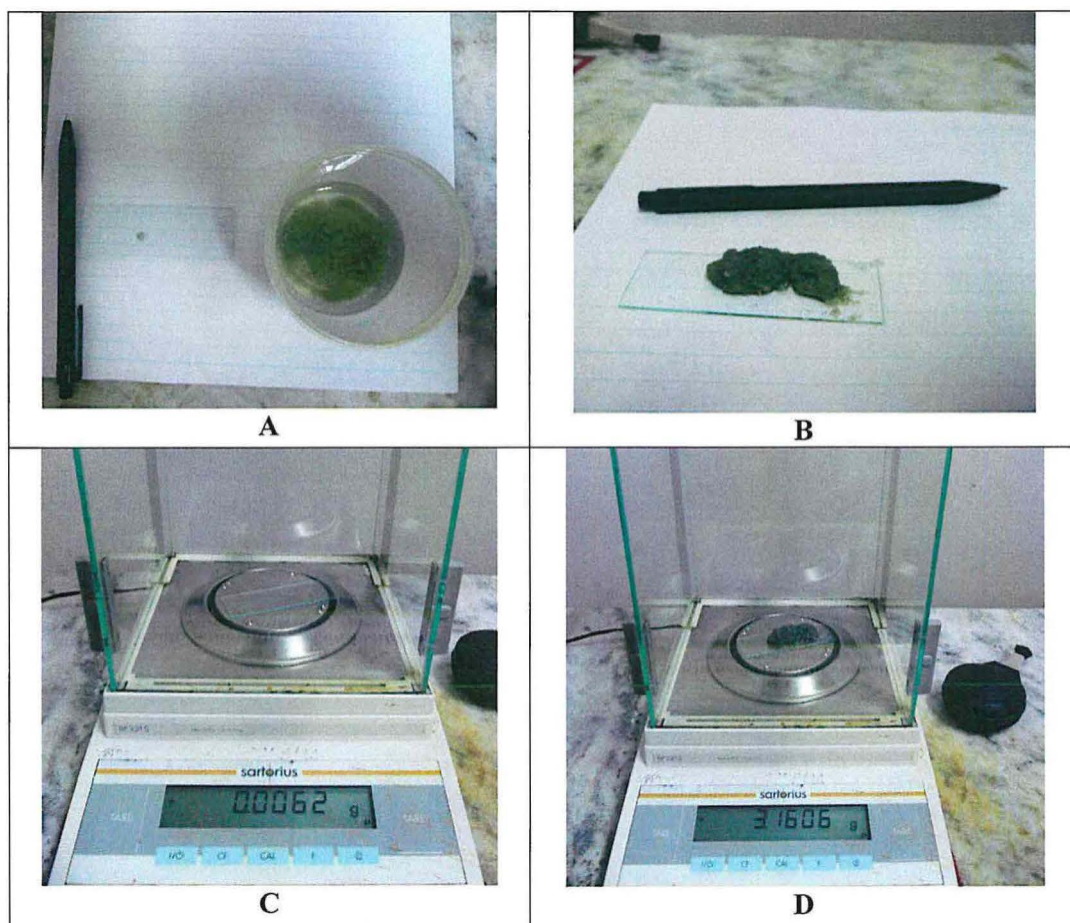


Fig.10 : Apparence et poids ex-vivo d'une ponte d'*Amblyeleotris aurora*

- A : Tas de 100 œufs posé sur une plaquette de verre à côté de la majeure partie de la ponte
- B : Amas principal d'œufs non éclos après absorption de l'eau exogène contenue par celui-ci
- C : Poids de 100 œufs non éclos
- D : Poids de l'amas d'œufs non éclos

### III. 3. Caractéristiques du développement embryonnaire

A 29 °C en moyenne, l'incubation des œufs d'*Amblyeleotris aurora* dure 80 heures ( $\pm 4$  h) soit : 96 degrés jours. La figure 11 présente, les principales étapes du développement embryonnaire d'*Amblyeleotris aurora* à 29 °C de moyenne. Remarque : entre 48 et 60 HPF, la principale évolution et le noircissement progressif des yeux des embryons. A 60 HPF, les yeux des larves sont noirs foncé.

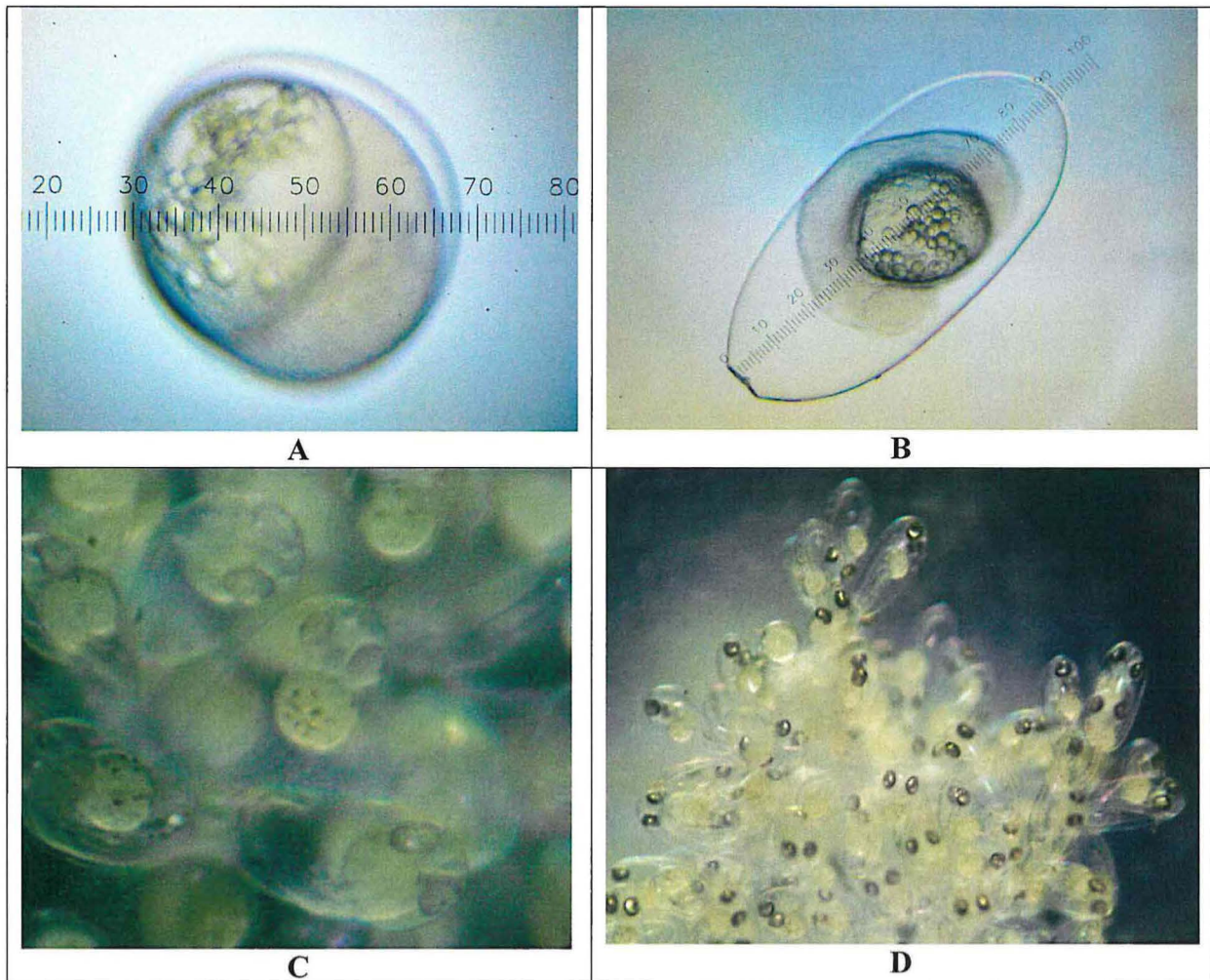


Fig. 11 : Développement embryonnaire d'*Amblyeleotris aurora* (unité d'échelle: 1/100 mm).

