

Note technique

L'UTILISATION DE L'HUILE DE CLOU DE GIROFLE COMME ANESTHÉSIQUE POUR LES SMOLTS DE SAUMON ATLANTIQUE (*SALMO SALAR* L.) ET COMPARAISON DE SES EFFETS AVEC CEUX DU 2-PHÉNOXYÉTHANOL.

M. CHANSEAU (1), S. BOSCH (1), E. GALIAY (2), G. OULES

(1) MI.GA.DO., 18 ter rue de la Garonne, 47520 LE PASSAGE.

(2) GHAAPPE, Institut de Mécanique des Fluides, Avenue du Professeur Camille Soula, 31400 TOULOUSE.

Reçu le 29 mars 2001
Accepté le 25 juin 2001

Received 29 March, 2001
Accepted 25 June, 2001

RÉSUMÉ

Cette étude révèle que l'huile de clou de girofle est un bon anesthésique pour les smolts de saumon atlantique, plus performant que le 2-phénoxyéthanol car agissant pour de plus faibles concentrations. Elle présente de plus un facteur de sécurité plus élevé, permettant notamment des temps d'exposition à l'anesthésique plus importants. Le temps de recouvrement de la position d'équilibre est toutefois nettement plus long chez les poissons anesthésiés avec l'huile de clou de girofle.

Les concentrations optimales permettant la manipulation des poissons, les mesures des tailles et des poids, de même que le marquage à l'aide de Pit-Tag, se situent entre $1,7 \cdot 10^{-4}$ mol.L⁻¹ et $2,35 \cdot 10^{-4}$ mol.L⁻¹, soit entre 0,3 mL et 0,4 mL d'huile essentielle de clou de girofle (90 % d'eugénol) pour 10 litres d'eau. Cet anesthésique étant peu soluble dans l'eau, en particulier lorsque la température de l'eau est relativement basse (15°C ou moins), un volume d'éthanol correspondant à 10 fois le volume d'huile doit être rajouté.

Mots-clés : anesthésique, huile de clou de girofle, eugénol, 2-phénoxyéthanol, saumon atlantique, *Salmo salar*, smolt.

THE USE OF CLOVE OIL AS AN ANESTHETIC FOR ATLANTIC SALMON SMOLTS (*SALMO SALAR* L.) AND COMPARISON OF ITS EFFECTS WITH THOSE OF 2-PHENOXYETHANOL.

ABSTRACT

Clove oil appeared to be a good anesthetic for atlantic salmon smolts, more efficient than 2-phenoxyethanol because acting at lower concentrations. Furthermore, it presents a larger safety margin, allowing longer exposure to anesthetic. Recovery times of fish anesthetised with clove oil are markedly higher than with 2-phenoxyethanol.

Optimum concentrations allowing handling fish, measuring, weighting and marking with Pit-Tag are between 1.7 and $2.35 \cdot 10^{-4}$ mol.L⁻¹ i.e. 0.3 mL and 0.4 mL of clove oil (90% eugenol) for 10 L. of water. Because clove oil is not well soluble at water temperature less than 15°C, it must be dissolved in ethanol at a ratio 1:10 / clove oil:ethanol.

Key-words : anesthetic, clove oil, eugenol, 2-Phenoxyethanol, atlantic salmon, *Salmo salar*, smolt.

INTRODUCTION

Le 2-phénoxyéthanol est un des anesthésiques les plus couramment utilisés en France, notamment dans les piscicultures destinées à la production de poissons de repeuplement. Cet anesthésique est pourtant très peu employé outre-atlantique, aux Etats-Unis et au Canada (MARKING et MEYER, 1985), en raison notamment des faibles différences existant entre les doses efficaces et les doses toxiques (faible marge de sécurité) et de ses effets physiologiques probables pouvant affecter la survie à long terme des poissons (SUMMERFELT et SMITH, 1990).

Un anesthésique idéal pour la pisciculture requiert plusieurs caractéristiques, notamment celles : (1) d'entraîner une rapide immobilité du poisson (3 minutes ou moins), (2) de permettre une récupération rapide (5 minutes ou moins), (3) d'être non toxique pour le poisson et pour l'homme, (4) d'avoir une grande marge de sécurité, (5) de permettre un temps d'exposition « raisonnable », (6) de ne pas engendrer d'effets cumulatifs suite à des expositions répétées (d'après MARKING et MEYER, 1985 ; SUMMERFELT et SMITH, 1990).

Cinq stades d'anesthésie ont été décrits dans la littérature : (1) perte partielle de l'équilibre avec activité de nage « normale », (2) perte totale de l'équilibre avec activité de nage « normale », (3) perte partielle de l'activité de nage, (4) perte totale de l'activité de nage avec de faibles mouvements des opercules, (5) absence de mouvements operculaires (d'après PEAKE, 1998). Le stade 4 est celui généralement requis pour des opérations chirurgicales ou la mise en place d'émetteurs de télémétrie.

