



REGION LANGUEDOC ROUSSILLON

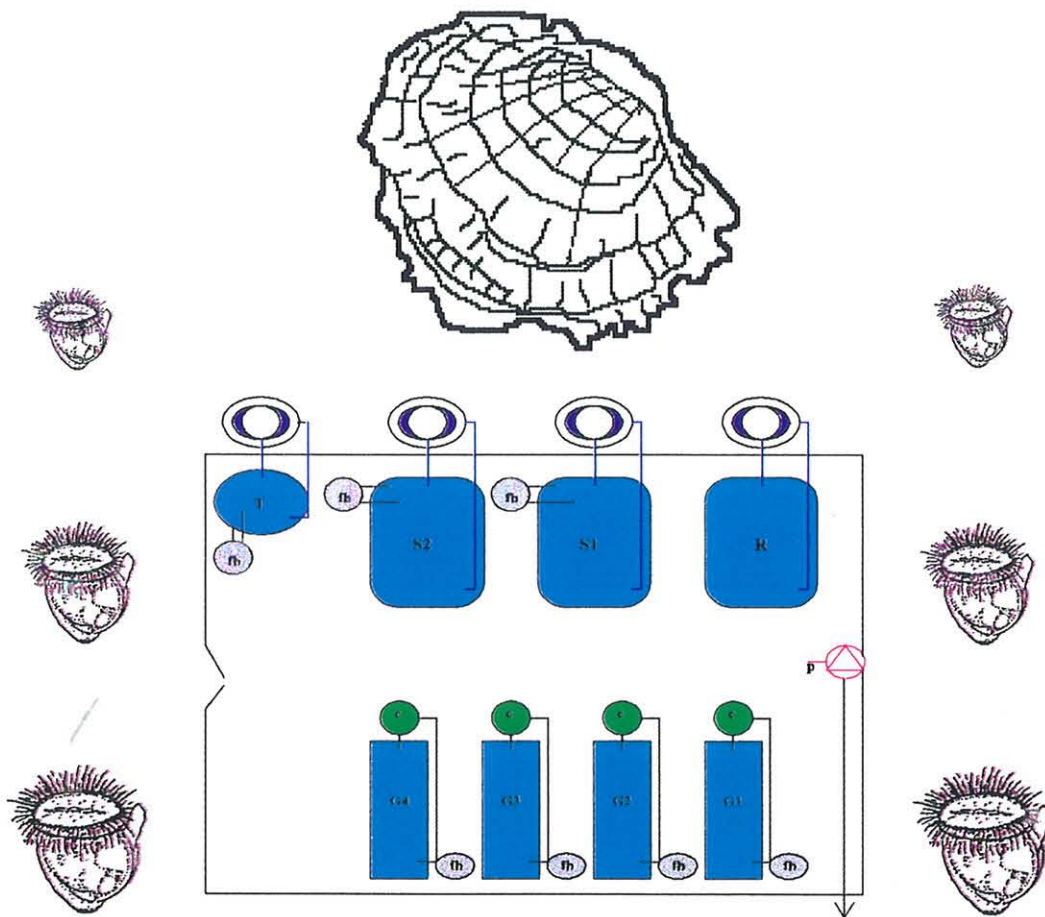


Convention de recherche IFREMER / Region Languedoc-Roussillon n° 94.3.522.001/F

RAPPORT FINAL

CONTROLE DE LA MATURATION ET DU CALENDRIER D'EMISSION LARVAIRE D'UN STOCK DE GENITEURS D'HUITRES PLATES *OSTREA EDULIS* MEDITERRANEENNES.