**A : 6 heures post fécondation (HPF) :** Fin de stade Blastula (magnification : 1x).

**B :** Embryon à 24 HPF : apparition des placodes optiques (magnification : 1x).

**C :** Embryon à 48 HPF : la tête et les yeux sont clairement reconnaissables.

**D :** Embryons à 74 HPF, soit 2 heures avant le début de l'éclosion. Les futures larves ont de nombreuses contractions ainsi que des yeux brillants et mobiles.

Les œufs non fécondé ont une forme circulaire. Le diamètre moyen d'un œuf non fécondé est de : 0.35 mm ( $\pm 0.03$  mm).

Un œuf fécondé à 24 HPF a une longueur de 0.87 mm ( $\pm 0.01$  mm) et une largeur de 0.45 mm ( $\pm 0.01$  mm). Cette taille n'augmente plus avec la suite du développement embryonnaire.

Le taux de fertilisation mesurée sur les groupe 2 ; 3 ; 4 a été respectivement de : 88.5 % ; 94.5 % ; 94 %. Le taux de malformation chez les Embryons a été 26 % ; 21.5 % ; 21 %.

### III. 4. Caractéristiques du développement larvaire

Comme la ponte se passait en moyenne vers les 19 h – 19 h 30, et qu'à 29 °C en moyenne, l'incubation des œufs d'*Amblyeleotris aurora* dure 80 heures ( $\pm$  4 h), l'éclosion se passe toujours la nuit. L'éclosion débutait généralement vers 23 h – 23 h 30, augmentait en intensité pour atteindre un maximum 4 heures après (03h30), avant de faiblir progressivement les quatre heures suivantes. Plus de 99 % des larves éclos, le sont avant 84 HPF. La figure 12 présente des photos des 4 premiers jours du développement larvaire d'*Amblyeleotris aurora*.

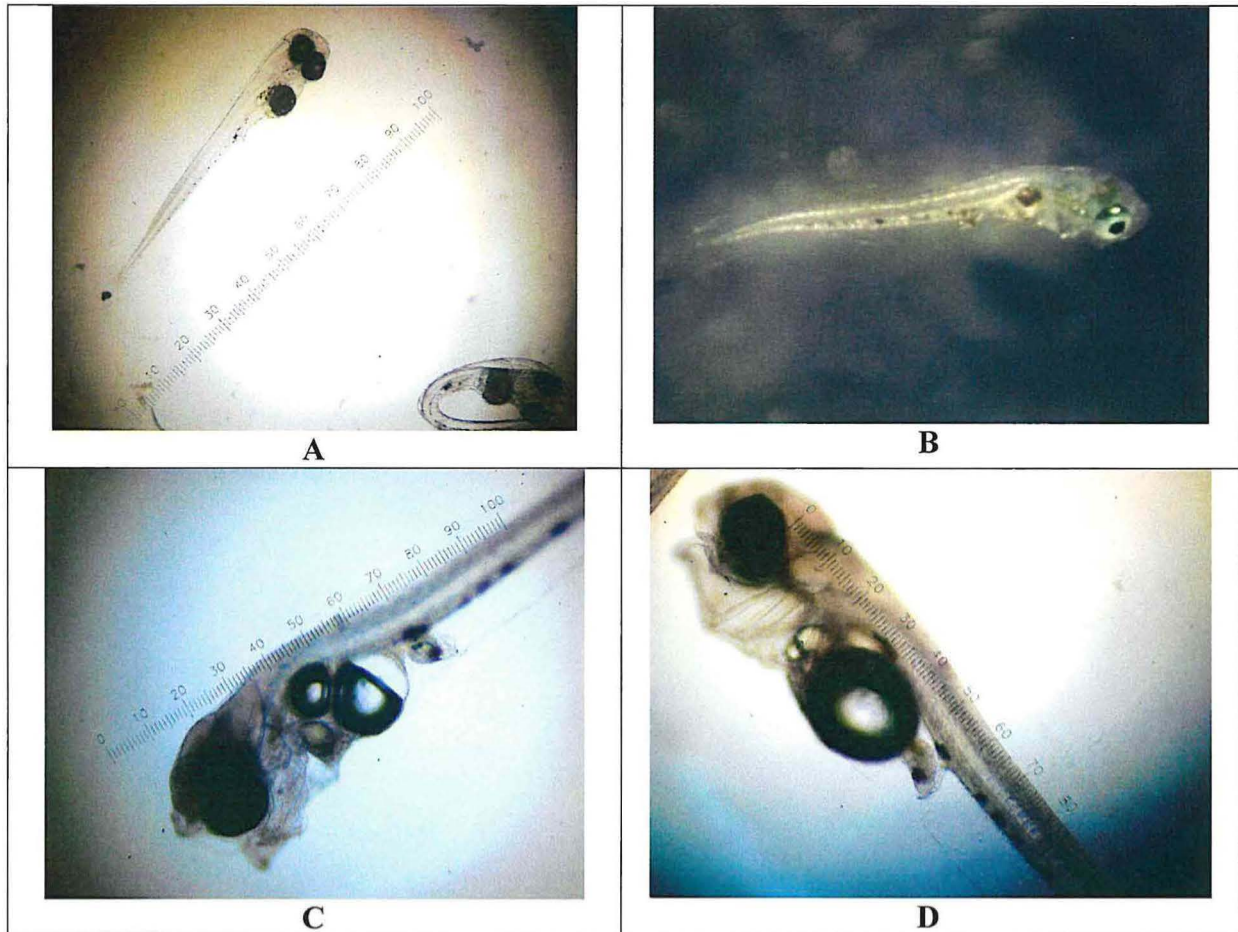


Fig.12 : Développement larvaire d'*Amblyeleotris aurora* (unité d'échelle : 1/100 mm).  
**A** : Larve a moins d'une heure après l'**éclosion** (magnification : 2,5x). Les larves ne sont pas colorées, et ont une réserve vitelline importante. **B** : Larve (vivante) à **24 HPE**, sans vessie gazeuse. La réserve vitelline a disparue (magnification : 10x). **C** : Larve à **48 HPE**. La vessie gazeuse est partiellement remplie (magnification : 1x). **D** : Larve à **96 HPE**. La vessie gazeuse est totalement remplie (magnification : 1x).

A la naissance, la longueur moyenne du corps d'une larve est de : 1.73 mm ( $\pm$  0.04) soit presque exactement le double de la longueur de l'œuf, et le volume de la réserve vitelline semble être encore important. A J.1, soit 24 HPE, les larves n'ont plus de vitellus et ouvre la bouche. Elles réagissent également aux stimuli lumineux ou aux mouvements de l'eau. A 48 HPE, les larves commencent à remplir leur vessie gazeuse. A J.4, (96 HPE) la longueur moyenne des larves est de : 1.98 mm ( $\pm$  0.13), et la bouche fait environ 150 microns. Il est à noter, que le bac d'éclosion étant en circuit fermé, les fluctuations de températures était relativement importantes entre la nuit et le jour (en moyenne : 26.5-30.5°C).