Des études, récentes pour la plupart, ont mis en évidence les pouvoirs anesthésiques de l'huile de clou de girofle sur les poissons (ENDO *et al.*, 1972 ; HIKASA *et al.*, 1986 ; SOTTO et BURHANUDDIN, 1995 ; MUNDAY et WILSON, 1997 ; PEAKE, 1998 ; WATERSTRAT, 1999). Des études ont été réalisées chez les salmonidés (ANDERSON *et al.*, 1997 ; TAYLOR et ROBERTS, 1999), mais aucune, à notre connaissance, ne s'est intéressée aux effets de cet anesthésique sur les smolts de saumon atlantique (*Salmo salar* L.) qui, à ce stade de leur développement, subissent de profonds changements physiologiques, susceptibles de modifier les effets de l'anesthésique.

Les objectifs de la présente étude, réalisée volontairement dans les conditions les plus proches de celles rencontrées sur le terrain, étaient (1) d'étudier la capacité de l'huile de clou de girofle à anesthésier les smolts de saumon atlantique et de comparer ses effets avec ceux du 2-phénoxyéthanol, (2) de déterminer les concentrations permettant la manipulation des poissons -mesures de la taille et du poids-, (3) de déterminer les limites d'utilisation de l'huile de clou de girofle, en particulier les temps d'exposition en relation avec les concentrations utilisées et de les comparer avec celles du 2-phénoxyéthanol.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Site d'étude

L'étude a été conduite à la pisciculture domaniale de Pont-Crouzet (département du Tarn, sud de la France) mise à disposition de MI.GA.DO. (MIgrateurs GAronne-DOrdogne) par le Conseil Supérieur de la Pêche. Cette pisciculture est entièrement vouée à la production de sujets de repeuplement de saumon atlantique dans le cadre du plan de restauration de ce poisson sur le bassin de la Garonne.

Poissons

Les poissons utilisés dans cette expérimentation sont des smolts de saumon atlantique (*Salmo salar*) provenant de géniteurs enfermés de première génération, mis en incubation à l'écloserie de Pont-Crouzet et élevés dans les bassins de la pisciculture.

Les poissons utilisés dans les expérimentations ont un poids moyen de 52,6 g (S.D. : 8,1) et une taille moyenne de 17,9 cm (S.D. : 0,95).

Protocole

Cinq jours avant les expérimentations, les poissons sont triés et leur degré de smoltification est estimé (coloration, forme générale du corps). Les individus retenus sont stockés dans des bassins de type suédois subcarrés (2 x 2 x 0,6 m) à raison de 30 poissons par bassin. Trente six heures environ avant le début des expérimentations, les poissons ne sont plus nourris.

Deux expérimentations ont été réalisées début mai 2000, chacune se déroulant sur une journée. La première (expérimentation 1) est destinée à comparer les effets de différentes concentrations des deux anesthésiques (3 concentrations pour chaque produit). La seconde (expérimentation 2) s'est intéressée aux temps d'exposition (5 ou 10 minutes) des poissons pour 2 concentrations des produits.

Les poissons sont pris à l'épuisette dans les bassins de stabulation puis placés individuellement dans des seaux contenant 10 L d'eau et différentes concentrations de produit. Pour chacun des deux produits anesthésiques, chaque concentration et chaque combinaison de concentration et de temps d'exposition, 10 poissons ont été testés. A la fin de chaque test, les poissons sont pesés et mesurés puis placés dans un seau de réveil contenant 10 L d'eau.

Anesthésique et temps d'exposition

Les deux anesthésiques testés sont l'huile essentielle de clou de girofle (90 % d'eugénol, masse molaire 164,21 g.mol⁻¹, densité 1,068), que tout un chacun peut se procurer dans la plupart des pharmacies en France, et le 2-phénoxyéthanol (99 % produit actif, masse molaire 138,17 g.mol⁻¹, densité 1,11).

Trois concentrations sont testées lors de l'expérimentation 1 : 1,17.10⁻⁴ mol.L⁻¹ (soit 0,02 mL.L⁻¹), 2,35.10⁻⁴ mol.L⁻¹ (soit 0,04 mL.L⁻¹) et 4,7.10⁻⁴ mol.L⁻¹ (soit 0,08 mL.L⁻¹) pour l'huile de clou de girofle ; 2.10⁻³ mol.L⁻¹ (soit 0,25 mL.L⁻¹), 4.10⁻³ mol.L⁻¹ (soit 0,5 mL.L⁻¹), et 8.10⁻³ mol.L⁻¹ (soit 1 mL.L⁻¹) pour le 2-phénoxyéthanol. Les concentrations d'huile de clou de girofle testées ont été déterminées à partir d'études préliminaires réalisées quelques jours avant les expérimentations. La concentration de 2-phénoxyéthanol habituellement utilisée pour endormir les smolts de saumon atlantique est de 4.10⁻³ mol.L⁻¹.