COATANEA Denis, VERCELLI Catherine, CHABIRAND Jean-Michel, OHEIX Jocelyne, PICHOT Yves, HIRATA Toshio



IFREMER

Laboratoire Méditerranéen de Conchyliculture PALAVAS

INSTITUT FRANCAIS DE RECHERCHE POUR L'EXPLOITATION DE LA MER

Adresse :

IFREMER
Station de Palavas
34250 PALAVAS

DIRECTION DES RESSOURCES VIVANTES

DEPARTEMENT RESSOURCES AQUACOLES
Station/Laboratoire : PALAVAS
Laboratoire Méditerranéen de Conchyliculture

Auteurs : COATANEA D., VERCELLI C., CHABIRAND J.M., OHEIX J., PICHOT Y., HIRATA T.		Date : 15/10/1996 Tirage nombre :
Titre : Contrôle de la maturation et du calendrier d'émissions larvaires d'un stock de géniteurs d'huîtres plates <i>Ostrea edulis</i> méditerranéennes		Nb pages : 125 Nb figures : 34 Nb photos : 2
Contrat : N° 94.3.522.001.F	Convention de Recherche IFREMER/Région Languedoc-Roussillon. Programme de recherche sur l'huître plate.	Diffusion : Libre

RESUME

Depuis 1991, différents aspects de l'élevage de l'huître plate *Ostrea edulis* ont été étudiés dans le cadre des programmes de Diversification Conchylicole de la Station IFREMER de Palavas. Après avoir abordé successivement le potentiel du captage naturel, la technique du télécaptage, la mise au point d'un parcours d'élevage mixte mer-étang et le cycle de reproduction de cette espèce dans le milieu naturel, les travaux ont porté, en 1994, sur le contrôle de la maturation en captivité et la maîtrise du calendrier des émissions larvaires. Les mêmes expérimentations, répétées en 1995, ont été complétées par des essais portant sur la compression du cycle de reproduction.

Une installation thermorégulée de conditionnement en circuit fermé a permis d'obtenir un décalage retard des émissions larvaires jusqu'en novembre, sans dégradation des caractéristiques biométriques et biochimiques des larves. Les élevages larvaires de validation ont permis de démontrer la viabilité des larves émises tardivement, mais ont mis en évidence la difficulté de maîtriser la technique d'élevage larvaire en s'affranchissant des conditions environnementales. La compression du cycle de reproduction, basée sur le raccourcissement de la période de reconstitution des produits gonadiques par vernalisation des géniteurs, n'a pas donné de résultats probants.

Mots clés : *Ostrea edulis*, reproduction, conditionnement, élevage larvaire, vernalisation

Ces travaux ont été réalisés dans le cadre d'une Convention de Recherche établie pour deux ans entre IFREMER et la Région Languedoc-Roussillon (CEPRALMAR).

Nous tenons à remercier tous ceux qui ont contribué activement au bon déroulement du présent travail, en particulier nos correspondants du CEPRALMAR, M. Eric SKIERNIEWSKI pour la fourniture des géniteurs, le service Logistique de la Station de Palavas, M. Marc DELMAS pour ses talents de frigoriste et Mme Danielle LINYER pour le soin apporté à la mise en page et la frappe du rapport final.

S O M M A I R E

	Page
1 - INTRODUCTION	12
2 - MATERIEL ET METHODES	15
2.1. SALLE DES GENITEURS	15
2.2. STOCKAGE AU FROID	15
2.3. MATURATIONS	17
2.4. SALLE D'EXPERIMENTATION LARVAIRE	18
2.5. SALLE DE CULTURES D'ALGUES	18
3 - EXPERIMENTATIONS 1994	21
3.1. LE STOCK DE GENITEURS 1994	21
3.1.1. Constitution du stock	
3.1.2. Protocole de suivi	
3.1.3. Alimentation algale	
3.1.4. Résultats - Evolution du stock	
3.2. MATURATIONS CONTROLEES 1994	37
3.2.1. Constitution des lots de maturation	
3.2.2. Protocoles de suivi	
3.2.3. Alimentation algale	
3.2.4. Résultats des 3 séquences	
3.3. ELEVAGES LARVAIRES	48
3.3.1. Matériel biologique	
3.3.2. Protocole d'élevage larvaire	
3.3.3. Résultats des 3 séquences	
3.3.3.1. Séquence 1	
3.3.3.2. Séquence 2	
3.3.3.3. Séquence 3	