### III. 5. L'effet de la première alimentation sur le taux de survie larvaire

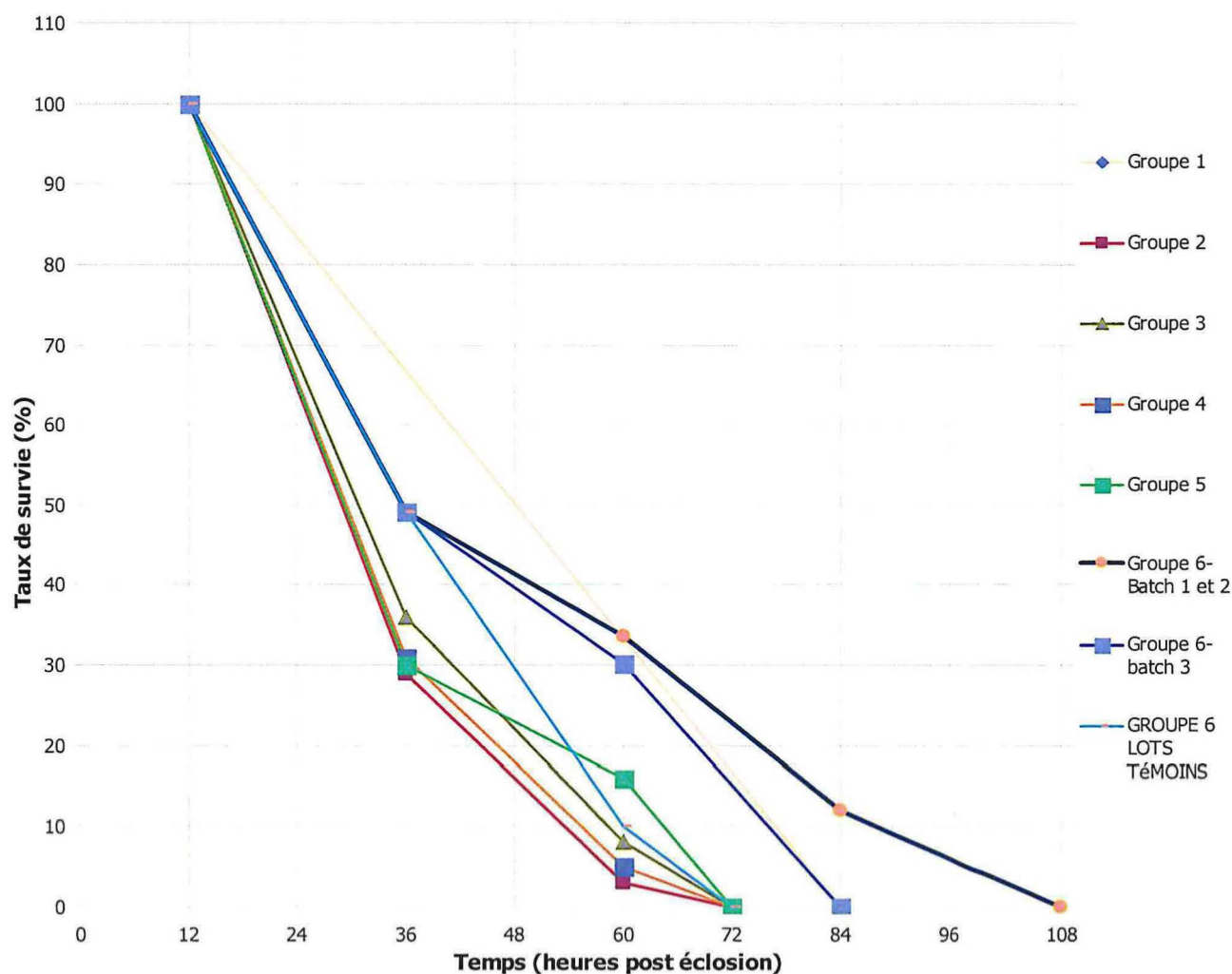


Fig. 13 : Evolution du taux de survie larvaire d'*Amblyeleotris aurora* en fonction des différentes expérimentations (voir tableau 5).

	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	Groupe 4	Groupe 5	Groupe 6
Transvasement des œufs dans le bac d'éclosion (HPF)	4	72	72	72	72	24
Soin parental pendant l'incubation	Oui	Non	Non	Non	Non	Oui
Nombre de larves éclos (unités)	inconnu	20'150 (±151)	22'970 (±148)	22'280 (±156)	23'140 (±171)	27'420 (±183)
Volume des bacs d'élevage larvaire	30 litres	30 litres	30 litres	30 litres	90 litres	120 litres
Présence de ciliés	Non	Non	B1 : non B2, B3 : oui	Oui	B1, B2 : oui B3 : non	B1, B2 : oui B3 : non
100 % de mortalité (HPE)	84	72	72	72	72	B1,B2 : 108 B3 : 84

Tableau 5 : Principales caractéristiques des différentes expériences d'élevage larvaire d'*Amblyeleotris aurora*. (Abréviations : B1= Batch n°1 ; B2= Batch n°2 etc.).



Remarque : Pour le groupe 1, le taux de survie n'a pas été mesuré de façon précise. Seule un contrôle visuel du bac d'élevage larvaire a été effectué. Une mortalité de 100 % des larves a été observée à 84 HPE (cela est donc représenté sur la figure 13, par une simple droite). Le groupe 1 n'avait pas de lot témoin.

Il n'y a pas eu de différence significative ( $P > 0.05$ ) du taux de survie et de son évolution entre les différents batchs et lots témoins des groupes 2, 3, 4. Une mortalité de 100 % des lots témoins a été observée pour tous les groupes à 72 HPE. Même si toutes les larves du groupe 5 sont également mortes à 72 HPE, il est à noter qu'à 60 HPE, le taux de survie a été près du double de celui des groupes 2, 3 et 4. De plus, le lot témoins du groupe 5, a eu exactement la même évolution du taux de survie que le groupe 4. Par soucis de clarté, il n'est donc pas représenté sur la figure 13.

La seule différence significative intra-groupe, concerne le groupe 6. Au sein de ce groupe :

- Lots témoins : 100 % de mortalité à 72 HPE.
- Le batch 3 : 100 % de mortalité à 84 HPE. Il a été alimenté aux : Nauplies de *Brachionus rotundiformis* (15 / ml) + *Nannochloropsis occulata* (50'000 cellules / ml) + *Isochrysis galbana* (50'000 cellules / ml)
- Les batchs 1 et 2 : 100 % de mortalité à 108 HPE. Ils ont été alimenté aux : Nauplies de *Brachionus rotundiformis* (15 / ml) + *Nannochloropsis occulata* (50'000 cellules / ml) + *Isochrysis galbana* (50'000 cellules / ml) + 20 ciliés / ml pour le batch n°1 et 50 ciliés / ml pour le batch n°2.

Avec les différents groupes, lors des 60 premières heures, les larves mortes étaient en très grande majorité retrouvées à la surface de l'eau, alors qu'ensuite, les larves mortes se trouvaient au fond du bac.

## IV. Discussion

Le développement de la reproduction est un processus qui peut être divisé en différentes séquence : La croissance des gamètes, leur développement fonctionnel, la maturation final des géniteurs et enfin la ponte (Olivotto *et al.*, 2003). Les deux premières étapes se passent normalement et fréquemment pour la plupart des espèces captives si les conditions d'élevages sont optimales (Olivotto *et al.*, 2003, Olivotto *et al.*, 2006a). Par contre, pour de nombreuses espèces voir même pour des familles entières dernières la maturation final et donc, la ponte, n'ont pas encore été induites avec succès (Olivotto *et al.*, 2003, Olivotto *et al.*, 2006b).

A part, pour les 25 espèces coralliennes dont le cycle biologique complet est maîtrisé (Olivotto *et al.*, 2006a), les essais d'élevages avec d'autres espèces, se font donc tous avec des géniteurs provenant du milieu naturel. Or, les performances de reproduction ne sont pas les mêmes avec des individus nés en captivité ou dans la nature. (Butts *et al.*, 2007, Morehead *et al.*, 2001). En effet, les individus nés en captivité produiront des œufs de meilleure qualité que ceux issu du milieu naturel (Morehead, *et al.*, 2001) ce qui se traduira par un meilleur taux de survie des larves (Morehead, *et al.*, 2001).