L'huile de clou de girofle, et à un degré moindre le 2-phénoxyéthanol, étant très peu solubles dans l'eau, et afin d'uniformiser les expérimentations, les deux anesthésiques, à toutes les concentrations, sont mélangés à 8 ml d'alcool à 90° (éthanol).

Les poissons testés lors de l'expérimentation 2 sont plongés dans les solutions anesthésiques durant 5 ou 10 minutes. Seules les deux concentrations les plus élevées des deux anesthésiques sont testées en regard des résultats obtenus lors de l'expérimentation 1.

Critères d'anesthésie et de réveil

En ce qui concerne l'anesthésie, les temps mis par les poissons pour atteindre les stades 1 et 4 ont été chronométrés. Le stade 1 est caractérisé par une légère perte de l'équilibre et le début de la nage sur un flanc. Le stade 4 est atteint lorsque le poisson est posé sur le fond du seau d'endormissement et qu'il ne réagit plus à des mouvements de main. Les analyses statistiques ne porteront que sur le stade 4, stade permettant la manipulation du poisson.

En ce qui concerne le réveil, les durées chronométrées correspondent aux temps mis par les poissons pour effectuer leur premier mouvement une fois qu'ils ont été placés dans le seau de réveil puis leur retour à la position d'équilibre. Seul le retour à la position d'équilibre sera pris en compte dans les analyses statistiques ultérieures.

Paramètres du milieu

Ont été mesurés en continu : la température de l'eau (WTW OXY 330-SET), son pH (WTW PH 330-SET) ainsi que la saturation en O₂ dans les seaux d'endormissement et de réveil (WTW OXY 330-SET).

La température de l'eau a varié de 10,8°C à 12,1°C et de 12,1°C à 14,1°C respectivement lors des expérimentations 1 et 2. Le pH de l'eau est resté constant, aux alentours de 7,7, au cours des deux expérimentations.

Des mesures du taux de saturation de l'eau en oxygène ont été réalisées en continu dans les seaux d'anesthésie et de réveil et ont permis de constater que ce taux n'a jamais été inférieur à 89 % au cours des expérimentations.

Survie

Les poissons testés ont été replacés dans des bassins de stabulation subcarrés, chaque bassin correspondant à un produit et une concentration (expérimentation 1) ou à un produit, une concentration et un temps d'exposition (expérimentation 2).

De plus, afin de s'assurer que les effets de l'alcool n'interféraient pas avec ceux des anesthésiques, des poissons ont été exposés à de l'alcool seul (8 mL dans 10 L d'eau) puis plongés dans les seaux d'endormissement et de réveil durant 5 minutes pour l'expérimentation 1 et 10 minutes pour l'expérimentation 2. Ces temps correspondent aux temps maximums d'exposition aux produits anesthésiques lors des 2 expérimentations. D'autres poissons ont subi par ailleurs les mêmes manipulations sans être exposés à aucun produit, ni anesthésique, ni alcool.

Durant les 48 heures suivant les expérimentations, les mortalités journalières des poissons dans les différents bassins de stabulation ont été relevées.

Analyse des données

Les différentes concentrations testées ont été ramenées à des concentrations par gramme de poisson (mol.L⁻¹.g⁻¹) afin de minimiser l'influence des variations de taille des sujets. Des transformations logarithmiques ont été effectuées sur tous les temps enregistrés et analysés par la suite.

Des régressions linéaires simples ont été utilisées pour étudier la relation entre les concentrations des anesthésiques et le temps d'induction du stade 4 de l'anesthésie. Une comparaison des pentes des droites de régression des deux produits a été effectuée (ZAR, 1996) afin de mettre en évidence d'éventuelles différences concernant les effets des anesthésiques en relation avec leurs concentrations. Des analyses de variance (ANOVA) à 1 facteur ont permis de comparer les temps d'induction des deux produits ainsi que les temps de recouvrement de la position d'équilibre.

RÉSULTATS

EXPERIMENTATION 1

L'huile de clou de girofle est un anesthésique plus puissant que le 2-phénoxyéthanol, agissant pour des concentrations nettement plus faibles (Tableau I et Figure 1).

Les temps mis par les poissons pour atteindre le stade 4 de l'anesthésie sont fortement liés aux concentrations des produits utilisés, comme indiqué par les valeurs élevées des R^2 de chaque régression linéaire simple : pour l'huile de clou de girofle et le 2-phénoxyéthanol, respectivement $R^2 = 0,85$ et $R^2 = 0,71$. Plus la concentration en anesthésique est importante et plus les poissons sont endormis rapidement (Figures 1 et 2).