3.4. COMMENTAIRES 1994	57
3.4.1. Généralités	
3.4.2. Stockage froid	
3.4.3. Maturations contrôlées	
3.4.4. Validations larvaires	
4 - EXPERIMENTATIONS ANNEE 1995	66
4.1. PREAMBULE	66
4.2. CONSTITUTION DU STOCK DE GENITEURS 1995	66
4.3. STOCKAGE AU FROID	70
4.3.1. Alimentation algale	
4.3.2. Protocole de suivi	
4.3.3. Résultats	
4.4. LES MATURATIONS CONTROLEES - RETARD	78
4.4.1. Constitution des lots	
4.4.2. Protocoles de suivi	
4.4.3. Résultats des 3 séquences	
4.5. LE STOCK VERNALISE	85
4.5.1. Constitution du stock	
4.5.2. Protocole de suivi (pour mémoire)	
4.5.3. Résultats	
4.6. LES RE-MATURATIONS (APRES VERNALISATION)	91
4.6.1. Consitution des lots	
4.6.2. Protocole de suivi (p.m.)	
4.6.3. Résultats des 3 séquences de rematuration	
4.7. LES VALIDATIONS LARVAIRES	98
4.7.1. Matériel biologique	
4.7.2. Protocole d'élevage larvaire	
4.7.3. Résultats des validations larvaires	

4.8. COMMENTAIRES 1995	103
4.8.1. Généralités	
4.8.2. Stockage froid	
4.8.3. Maturations contrôlées	
4.8.4. Vernalisation	
5 - CONCLUSIONS	111
6 - REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	115
ANNEXES	117
1 - PHOTOGRAPHIES	118
2 - THALASEA	120
3 - FICHES D'ELEVAGES	123

LISTE DES FIGURES

1994-1995

1. Plan des structures expérimentales de la salle des géniteurs
2. Plan des structures expérimentales de la salle d'élevage larvaire

1994

- 94-1. Organigramme général des expérimentations 1994
- 94-2. Caractéristiques de maturation des sous-stocks Mer et Etang (*observations macroscopiques*)
- 94-3a Evolution des stades de maturation des géniteurs *Ostrea edulis* stockés au froid (*observations macroscopiques*)
- 94-3b Stades de maturation des géniteurs *Ostrea edulis* stockés au froid
Point final : 1 seul bac (*observations macroscopiques*)
- 94-3c Evolution des stades de maturation des géniteurs *Ostrea edulis* stockés au froid (*observations histologiques*)
- 94-3c Stades de maturation des géniteurs *Ostrea edulis* stockés au froid
Point final : 1 seul bac (*observations histologiques*)
- 94-4. Teneurs biochimiques des géniteurs stockés au froid
- 94-5a Evolution des stades de maturation des géniteurs *Ostrea edulis*
Séquence 2 (*observations macroscopiques*)
- 94-5b Evolution des stades de maturation des géniteurs *Ostrea edulis*
Séquence 2 (*observations histologiques*)
- 94-6a Evolution des stades de maturation des géniteurs *Ostrea edulis*
Séquence 3 (*observations macroscopiques*)
- 94-6b Evolution des stades de maturation des géniteurs *Ostrea edulis*
Séquence 3 (*observations histologiques*)
- 94-7. Plan expérimental des validations larvaires
- 94-8. Evolution de la sex ratio des géniteurs *Ostrea edulis* stockés au froid
- 94-9. Evolution de la sex ratio des géniteurs en milieu naturel
- 94-10 Cumul des pontes des 3 séquences de maturation

1995

- 95-1. Organigramme général des expérimentations 1995
- 95-2. Evolution des stades de maturation des géniteurs *Ostrea edulis* stockés au froid (*observations macroscopiques*)