C'est le cas de cette étude qui a été réalisée avec des géniteurs provenant du milieu naturel. La maturation finale des géniteurs et donc la reproduction ont pu être induites simplement, en apportant un environnement favorable à *Amblyeleotris aurora*.

Cependant, la différence de temps séparant deux pontes a été significative entre le maintien des géniteurs dans le bac de transition et l'aquarium définitif, respectivement 24 et 20 jours. Cela démontre l'importance des conditions d'élevage des géniteurs dans l'obtention d'un comportement de reproduction semblable à celui du milieu naturel. Une partie du cycle biologique amenant à la deuxième ponte, s'est passé dans le bac de transition. Le temps de gestation de la femelle avait été de 21 jours. De plus, le nombre de larves issues de cette ponte a été près de 10 % inférieur aux autres éclosions. Cela constitue une preuve supplémentaire de l'importance du confort ou du stress occasionné par les conditions d'élevage sur le potentiel de reproduction.

La principale limite de cette étude a été de ne pouvoir employer qu'un seul couple de géniteurs pour les différentes expérimentations. De ce fait, aucune comparaison entre les performances de reproduction de différents couples n'a pu être possible. De plus, il fallait attendre à chaque fois 20 jours pour réaliser de nouvelles expériences sur l'élevage larvaire d'*Amblyeleotris aurora* (c'est d'ailleurs pour cela, que des recherches ont été menées en parallèle avec d'autres espèces lors de ce stage).

Une autre limite de cette étude, est que tous les résultats ont été obtenus dans des conditions qui ne sont pas celles de laboratoire : températures et photopériodes fluctuantes. Or ces paramètres ont une grande importance sur le comportement de reproduction et le développement larvaire.

Cette étude s'est particulièrement intéressée à première alimentation larvaire, qui est la phase la plus complexe à maîtriser en éclosérie marine tropicale. Toutes les caractéristiques de celle-ci : timing, qualité nutritionnelle, taille et concentration des proies, ont une incidence directe sur le taux de survie des larves (Yùfera *et al.*, 2007 ; Rabe *et al.*, 2000 ; Olivotto *et al.*, 2005 ; Olivotto *et al.*, 2006a ; Olivotto *et al.*, 2006b ; Gisbert *et al.*, 1997 ; Mathew *et al.*, 2007 ; Battaglione *et al.*, 2007 ; Zambobino *et al.*, 2007 ; Duray *et al.*, 1997).

Le début de l'alimentation exogène des larves de poissons est défini comme la période où l'ingestion devient possible jusqu'au moment où la croissance de la larve est détectée (Yùfera *et al.*, 2007). La principale caractéristique de cette phase est que la source de nutriments et d'énergie nécessaire à la larve pour continuer son développement est transférés de la réserve vitelline à l'absorption de nourriture (Yùfera *et al.*, 2007). Pour mémoire, le taux d'absorption et de conversion de la réserve vitelline pour les tous premiers stade du développement larvaire, est conditionné par le type d'espèce, la condition physique de la mère, et la température (Yùfera *et al.*, 2007 ; Lin *et al.*, 2006 ; Hunt von Herling, 2002). Pour achever cette transition avec succès, il est indispensable que toutes les structures et organes servant à la prise, à la digestion et à l'assimilation de nourriture soient prêts au même moment ainsi que la disponibilité d'une nourriture approprié en quantité optimale (Yùfera *et al.*, 2007 ; Rabe *et al.* ; 2000, Gisbert *et al.*, 1997).

Dans le cas contraire, le taux de survie peut chuter en quelques heures de manière remarquable (Olivetto *et al.*, 2003 ; Wittenrich *et al.*, 2007 ; Yùfera *et al.*, 2007). L'existence de cette mortalité massive se produisant au moment de la première alimentation larvaire, a fait naître un concept technique : le point de non retour (PNR) (Yùfera *et al.*, 2007). Le PNR est en fait, le moment où la privation d'une nourriture adéquate et suffisante, entraîne irrémédiablement la mort des larves. Il est défini comme le moment où 50 % des larves ne peuvent plus survivre même en présence d'une alimentation optimale (Yùfera *et al.*, 2007).

La période comprise entre l'ouverture de la bouche, signe le plus visible que la larve est prête à s'alimenter, et le PNR est donc un moment critique du développement larvaire. Sa durée dépend de l'espèce et de la température de l'eau (Arul, 1991). En moyenne, elle est de 3 jours pour les poissons marins tropicaux et de 20 jours pour les poissons marins d'eau froide (Yüfera *et al.*, 2007, Theilacker, 1978). Cependant, la morphologie et la structure anatomique de la digestion, sont affectées et dégradées avant que la PNR soit atteinte (Theilacker, 1978). En l'absence de nourriture adéquate et au bon moment, la larve s'épuise progressivement jusqu'à ne plus pouvoir nager et donc, s'alimenter.

Les larves d'*Amblyeleotris aurora*, ont résorbé leur réserve vitelline et commencent à ouvrir la bouche 24 h après l'éclosion. La très forte mortalité constatée chez tous les lots entre l'ouverture de la bouche et 36 HPF, laisse à penser que la PNR d'*Amblyeleotris aurora* n'est même pas de 24 heures.

Les larves de certaines espèces ont un potentiel de survie plus important que d'autres (Nagano *et al.*, 2000). Certaines espèces, ont adopté une stratégie de reproduction « du plus grand nombre » alors que d'autres, ont préféré miser sur la qualité plutôt que la quantité. Les espèces du premier groupe produisent une grande quantité d'œufs, l'énergie dépenser à l'unité est faible ce qui induit un potentiel de survie bas. Dans ce cas, sur les dizaines de milliers voir centaines de milliers d'œufs pondus, seules quelques larves survivront et pourront pérenniser l'espèce. Dans le second groupe, le soin parental est bien plus important ainsi que l'énergie apporté par unité (par œuf). La taille des œufs, des larves, et les taux de survie larvaire sont plus importants que pour les espèces du premier groupe.

*Amblyeleotris aurora* se situe clairement dans le premier groupe, la meilleure preuve est la forte mortalité des larves (51 % pour le meilleur des cas) lors des premières 36 heures suivant l'éclosion. Une autre preuve significative est le fort taux de malformations des embryons qui a toujours été supérieurs à 1/5 du nombre total d'œufs pondus. Comme dans l'étude du mérrou *Epinephelus septemfasciatus* (Nagano *et al.*, 2000), ce faible potentiel de survie des larves est une difficulté non négligeable pour la maîtrise de son cycle biologique. Ce faible potentiel de survie est le résultat de caractéristiques larvaires désavantageuses spécifique à l'espèce comme une faible réserve énergétique endogène, une taille de bouche très petite ainsi qu'une faible capacité de nage limitant l'aptitude des larves pour la prédation.

Si la première alimentation larvaire est une période si critique pour une éclosion, c'est que le taux de survie larvaire peut chuter très rapidement à 0 % si les besoins environnementaux et alimentaire ne sont pas correctement et entièrement satisfait (Yüfera *et al.*, 2007, Rabe *et al.*, 2000, Gisbert *et al.*, 1997) . Cela n'a été que trop bien démontré lors de cette étude sur *Amblyeleotris aurora*.

Lorsqu'il s'agit de développer l'élevage d'une nouvelle espèce corallienne, il y a deux facteurs indispensables à connaître sur la larve. La compréhension de l'ontogénie des fonctions servant à l'alimentation et à la digestion lors des premiers jours de vie larvaire, ainsi que les besoins nutritionnel en termes de qualité et de quantité. Selon une étude de Yüfera *et al.*, (2007), voici les premières et principales étapes du développement larvaire, ( voir la figure 14).