La comparaison des pentes des droites de régression exprimant la relation entre les temps d'induction du stade 4 de l'anesthésie et les concentrations des produits testés révèle des différences statistiquement significatives ($t = 10,86$, $p < 0,001$). Les réactions des poissons aux variations de concentration des anesthésiques sont donc beaucoup plus progressives avec l'huile de clou de girofle qu'avec le 2-phénoxyéthanol (Figure 1).

Tableau I

Temps moyens d'anesthésie (stade 1 : perte partielle de l'équilibre avec activité de nage « normale » ; stade 4 : perte totale de l'activité de nage avec de faibles mouvements des opercules) et de réveil de smolts de saumon atlantique endormis à l'aide de 3 concentrations d'huile de clou de girofle et de 2-phénoxyéthanol.

Table I

Mean times of induction and recovery for atlantic salmon smolts anesthetized with three concentrations of clove oil and 2-phenoxyethanol.

| Anesthésique | Concentration (mol.L ⁻¹) | Nombre poissons | Poids moyen en g. (SD) | Anesthésie en sec. (SD) | | Réveil en sec. (SD) | |
|------------------|--------------------------------------|-----------------|------------------------|-------------------------|--------------|---------------------------|---------------|
| | | | | Stade 1 | Stade 4 | 1 ^{er} mouvement | Equilibre |
| Clou de girofle | 1,17.10 ⁻⁴ | 10 | 55,2 (9,0) | 67,5 (16,2) | 189,6 (21,1) | 106,2 (38,9) | 196,3 (32,7) |
| | 2,35.10 ⁻⁴ | 10 | 53,4 (8,1) | 56,1 (9,2) | 124,4 (13,4) | 117,4 (43,6) | 223,6 (35,1) |
| | 4,7.10 ⁻⁴ | 9 | 56,6 (5,0) | 45,3 (5,5) | 79,2 (11,3) | 177,3 (30,2) | 264,0 (41,7) |
| 2-Phénoxyéthanol | 2.10 ⁻³ | 10 | 48,6 (8,4) | 128,1 (27,9) | 341 (128,9) | 103,1 (73,1) | 236,9 (132,9) |
| | 4.10 ⁻³ | 10 | 46,6 (6,9) | 68,8 (10,5) | 121,8 (33,8) | 58,7 (30,6) | 116,6 (56,1) |
| | 8.10 ⁻³ | 10 | 46,7 (6,0) | 42,4 (7,3) | 65,8 (13,8) | 70,0 (20,0) | 144,6 (49,6) |

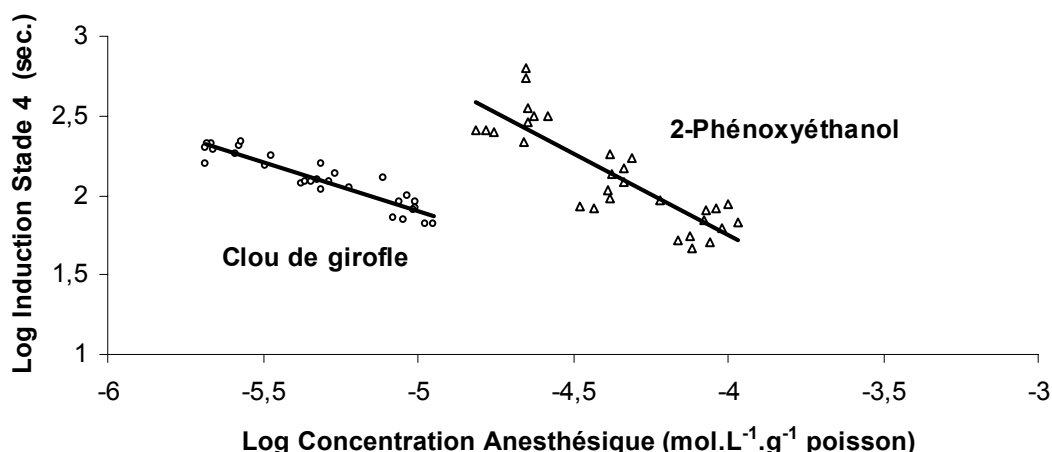


Figure 1
 Relation entre la concentration en huile de clou de girofle et en 2-phénoxyéthanol et le temps nécessaire à la perte totale de l'équilibre pour des smolts de saumon atlantique.

Figure 1
 Relationship between clove oil and 2-phenoxyethanol concentrations and times required to total loss of equilibrium for atlantic salmon smolts.