- 95-3. Evolution des stades de maturation des géniteurs *Ostrea edulis* stockés au froid
(*observations histologiques*)
- 95-4. Teneurs biochimiques des géniteurs stockés au froid
- 95-5. Evolution des stades de maturation des géniteurs *Ostrea edulis* - Maturation-retard
Séquence 1 (*observations macroscopiques*)
- 95-6. Evolution des stades de maturation des géniteurs *Ostrea edulis*
Séquence 2 (*observations macroscopiques*)
- 95-7. Evolution des stades de maturation des géniteurs *Ostrea edulis*
Séquence 3 (*observations macroscopiques*)
- 95-8. Evolution des stades de maturation des géniteurs *Ostrea edulis* du stock vernalisé
(*observations macroscopiques*)
- 95-9. Evolution des stades de maturation des géniteurs *Ostrea edulis* du stock vernalisé
(*observations histologiques*)
- 95-10. Teneurs biochimiques des géniteurs du stock vernalisé
- 95-11. Evolution des stades de maturation des géniteurs *Ostrea edulis*
Séquence 1.0 (*observations macroscopiques*)
- 95-12. Evolution des stades de maturation des géniteurs *Ostrea edulis*
Séquence 1.1. (*observations macroscopiques*)
- 95-13. Evolution des stades de maturation des géniteurs *Ostrea edulis*
Séquence 1.1. (*observations macroscopiques*)
- 95-14. Plan expérimental des validations larvaires 1995
- 95-15. Evolution de la sex ratio des géniteurs *Ostrea edulis* stockés au froid
- 95-16. Cumul des pontes des 3 séquences de maturation-retard 1995
- 95-17. Evolution de la sex ratio des géniteurs *Ostrea edulis* du stock vernalisé

LISTE DES TABLEAUX

1994

- 94-1. Biométrie et température cumulée par les géniteurs dans leur milieu naturel d'origine avant le stockage au froid
- 94-2. Calendrier des points bimestriels réalisés sur les géniteurs stockés au froid
- 94-3. Alimentation algale des géniteurs stockés au froid du 15 mars au 10 novembre 1994
- 94-4. Suivi de la température dans les bacs de stockage au froid du 15 mars au 10 novembre 1994 (241 jours)
- 94-5. Suivi du pH dans les bacs de stockage au froid du 15 mars au 10 novembre
- 94-6. Suivi des paramètres physicochimiques dans les bacs de stockage au froid du 15 mars au 10 novembre
- 94-7. Caractéristiques biométriques des géniteurs stockés au froid
- 94-8. Résultats des recherches de *Bonamia* sur les géniteurs stockés au froid
- 94-9. Alimentation algale des géniteurs en maturation contrôlée
- 94-10. Caractéristiques biométriques et survie des géniteurs des 3 séquences de maturation contrôlée
- 94-11. Caractéristiques physicochimiques des 3 séquences de maturation contrôlée
- 94-12. Résultats des recherches de *Bonamia*
- 94-13. Caractéristiques des émissions larvaires des 3 séquences de maturation contrôlée 1994
- 94-14. Résultats des élevages larvaires de validation de la séquence 1, 1994
- 94-15. Résultats des élevages larvaires de la validation de la séquence 2, 1994
- 94-16. Résultats des élevages larvaires de la validation de la séquence 3 : comparaison eau de mer naturelle/eau de mer reconstituée (essai 1)
- 94-17. Résultats des élevages larvaires de validation de la séquence 3 : comparaison eau de mer naturelle/eau de mer reconstituée (essai 2)
- 94-18. Résultats des élevages de production automnale en grand volume (2 m³)
- 94-19. Caractéristiques de taille des émissions de larves pendant les années 1991, 1992 et 1993