La réserve vitelline est complètement ou presque résorbée au moment de l'ouverture de la bouche. Après l'ouverture de la bouche, l'organogénèse continue en employant un système digestif encore rudimentaire. Une croissance et une différenciation rapide du système digestif

est nécessaire pendant les jours suivant afin de renforcer la digestion et l'absorption des nutriments. Après cette courte période, la croissance débute ce qui se traduit rapidement par une augmentation de la longueur de la larve et donc, de sa capacité de prédation (Fernandez-Diaz *et al.*, 1994). Puis, chez la larve on assiste au même moment, à l'augmentation de l'activité métabolique et à la diminution du ratio matières carbonées sur matières azotées (ratio C/N). C'est cette caractéristique qui indique que le processus biologique amenant au démarrage de l'alimentation exogène est achevé.

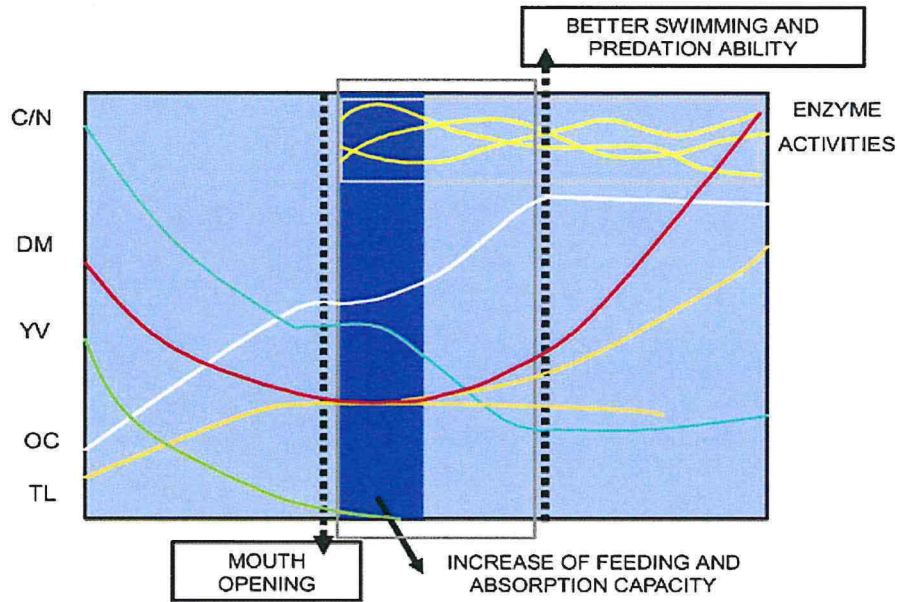


Fig. 14. Synthèse des principaux événements biologiques se produisant lors des premières phases du développement larvaire ainsi que lors de la première alimentation des larves de poissons marins (Source : Yùfera, *et al.*, 2007).

**Evolution au cours du temps (sans unité), de différents paramètres :**

**C/N** (C/N ratio) : ratio : matière carbonée/matière azotée ; **DM** (dry mass) : Poids sec ; **YV** (yolk volume) : volume de la réserve vitelline ; **OC** (specific oxygen consumption) : consommation d'oxygène spécifique ; **TL** (total length) : longueur totale de la larve.

Le ratio C/N, est un instrument utile pour évaluer l'énergie contenue dans la larve. Après l'éclosion, le ratio C/N va décroître rapidement, car les lipides de la réserve vitelline seront métabolisés en matière azotée pour l'incorporation dans les protéines structurales nécessaires au développement de la larve. Après ce moment, si aucune erreur n'est commise concernant l'apport de nourriture (qualité et quantité), la larve aura une croissance rapide et commencera à accumuler des réserves énergétiques pour la métamorphose : passage à l'état de juvénile. Malheureusement, par manque de connaissances concernant les techniques de laboratoires pouvant amener à son évaluation, le ratio C/N n'a pu être étudié pour *Amblyeleotris aurora*.

Etant bien souvent le point de blocage du développement de nouvelles espèces marines tropicales, la première alimentation larvaire aux niveaux quantitatifs et qualitatifs, a fait l'objet de nombreuses études. C'est de celles-ci que cette étude s'est largement inspirée lors des différentes expérimentations.

Au niveau quantitatifs, de façon générale, le taux d'ingestion et donc, le taux de survie augmentent avec la concentration de proie présente dans le bac d'élevage (Georgalas *et al.*,

2007, Yüfera *et al.*, 2007, ). Cependant, la concentration de proies idéale, généralement de rotifères (*Brachionus*) se situe entre : 10 (unités) / ml (Battaglène *et al.*, 2007, Olivotto *et al.*, 2005) et 20 / ml (Olivotto *et al.*, 2003), en passant par 15 (unités) / ml (Wittenrich *et al.*, 2007). Au niveau qualitatif, l'ingestion est directement limitée par la taille de la bouche. En effet, les proies sont principalement sélectionnées par la larve en fonction de leur taille et non pas de leur goût ou de tout autres facteurs (Yüfera *et al.*, 2007). Les larves de poissons sont capables d'avaler des proies ayant une taille équivalente à celle de leur bouche. Cependant, elles préfèrent des proies plus petites. Un ratio taille de la proie/ taille de la bouche de 25-50 % semble le plus approprié (Fernandez *et al.*, 1994).

De plus il a été largement démontré que l'enrichissement des proies en acides gras essentiels augmente largement le taux de survie lors des premières phases du développement larvaire (Rodriguez *et al.*, 1996, Turner *et al.*, 2005, Rabe *et al.*, 2000, Olivotto *et al.*, 2003, Olivotto *et al.*, 2005, Olivotto *et al.*, 2006b, Battaglène *et al.*, 2007, Planas *et al.*, 1999, Zambobino *et al.*, 2007, Wittenrich *et al.*, 2007). Les Acides gras essentiels les plus intéressants sont : l'acide docosahexaénoïque, l'acide eicosapentaénoïque, et l'acide arachidonique (Battaglène *et al.*, 2007). L'optimisation de la valeur alimentaire des proies constitue donc une voie de recherche privilégiée dans le développement de nouvelles espèces.

Une autre piste de recherche semble pouvoir résoudre une partie du problème de l'élevage larvaire : l'élevage en mésocosme. Il s'agit d'élever les larves dans un milieu dit : en eau verte, mélange de différentes espèces de phytoplancton et de zooplanctons. Des résultats positifs en terme de taux de survie et de croissance ont été obtenus avec différentes espèces comme les sérioles ou les mullets (Papandroulakis *et al.*, 2005, Ben Khemis *et al.*, 2006, Planas *et al.*, 1999).

Un des problèmes technique que les écloséries marines tropicales ont à résoudre rapidement, est la diversification et l'optimisation des proies vivantes apportées aux larves (Planas *et al.*, 1999). Dans la plupart des cas, les proies cultivées en éclosérie pour l'alimentation des larves sont : les rotifères, les artémias et les copépodes (Mc Kinnon *et al.*, 2003, Payne *et al.*, 2001). Or des résultats plus que positifs réalisés avec de nouvelles espèces aquacoles comme : des gobies nettoyeur, des mérus, des lançons du Pacifique et les larves de la crevette blanche ont été obtenus avec des proies plus petites comme certaines familles de ciliés marins tels que les *Euplotes* (respectivement : Olivotto *et al.*, 2005, Nagano *et al.*, 2000, Nagano *et al.*, 2001, Nagano *et al.*, 2004).