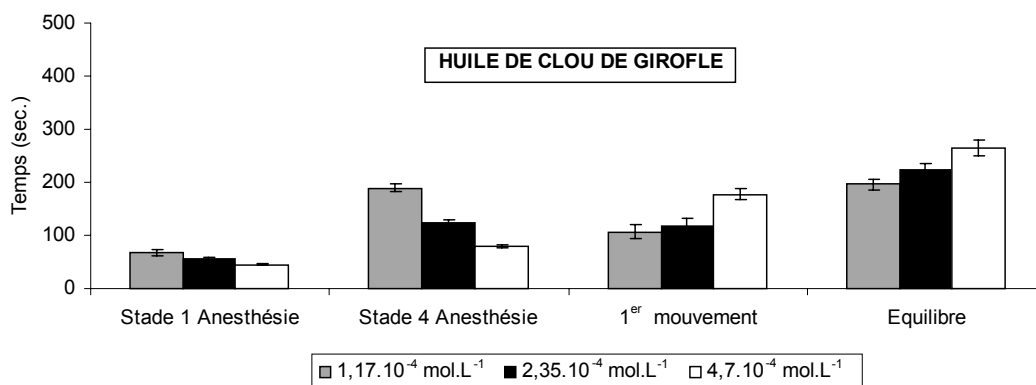


Figure 2
 Temps moyen d'anesthésie et de réveil chez des smolts de saumon atlantique exposés à des concentrations en huile de clou de girofle de $1,17 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$, $2,35 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ et $4,7 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$.

Figure 2
 Mean times of induction and recovery for atlantic salmon smolts exposed to clove oil at concentrations of $1,17 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$, $2,35 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ and $4,7 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$.

Les concentrations les plus faibles des deux anesthésiques ne paraissent pas satisfaisantes. En ce qui concerne l'huile de clou de girofle, les poissons sont difficiles à manipuler, la majorité d'entre eux bougeant sur le réglet de mesure ou sur la balance alors que le stade 4 de l'anesthésie semble pourtant avoir été atteint. Quant à la plus faible concentration testée de 2-phénoxyéthanol, le temps d'induction, supérieur en moyenne à 5 minutes, est très important. Les poissons sont également difficiles à manipuler.

Des analyses de variance à 1 facteur n'ont mis en évidence aucune différence significative concernant les temps d'induction du stade 4 des deux anesthésiques pour les deux concentrations les plus élevées : $F_{1,19} = 0,30$, $p = 0,59$ pour les concentrations de $2,35 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ d'huile de clou de girofle et $4 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de 2-phénoxyéthanol et $F_{1,18} = 1,82$, $p = 0,19$ pour les concentrations de $4,7 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ d'huile de clou de girofle et $8 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de 2-phénoxyéthanol (Figures 2 et 3).

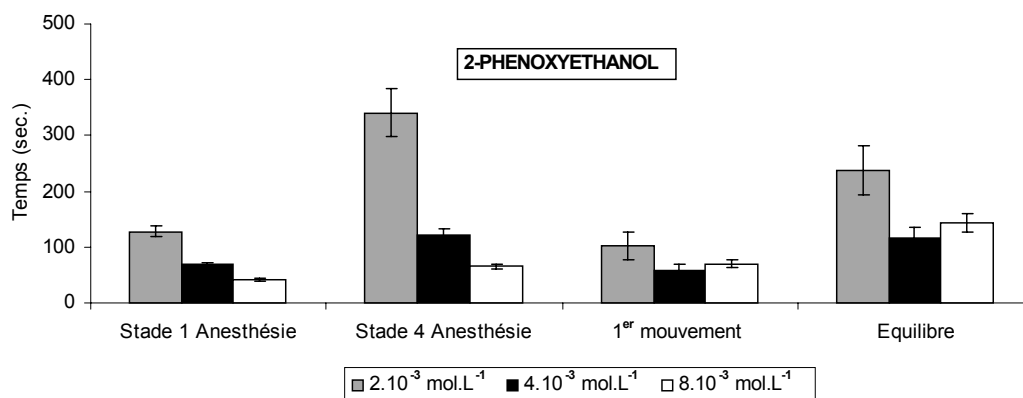


Figure 3
Temps moyen d'anesthésie et de réveil chez des smolts de saumon atlantique exposés à des concentrations en 2-phénoxyéthanol de $2 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, $4 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ et $8 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$.

Figure 3
Mean times of induction and recovery for atlantic salmon smolts anesthetized with 2-phenoxyethanol at concentrations of $2 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, $4 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ and $8 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$.

Les temps d'induction du stade 4 de l'anesthésie n'étant pas significativement différents pour les concentrations intermédiaires et les plus fortes des deux anesthésiques, l'analyse des temps de réveil doit ainsi permettre de comparer les effets réels des deux anesthésiques sur le recouvrement de la position d'équilibre. Il apparaît que pour les concentrations intermédiaires des produits ($2,35 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ d'huile de clou de girofle et $4 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de 2-phénoxyéthanol), les temps de réveil des poissons endormis avec le clou de girofle sont significativement plus importants que pour ceux endormis avec le 2-phénoxyéthanol (ANOVA, $F_{1,19} = 23,1$, $p < 0,0001$). Des résultats comparables sont obtenus pour les concentrations les plus élevées des deux produits (ANOVA, $F_{1,18} = 27,5$, $p < 0,0001$).

Il est enfin apparu que, avec le 2-phénoxyéthanol, les poissons ayant mis le plus de temps à recouvrer leur position d'équilibre sont ceux qui ont été exposés aux plus faibles concentrations, c'est à dire ceux qui ont été exposés le plus longtemps au produit alors qu'avec l'huile de clou de girofle, ce sont ceux exposés aux plus fortes concentrations de produit. Ce résultat laisse à penser qu'une exposition prolongée des poissons dans une solution contenant du 2-phénoxyéthanol peut être dommageable pour le poisson. Ces observations ont en partie motivé la réalisation de l'expérimentation 2.

Aucune mortalité n'a été constatée dans les 48 heures qui ont suivi l'expérimentation, aussi bien pour les poissons anesthésiés que pour les 2 lots témoins (alcool seul et manipulation seule).

EXPERIMENTATION 2

Dans cette expérimentation, et en regard des résultats obtenus lors de l'expérimentation 1, les smolts ont été plongés 5 ou 10 minutes dans des bains contenant les concentrations intermédiaires et les plus fortes testées précédemment : $2,35 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ et $4,7 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ pour l'huile de clou de girofle, et $4 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ et $8 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ pour le 2-phénoxyéthanol. Les résultats sont présentés dans le Tableau II et sur la Figure 4.

Pour les concentrations les plus faibles testées, il apparaît, tout comme lors de l'expérimentation 1, que les poissons endormis avec l'huile de clou de girofle mettent beaucoup plus de temps à recouvrer leur position d'équilibre que ceux anesthésiés à l'aide du 2-phénoxyéthanol, aussi bien après 5 minutes (ANOVA, $F_{1,19} = 100,84$, $p < 0,0001$) qu'après 10 minutes (ANOVA, $F_{1,18} = 36,00$, $p < 0,0001$) d'exposition aux produits. Les durées de recouvrement dépassent en moyenne 13 minutes pour les individus plongés 10 minutes dans le bain contenant l'huile de clou de girofle.

Pour les plus fortes concentrations testées, 8 des 10 poissons exposés durant 5 minutes au 2-phénoxyéthanol sont morts durant l'anesthésie alors que la totalité des individus endormis à l'aide d'huile de clou de girofle ont bien supporté le traitement, recouvrant même leur position d'équilibre plus rapidement en moyenne que ceux plongés 10 minutes dans un bain de concentration deux fois inférieure. Des expositions de 10 minutes pour les plus fortes concentrations d'huile de clou de girofle ont par contre entraîné la mort de tous les poissons testés, révélant les limites d'utilisation de ce produit. Les tests de 10 minutes n'ont pas été effectués avec le 2-phénoxyéthanol en regard des résultats obtenus avec des temps d'exposition de 5 minutes.

Aucune mortalité n'a été constatée dans les 48 heures qui ont suivi l'expérimentation, excepté les poissons morts durant l'anesthésie pour les plus fortes concentrations des produits.

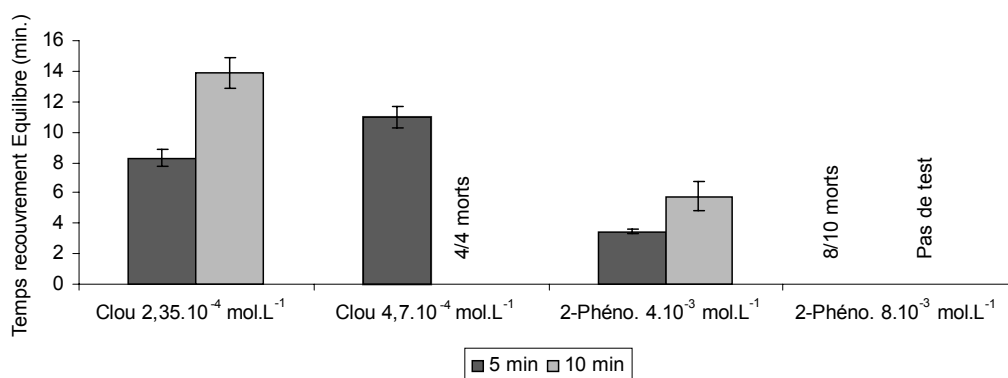


Figure 4
Temps moyens de retour à la position d'équilibre de smolts de saumon atlantique exposés durant 5 ou 10 minutes à des concentrations de $2,35 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ et $4,7 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ d'huile de clou de girofle et à des concentrations de $4 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ et $8 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de 2-phénoxyéthanol.

Figure 4
Mean times of equilibrium recovery for atlantic salmon smolts exposed during 5 or 10 minutes to clove oil concentrations of $2,35 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ and $4,7 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ and to 2-phenoxyethanol concentrations of $4 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ et $8 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$.