Les taux de survie larvaires de ces différentes espèces, étaient tous supérieurs avec les protocoles employant des ciliés marins. Par exemple, les larves du gobie nettoyeur alimenté uniquement avec les traditionnels rotifères ont un taux de survie de 10%. Par contre, les mêmes lots alimentés en rotifères et en ciliés marins ont un taux de survie de 50% (Olivotto *et al.*, 2005). Ces récentes découvertes démontrent l'importance de rechercher et de développer des protocoles pour la culture de nouveaux types de proies si l'on veut diversifier la production des espèces marines tropicales.

C'est en connaissant toutes ces données, que cette étude a été menée. Malheureusement, l'enrichissement en acides gras essentiels des proies vivantes distribuées aux larves d'*Amblyeleotris aurora*, n'a pu être réalisé par défaut de disponibilité. Cela est regrettable lorsqu'on sait à quel point l'enrichissement des proies affecte positivement le taux de survie des larves de poissons marins. A première vue, les résultats obtenus dans cette étude ne montrent pas de différences significatives puisque les larves d'*Amblyeleotris aurora*

n'ont pu être maintenues en vie plus de 4 jours. Cette étude n'a donc pas permis l'élaboration d'un protocole d'élevage de cette espèce. Cependant, la figure 13 permet d'apporter des explications aux raisons de ces échecs et donc de nouvelles pistes de recherches pour la maîtrise de sa reproduction.

Premièrement, les groupes 2, 3 et 4 ont connu la même évolution du taux de survie et ce, malgré les différents essais d'alimentations. Or le groupe 1 a été alimenté de la même façon que : le batch 3 du groupe 2 et le batch 1 du groupe 3, mais a survécu 12 heures de plus. La seule différence distinguant le groupe 1 des groupes 2 et 3, est que le nid contenant les œufs a été transféré avec les géniteurs, 4 heures après la fécondation. Tous les groupes ont eu un taux de survie inférieurs à 36 % lors des 36 premières heures sauf le groupe 6 qui a été proche des 50 % de survie sur la même période.

Comme pour la Limande : *Pseudopleuronectes americanus* (Butts *et al.*, 2007), il semblerait là aussi, que les soins parentaux (dans ce cas, paternels) ont une importance significative sur le taux de survie larvaire. Aussi, malgré toutes les précautions prises pour ne provoquer aucun choc thermique et physique lors du transfert des œufs à 72 HPF, l'éclosion des premières larves (groupes : 2, 3, 4 et 5) est systématiquement intervenue moins d'une heure après le transfert. Cela indique que l'éclosion était artificiellement provoquée de façon prématurée. Or, à 29°C, le temps d'incubation moyen est de 80 heures. Une éclosion vers 72 HPF, fait qu'il manque aux larves 10 % de leur développement embryonnaire. Ces 10 %, peuvent expliquer la différence significative de survie larvaire lors des 36 premières heures entre le groupe 6 (œufs transférés dans le bac d'éclosion avec le mâle à 24 HPF) et les autres groupes. En effet, le transfert des œufs du groupe 6 ayant été réalisé très tôt, il n'y a pas eu d'éclosion prématurée.

L'alimentation n'a pas l'air d'avoir d'incidence sur la survie des larves avant 36 HPE étant donné que pour tous les groupes (sauf le n°6), les lots témoins ont connu la même évolution du taux de survie lors des 36 premières heures.

Tout ceci indique que pour l'élevage d'*Amblyeleotris aurora*, il est important de soit: transférer le nid contenant les œufs avec le mâle une fois la fécondation terminée, soit transférer le nid dans le bac d'éclosion lorsque les premières larves commencent à éclore c'est-à-dire vers 96 degrés jours afin d'éviter toute éclosion prématurée.

Si cela n'a pu être réalisé pour toutes les pontes c'est pour deux raisons principales. Premièrement, le transfert du mâle dans le bac d'éclosion induit un fort stress chez celui-ci. Comme un seul couple n'était disponible pour cette étude, il avait semblé préférable de ne pas le perturber. Deuxièmement, l'éclosion se passant la nuit, et étant donné qu'il n'y avait pas possibilité d'éclairer l'écloserie, le transfert était réalisé en fin de crépuscule, juste avant qu'il fasse complètement nuit.

L'évolution de la mortalité entre 36 HPE et 60 HPE apporte elle aussi de nouvelles informations. Si pour tous les groupes une forte mortalité est retrouvée entre 0 et 36 HPE, on constate un point d'inflexion chez le taux de survie des groupes 5 et 6. Le paramètre différenciant ces deux groupes des autres, a été un volume d'élevage larvaire et un nombre de bulleurs plus important. Cela apporte une explication par rapport à la forte mortalité de surface observée lors des 60 premières heures du développement larvaire.

Le phénomène de mortalité de surface a déjà été étudié chez les larves de poissons marins (Kajia *et al.*, 2003). Il correspond à la grande quantité de larves retrouvées mortes à la surface de l'eau lors de la période correspondant au début de la première alimentation.

Toujours d'après Kajia *et al.*, (2003), cela serait dû à la tension superficielle de l'eau. En effet, les larves seraient tellement petites, que lorsqu'elles rempliraient leur vessie gazeuse, elles se retrouveraient comme emprisonnées (ou accrocher) à la surface de l'eau. N'étant pas assez fortes pour se dégager de la tension superficielle de l'eau, les larves mourraient à la surface de l'eau.

Cette théorie qui nécessite d'être plus étudiée (Kajia *et al.*, 2003) expliquerait également la différence entre le taux de survie des lots témoins des groupes 5 et 6 et le reste de ces deux groupes. En effet, il n'y a pas eu de point d'inflexion dans le taux de survie de ce lot témoins qui était placé dans un bac de 10 litres. La tension superficielle aurait été donc plus importante. Les groupes 5 et 6 ont été respectivement dans des bacs de 90 (+ 2 bulleurs + un écrémeur de surface) et 120 litres (+ 3 bulleurs + un écrémeur de surface) La tension superficielle de l'eau aurait donc été moins importante, ce qui expliquerait que le taux de survie lors de la période correspondant au remplissage de la vessie gazeuse a été plus élevé pour ces deux groupes et ce, indépendamment du type d'alimentation. Pour diminuer la tension superficielle de l'eau, il est par exemple possible de rajouter du blanc d'œufs dans le bac d'élevage larvaire (Kajia *et al.*, 2003). Malheureusement cela n'a pas été testé dans cette étude.

L'importance du moment de transfert des œufs dans le bac d'éclosion ainsi que le phénomène de mortalité de surface sur la survie larvaire d'*Amblyeleotris aurora* lors des 3 premiers jours, a fait que l'incidence du type d'alimentation sur le taux de survie n'a été significative que pour le groupe 6. Les batchs 1 et 2 de ce groupe, dont l'alimentation contenait des ciliés, ont eu une survie supplémentaire de 24 heures, par rapport au batch 3 qui a été alimenté sans cilié. Si pour *Amblyeleotris aurora*, ce résultat ne semble pas très significatif, la même expérience (avec des ciliés issus des mêmes milieux de culture), menée en parallèle au cours de ce stage avec le poisson cardinal jaune : *Apogon cyanosoma*, l'a été beaucoup plus. En effet, des larves de cette espèce alimentées avec des ciliés (même « recette » que le batch 2 du groupe 6) ont survécu jusqu'à 15 jours après l'éclosion alors qu'une mortalité de 100 % des larves (issues des mêmes pontes) était observée au bout de 5 jours en l'absence de ciliés dans l'alimentation. Cela démontre l'efficacité et l'utilité des ciliés cultivés dans le cadre de cette étude.