Tableau II

Temps moyens de réveil de smolts de saumon atlantique plongés 5 ou 10 minutes dans des bains anesthésiques contenant des concentrations de $2,35 \cdot 10^{-4}$ mol.L⁻¹ et $4,7 \cdot 10^{-4}$ mol.L⁻¹ d'huile de clou de girofle ou des concentrations de $4 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹ et $8 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹ de 2-phénoxyéthanol.

Table II

Mean times of recovery for atlantic salmon smolts exposed during 5 or 10 minutes to solutions containing clove oil concentrations of $2.35 \cdot 10^{-4}$ mol.L⁻¹ and $4.7 \cdot 10^{-4}$ mol.L⁻¹ or 2-phenoxyethanol concentrations of $4 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹ and $8 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹.

| Anesthésique | Concentration (mol.L ⁻¹) | Durée d'exposition | Nombre poissons | Poids moyen en g. (SD) | 1 ^{er} mouvement en sec. (SD) | Equilibre en sec. (SD) |
|------------------|--------------------------------------|--------------------|-----------------|------------------------|--|------------------------|
| Clou de girofle | $2,35 \cdot 10^{-4}$ | 5 min. | 10 | 56,5 (11,6) | 390,3 (102,3) | 498,4 (108,1) |
| | | 10 min. | 9 | 51,8 (8,0) | 675,5 (126,1) | 831,9 (164,3) |
| | $4,7 \cdot 10^{-4}$ | 5 min. | 9 | 55,3 (6,0) | 546,4 (132,3) | 659 (121,0) |
| | | 10 min. | 4 | 53,2 (6,1) | 4/4 morts | 4/4 morts |
| 2-Phénoxyéthanol | $4 \cdot 10^{-3}$ | 5 min. | 10 | 56,1 (3,6) | 73,3 (21,3) | 207,5 (25,2) |
| | | 10 min. | 10 | 52,3 (4,4) | 71,9 (15,9) | 346,1 (166,5) |
| | $8 \cdot 10^{-3}$ | 5 min. | 10 | 51,9 (7,2) | 8/10 morts | 8/10 morts |

DISCUSSION

L'huile de clou de girofle est apparue être un anesthésique performant pour les smolts de saumon atlantique, plus puissant que le 2-phénoxyéthanol car agissant à des concentrations nettement plus faibles. Des résultats comparables ont été obtenus pour d'autres espèces de poissons (MUNDAY et WILSON, 1997).

Le facteur de sécurité de l'huile de clou de girofle, c'est à dire la marge existant entre les concentrations efficaces et les concentrations toxiques, semble élevé, plus important en tout cas que celui du 2-phénoxyéthanol. D'une part, la réaction des poissons, en particulier le temps d'induction du stade 4 de l'anesthésie, à l'augmentation des concentrations, est beaucoup plus progressive et, d'autre part, les poissons résistent beaucoup mieux à une immersion prolongée dans un bain contenant une concentration élevée d'huile de clou de girofle. Ces constatations sont importantes à prendre en compte quand il s'agit, par exemple, d'opérations de marquage de masse au cours desquelles, afin de gagner du temps, de nombreux poissons sont endormis en même temps, les derniers poissons marqués pouvant alors rester des temps conséquents dans le bain anesthésique. De plus, sur le terrain, les concentrations utilisées peuvent être approximatives : des erreurs de dosage, en particulier des concentrations plus élevées que celles habituellement utilisées, semblent présenter moins de risques s'il s'agit d'huile de clou de girofle.

Les temps de récupération des smolts sont nettement plus importants avec l'huile de clou de girofle qu'avec le 2-phénoxyéthanol. La présente étude a réellement permis de mettre en évidence un tel résultat, les durées d'exposition aux produits pour atteindre un même stade d'anesthésie, le stade 4, n'étant pas en effet statistiquement différentes. Des résultats comparables ont été obtenus pour les autres espèces de poissons étudiées et les

anesthésiques testés (ANDERSON *et al.*, 1997 ; MUNDAY et WILSON, 1997 ; PEAKE, 1998), les temps d'exposition des poissons aux différents produits n'étant toutefois pas comparables dans ces études. Ces temps de récupération, certes plus importants, mais dont les valeurs ne permettent pas d'écarter l'utilisation de l'huile de clou de girofle, peuvent même présenter des avantages pour certaines expérimentations (MUNDAY et WILSON, 1997) nécessitant une sédation plus longue et plus profonde comme, par exemple, les enregistrements du rythme cardiaque ou l'obtention de l'électromyogramme d'un poisson (ANDERSON *et al.*, 1997).