La différence d'inflexion des courbes représentant les taux de survie larvaires entre le batch 3 et les batchs 1 et 2 du groupe 6, constitue cependant une première preuve de l'effet bénéfique des ciliés sur la survie des larves. Comme il l'a déjà été démontré et expliqué, (Nagano *et al.*, 2000, Olivotto *et al.*, 2005), la petite taille et la nage lente des ciliés (spécialement les *Euplotes*), en font des proies idéales pour les tous premiers stades larvaires des poissons marins tropicaux de petites tailles comme : *Amblyeleotris aurora* et *Apogon cyanosoma*, respectivement : 1.73 mm et 1.79 mm.

Les nauplies de rotifères ont une taille à l'éclosion de 150 microns, ce qui correspond à la taille de la bouche des larves d'*Amblyeleotris aurora* à J.4. Cela laisse à penser que les larves de cette espèce ont besoin d'un autre aliment initial, plus petit, pouvant faire office de « pont », ou permettant la transition jusqu'à un stade où l'alimentation sur rotifères devient possible. Les ciliés de part leurs tailles inférieure à 90 microns, semblent être des candidats sérieux pour cette phase si critique qu'est la première alimentation larvaire.

En comparaison les larves du poisson clown : *Amphiprion ocellaris* ont une taille à la naissance de 2.96 mm et une nage bien plus énergétique (Naeem, 2004). Ce millimètre de plus, permet d'élever aisément cette espèce à une échelle commerciale, les

larves pouvant être alimentées dès le départ uniquement avec des rotifères (Naeem, 2004). Enfin, dans la nature, la forte concentration des ciliés dans les eaux côtières des zones tropicales, est un indicateur de plus, en faveur de l'utilité de cette famille de plancton au niveau de la première alimentation larvaire (Nagano *et al.*, 2000).

Un autre facteur a pu influencer l'évolution du taux de survie : la température de l'eau. Il y a eu en moyenne une variation de 3 à 4 degrés Celsius au cours d'un cycle journalier lors des différentes expériences d'élevage larvaire. Or, la température de l'eau est un paramètre influençant de manière significative le développement embryonnaire ainsi que le développement et le taux de survie des larves de poissons marins (Olivotto *et al.*, 2006b, Hunt von Herling, 2002, Green *et al.*, 2004, Arul, 1991). De trop fortes variations de températures au cours du cycle journalier, peuvent affaiblir les larves (qui ne sont déjà que trop peu robustes). Malheureusement, l'effet de la température n'a pu être évalué dans cette étude, par manque de matériel.

De plus, il aurait été intéressant de tester l'effet de la photopériode sur l'évolution du taux de survie larvaire. En effet, les larves de différentes espèces de poissons, ont montré un meilleur taux de survie quand elles étaient soumises à un éclairage continu de 24h / 24h (Olivotto *et al.*, 2005, Rabe *et al.*, 2000, Barlow *et al.*, 1995) . Un éclairage continu permet aux larves de s'alimenter constamment, et donc, d'augmenter le taux de survie.

## Conclusion

Si la première alimentation larvaire est une période si critique pour une éclosion marine tropicale, c'est que le taux de survie larvaire peut chuter très rapidement à 0 % si les besoins environnementaux et alimentaires ne sont pas correctement et entièrement satisfaits (Yüfera *et al.*, 2007, Rabe *et al.*, 2000, Gisbert *et al.*, 1997) . Ce problème est un handicap majeur pour la recherche, le développement et la maîtrise du cycle biologique complet de nouvelles espèces (Cahu *et al.*, 1998, Yüfera *et al.*, 2007). Car avant de connaître les besoins exactes des larves d'une espèce donnée, il faut avoir eu le temps de les étudier. Or, la courte vie des larves en l'absence de conditions d'élevage adéquates entraîne des difficultés à étudier la prise alimentaire, ainsi que la physiologie larvaire.

Cette étude n'a pas dérogé à la règle et a dû apprendre des « erreurs » commises au cours des différentes expérimentations, (ce qui nécessite du temps). Cependant, elle a permis d'apporter les données essentielles concernant le comportement de reproduction ainsi que sur les caractéristiques principales d'une ponte d'*Amblyeleotris aurora*. De plus, cette étude a permis de préciser des pistes de recherches futures pouvant amener à la maîtrise du cycle biologique complet d'*Amblyeleotris aurora*.

Des taux de survie larvaire significativement plus élevés ont été obtenus : avec un transfert précoce des œufs et du mâle dans le bac d'éclosion, avec des conditions d'élevage larvaire réduisant un maximum la tension superficielle de l'eau, ainsi qu'avec une alimentation en mésocosme incluant des ciliés.

Des recherches supplémentaires seront cependant nécessaires pour évaluer et comprendre les besoins nutritionnelles des larves d'*Amblyeleotris aurora*. L'influence de l'enrichissement des proies vivantes en acides gras essentiels, ainsi que de la température et de la photopériode, sur le taux de survie larvaire devra également faire l'objet de nouvelles



recherches si l'on veut optimiser l'élevage de cette espèce. Enfin, des techniques permettant de limiter au maximum la mort de surface lors des tous premiers jours d'élevage larvaire devront être développées si l'on veut être capable de reproduire cette espèce à une échelle commerciale. Le but final étant de pouvoir alimenter de façon durable le marché de l'aquariophilie marine, contribuant ainsi, même de façon infime, à l'allègement du prélèvement d'espèces coralliennes dans le milieu naturel.

## Bibliographie :

- Arul V., 1991. Effects of temperature on yolk utilization of *Channa striatus*. *Journal of Thermal Biology*, 16: 1-5.
- Baensch H.A., Delebius H., Moosleitner H., Patzner R., Schlüter M., Tomey W., 1997. Marine Atlas. Microcosm Ltd, Melle, Germany, Volume 1, 1216 p.
- Banner A.H., Banner D.M., 1980. Contributions to the Knowledge of the Alpheid Shrimp of the Pacific Ocean Part XIX. On *Alpheus randalli*, a New Species of the Edwardsii Group Found Living in Association with a Gobiid Fish. *Pacific Science*, 34: 401-408.
- Barlow C.G., Pearce M.G., Rodgers L.J., Clayton P., 1995. Effects of photoperiod on growth, survival and feeding periodicity of larval and juvenile barramundi *Lates calcarifer*. *Aquaculture*, 138: 159-168.
- Battaglione S.C., Cobcroft J.M., 2007. Advances in the culture of striped trumpeter larvae: A review. *Aquaculture*, 268: 195 – 208.
- Ben Khemis I., Zouiten D., Besbes R., Kamoun F., 2006. Larval rearing and weaning of thick lipped grey mullet (*Chelon labrosus*) in mesocosm with semi-extensive technology. *Aquaculture*, 259:190-201.
- Biodeug, 2008. Cours de biologie générale. [On line]. <[http:// www.biodeug.com](http://www.biodeug.com)>.
- Bransden M.P., Battaglione S.C., Goldsmid R.M., Dunstan G.A., Nichols P.D., 2007. Broodstock condition, egg morphology and lipid content and composition during the spawning season of captive striped trumpeter, *Latris lineate*. *Aquaculture*, 268: 2-12.
- Butts I., Litvak M., 2007. Parental and stock effects on larval growth and survival to metamorphosis in winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*). *Aquaculture*, 269: 239-248.
- Duray M., Estudillo C., Aplazan L., 1997. Larval rearing of the grouper *Epinephelus suillus* under laboratory conditions. *Aquaculture*, 150: 63-76.
- FAO (Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture), 1995. Production halieutique mondiale 1950-1993. Supplément à l'Annuaire FAO des statistiques de pêche 1993. Vol. 76. Captures et quantités débarquées. Rome, Italie. 44 p.
- FAO (Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture), 1996. Manual on the Production of Live Food for Aquaculture. Laboratory of Aquaculture and Artemia Reference center, University of Ghent, Ghent, Belgium. FAO Fisheries Technical Paper 361. Rome, Italy, 295p.
- FAO (Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture), 2001. *The ornamental fish market*, 67 : 2-91.