La concentration optimale d'huile de clou de girofle pour les smolts de saumons atlantiques semble se situer dans ces expérimentations autour de $2,35 \cdot 10^{-4}$ mol.L⁻¹ soit environ 40 mg/L (soit 0,4 mL d'huile essentielle pour 10 L d'eau). Une telle concentration induit rapidement (en moyenne en 2 minutes) le stade 4 de l'anesthésie, stade auquel on peut manipuler les poissons, les peser et les mesurer et permet un rapide recouvrement de la position d'équilibre (en moyenne en moins de 4 minutes). De plus, des immersions prolongées dans le bain anesthésique, de l'ordre d'une dizaine de minutes, ne paraissent pas poser de problème particulier. Ces temps d'exposition semblent compatibles avec la plupart des opérations menées en pisciculture et sur le terrain. Des expérimentations complémentaires (CHANSEAU, données non publiées) ont toutefois révélé que des concentrations comprises entre $1,7 \cdot 10^{-4}$ mol.L⁻¹ et $2,35 \cdot 10^{-4}$ mol.L⁻¹ (soit entre 0,3 mL/L et 0,4 mL/L d'huile essentielle pour 10 L. d'eau) sont suffisantes pour manipuler les poissons et même pour les marquer à l'aide de Pit-Tag.

Il est également apparu (CHANSEAU et LARINIER, 2000) que des concentrations d'huile de clou de girofle comprises entre $1,7 \cdot 10^{-4}$ mol.L⁻¹ et $2,35 \cdot 10^{-4}$ mol.L⁻¹ permettaient d'endormir des adultes de saumon atlantique *Salmo salar* L., de les manipuler et de les marquer à l'aide de radio-émetteurs.

L'huile de clou de girofle enfin est considérée aux Etats-Unis comme une substance généralement sans danger pour le manipulateur et le consommateur -substance « GRAS »- (ANDERSON *et al.*, 1997). Elle possède de plus une grande activité antibactérienne et antifongique (BULLERMAN *et al.*, 1977 ; BRIOZZO *et al.*, 1989). Le 2-phénoxyéthanol semble par contre présenter une toxicité importante, en particulier sur le rein et le foie, qui pourrait affecter la survie à long terme des mammifères et des poissons (SUMMERFELT et SMITH, 1990).

BIBLIOGRAPHIE

- ANDERSON W.G., MCKINLEY R.S., COLAVECCHIA M., 1997. The use of clove oil as an anesthetic for Rainbow trout and its effects on swimming performance. *N. Am. J. Fish. Manag.*, 17, 301-307.
- BRIOZZO J., NUNEZ L., CHIRIFE J., HERSZAGE L., D'AQUINO M., 1989. Antimicrobial activity of clove oil dispersed in a concentrated sugar solution. *J. Appl. Bacter.*, 66, 69-75.
- BULLERMAN L.B., LIEU F.Y., SEIER S.A., 1977. Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oils. Cinnamic aldehyde and eugenol. *J. Food Sc.*, 42, 4, 1107-1116.
- CHANSEAU M., LARINIER M., 2000. Etude de l'efficacité du futur ascenseur à poissons de l'aménagement EDF de Baigts de béarn sur le Gave de Pau. Rapport GHAAPE, RA 01.03, 17 p.
- ENDO T., OGISHIMA K., TANAKA H., OSHIMA S., 1972. Anaesthetic effect of eugenol on freshwater fishes. *Bull. Jap. Soc. Scientific Fisheries*, 38, 7, 761-767.

- HIKASA Y., TAKASE K., OGASAWARA T., OGASAWARA S., 1986. Anesthesia and recovery with tricaine methanesulfonate, eugenol and thiopental sodium in the carp, *Cyprinus carpio*. *Japanese Journal of Veterinary Science*, 48, 2, 341-351.
- MARKING L.L., MEYER F.P., 1985. Are better anesthetics needed in fisheries? *Fisheries*, 10, 6, 2-5.
- MUNDAY P.L., WILSON S.K., 1997. Comparative efficacy of clove oil and other chemicals in anesthetisation of *Pomacentrus amboinensis*, a coral reef fish. *J. Fish Biol.*, 51, 931-938.
- PEAKE S., 1998. Sodium bicarbonate and clove oil as potential anesthetics for nonsalmonid fishes. *N. Am. J. Fish. Manag.*, 18, 919-924.
- SOTTO C.G., BURHANUDDIN C.G., 1995. Clove oil as a fish anesthetic for measuring length and weight of rabbitfish *Siganus lineatus*. *Aquaculture*, 136, 149-152.
- SUMMERFELT R.C., SMITH L.S., 1990. Anesthesia, surgery and related techniques. In : SCHRECK C.B. and MOYLE P.B. Eds., *Methods for fish biology*, Am. Fish. Soc., Bethesda, Maryland, 213-272.
- TAYLOR P.W., ROBERTS S.D., 1999. Clove oil: an alternative anaesthetic for aquaculture. *N. Am. J. Aquaculture*, 61, 150-155.
- WATERSTRAT P.R., 1999. Induction and recovery from anesthesia in channel catfish *Ictalurus punctatus* fingerlings exposed to clove oil. *J. World Aquaculture Soc.*, 30 (2), 250-255.
- ZAR J.H., 1996. *Biostatistical analysis*, Third Edition. Prentice Hall International Editions.