- FAO (Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture), 2005. Le commerce agricole et la pauvreté: le commerce peut-il être au service des pauvres? La Situation Mondiale De l'Alimentation et de l'Agriculture. Rome, Italie, 225p.
- Fernandez-Diaz C., Pascual E., Yùfera M., 1994. Feeding behaviour and prey size selection of gilthead seabream, *Sparus aurata*, larvae on inert and live food. *Marine Biology*, 118: 323-328.
- Fishbase, 2008. Base de données aquacole. [On line]. <<http://www.fishbase.org>>.
- Poisson d'or, 2008. Catalogue d'aquariophilie en ligne. [On line]. <<http://www.poisson-or.com>>.
- Georgalas V., Malavasi S., Franzoi P., Torricelli P., 2007. Swimming activity and feeding behaviour of larval European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L): Effects of ontogeny and increasing food density. *Aquaculture*, 264 : 418-427.
- Gisbert E., Williot P., 1997. Larval behaviour and effect of the timing of initial feeding on growth and survival of Siberian sturgeon (*Acipenser heri*) larvae under small scale hatchery production. *Aquaculture*, 156: 63-76
- Gomes L.A., 1996. Can marine ornamental fish be farm raised?. *Infofish international*, 3: 27-32.
- Green B.S., Fisher R., 2004. Temperature influences swimming speed, growth and larval duration in coral reef fish larvae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 299: 115-132.
- Hunt von Herling I., 2002. Effects of temperature on larval fish swimming performance: the importance of physics to physiology. *Journal of Fish Biology*, 61: 865-876.
- Kajia T.,\*, Kodamab M., Araib H., Tanakaa M., Tagawaa M., 2003. Prevention of surface death of marine fish larvae by the addition of egg white into rearing water. *Aquaculture*, 224: 313-322.
- Kerstitch A., 1995. Farmers of the sea, the blue revolution. *Fresh Water and Marine Aquarium*, monthly magazine of February 1995: 48-50.
- Le Grand Bleu, 2008. Catalogue d'aquariophilie en ligne. [On line]. <<http://www.Legrandbleu.vpc.com>>.
- Lin Q., Lu J., Gao Y., Shen L., Cai J., Luo J., 2006. The effects of temperature on gonad, embryonic development and survival rate of Juvenile seahorses, *Hippocampus kuda* Bleeker. *Aquaculture*, 254: 701-713.
- Matthew L., Wittenrich L., Ralph G., Leroy Creswell R., 2007. Spawning, early development and first feeding in the gobiid fish *Priolepsis nocturna*. *Aquaculture*, 270: 132-141.

- Mc Kinnon A.D., Duggan S., Nichols P.D., Rimmer M.A., Semmens G., Robino B., 2003. The potential of tropical paracalanid copepods as live feed in aquaculture. *Aquaculture*, 223: 89-106.
- Morehead D.T., Hart P.R., Dunstan G.A., Brown M., Pankhurst N.W., 2001. Differences in egg quality between wild striped trumpeter: *Latris lineata*, and captive striped trumpeter that were fed different diets. *Aquaculture*, 192: 39-53.
- Naeem I., 2004. Effect on vitamin C on growth and survival of the false clown anemofish larvae. Master degree of Marine Science, Burapha University, Thailand. 66p.
- Nagano N., Iwatsuki Y., Kamiyama H., Nakata H., 2000. Ciliated protozoans as food for first feeding larval grouper, *Epinephelus septemfasciatus*: Laboratory experiment. *Plankton Biology & Ecology*, 47: 93-99.
- Nagano N., Iwatsuki Y., Kamiyama H., Okazaki Y., Nakata H., 2001. Feeding Strategy of Japanese Sand Lance Larvae in Relation to Ciliated protozoa in the Vicinity of a Thermohaline Front. *Journal of Oceanography*, 57: 155-163.
- Nagano N., Decamp O., 2004. Ingestion of a ciliated protozoa by first-feeding larval stage of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research*, 35: 516-518.
- Olivotto I., Marco C., Barbaresi L., Maradonna F., Carnevali O., 2003. Coral reef fish breeding: the secrets of each species. *Aquaculture*, 224: 69-78.
- Olivotto I., Carnevali O., Zenobi A., Rollo A., Migliarini B., Avella M., 2005. Breeding, rearing and feeding studies in the cleaner goby *Gobiosoma evelynae*. *Aquaculture*, 250: 175-182.
- Olivotto I., Rollo A., Avella M., Sulpizio R., Tosti L., Carnevali O., 2006a. Breeding and rearing the sunrise dottyback *Pseudochromis flavivertex*: the importance of live prey enrichment during larval development. *Aquaculture*, 255: 480-487.
- Olivotto I., Holtb S., Carnevalia O., 2006b. Spawning, early development, and first feeding in the lemonpeel angelfish *Centropyge flavissimus*. *Aquaculture*, 253: 270-278.
- Papandroulakis N., Mylonas C.C., Maingot E., Divanach P., 2005. First results of greater amberjack (*Seriola dumerili*) larval rearing in mesocosm. *Aquaculture*, 250: 155-161.
- Payne M.F., Rippingale R.J., 2001. Intensive cultivation of calanoid copepods *Gladiophereus imparipes*. *Aquaculture*, 201: 329-342.
- Planas M., Cunha I., 1999. Larviculture of marine fish: problems and perspectives. *Aquaculture*, 177: 171-190.
- PNUE - IUCN, 2003. Planet's List of Protected Areas Tops 100,000 Mark. In: United Nations Environment Programme (UNEP) and the IUCN- World Conservation Union report. Durban, South Africa, 9 September 2003.

- PNUE - WCMC, 2006. In the Front Line: Shoreline Protection and other Ecosystem Services from Mangroves and Coral Reefs. *In*: United Nations Environment Programme (UNEP) report. Nairobi, Kenya, 24 January 2006.
- Polunin N.V.C., Lubbock R., 1977. Prawn-associated gobies (Teleostei: Gobiidae) from the Seychelles, western Indian Ocean: systematics and ecology. *Journal of Zoology*, 183: 63-101.
- Rabe J., Brown J., 2000. A pulse feeding strategy for rearing larval fish: an experiment with yellowtail flounder. *Aquaculture*, 191 : 289–302.
- Rodríguez C., Pérez J.A., Izquierdo M.S., Cejas J.R., Bolaños A., Lorenzo A., 1996. Improvement of the nutritional value of rotifers by varying the type and concentration of oil and the enrichment period. *Aquaculture*, 147: 93–105.
- Spalding M.D., Ravilious C., Green EP., 2001. World Atlas of Coral Reefs. *University of California Press*, Los Angeles, USA. p. 78-92.
- Theilacker G.H., 1978. Effect on starvation on the histological and morphological characteristics of Jack Mackerel, *Trachurus symmetricus*; larvae. *Fishing Bulletin U.S.*, 76: 403-414.
- Turner S.J., Thrush S.F., Hewitt J.E., Cumming V.J., Funell G., 1999. Fishing impacts and the degradation or loss of habitat structure. *Fisheries Management and Ecology*, 22: 401-420.
- Yùfera M., Darias M.J., 2007. The onset of exogenous feeding in marine fish larvae. *Aquaculture*, 268: 53-63.
- Wittenrich M., Turingan R., Creswell L., 2007. Spawning, early development and first feeding in the gobiid fish *Priolepsis nocturna*. *Aquaculture*, 270: 132-141.
- Zambonino J.L., Cahu C.L., 2007. Dietary modulation of some digestive enzymes and Metabolic processes in developing marine fish: Applications to diet formulation. *Aquaculture*, 268: 98–105.