1995

- 95-1. Biométrie, constante thermique et infestation par *Bonamia* des géniteurs 1995 dans leur milieu naturel d'origine
- 95-2. Alimentation algale des géniteurs 1995 stockés au froid du 5 mars 1995 au 11 décembre 1996
- 95-3. Suivi des paramètres physicochimiques du bac des géniteurs 1995 pendant le stockage au froid (moyennes)
- 95-4. Suivi des paramètres biométriques et du taux d'infestation par *Bonamia* des géniteurs 1995 stockés au froid

- 95-5. Suivi des caractéristiques physicochimiques des bacs de géniteurs pendant les 3 séquences de maturation 1995
- 95-6. Alimentation algale des géniteurs pendant les 3 séquences de maturation 1995
- 95-7. Caractéristiques biométriques, survie et taux d'infestation par *Bonamia* des géniteurs des 3 séquences de maturation 1995
- 95-8. Caractéristiques des émissions larvaires des 3 séquences de maturation 1995
- 95-9. Biométrie, survie, taux d'infestation par *Bonamia* des géniteurs 1995 durant le stockage de vernalisation
- 95-10. Alimentation algale des géniteurs 1995 vernalisés après pontes
- 95-11. Suivi des paramètres physicochimiques des bacs de géniteurs des 3 séquences de rematuration 1995
- 95-12. Alimentation algale des géniteurs des 3 séquences de rematuration 1995
- 95-13. Biométrie, survie, taux d'infestation par *Bonamia* des géniteurs des 3 séquences de rematuration 1995
- 95-14. Caractéristiques des émissions larvaires des 3 séquences de rematuration 1995
- 95-15. Résultats des élevages larvaires de validation de la séquence 1 de maturation 1995
- 95-16. Résultats des élevages larvaires de validation de la séquence 3 de maturation 1995



1 - INTRODUCTION

Les travaux menés en 1994 et 1995, par la Station IFREMER de Palavas sur l'huître plate *Ostrea edulis*, s'inscrivent dans le prolongement de l'effort de recherche portant sur cette espèce depuis plusieurs années. Dans un souci de diversification des espèces et des techniques, l'objectif est de proposer une espèce complémentaire aux espèces cultivées traditionnellement (huître creuse et moule), mais aussi de valoriser au mieux l'outil et les techniques développés en mer ouverte pour la mytiliculture.

Sur la période 1990-1993, ces programmes ont été abordés sur le plan de l'approvisionnement en naissains, et de la définition d'un parcours d'élevage permettant d'utiliser les possibilités apportées par la mer ouverte et l'étang de Thau.

- En ce qui concerne l'approvisionnement en naissains, l'évaluation du potentiel offert par le captage naturel a conduit à ne pas retenir cette solution comme source d'approvisionnement pour soutenir un programme de développement. Une alternative a été recherchée en prospectant la voie du télécaptage, par analogie aux réalisations obtenues avec cette technique sur l'huître creuse *Crassostrea gigas*.
- A partir de productions expérimentales de larves oeillées à la Station de Palavas, la faisabilité biologique et technique de cette filière a été démontrée en définissant les rendements des étapes successives d'un élevage basé sur le télécaptage (taux de fixation, nurserie en mer, prégrossissement et grossissement). Un parcours mixte d'élevage mer-étang a été retenu.

La difficulté essentielle rencontrée pendant cette période a été l'absence de larves oeillées d'huîtres plates en provenance des écloséries commerciales. Ceci a conduit la Station de Palavas à réactiver une activité d'écloserie expérimentale de bivalves, et à réorienter une partie de la problématique initiale sur le contrôle technique de la maturation des géniteurs, et sur le contrôle de la qualité du milieu d'élevage larvaire. Cette réorientation s'inscrit dans le cadre d'un contrat de recherche signé entre la Région Languedoc-Roussillon (CEPRALMAR) et IFREMER pour les années 1994-1995.

Sur le thème du contrôle de la maturation, l'objectif recherché est d'atteindre, dans le cadre d'une écloserie, une autonomie d'approvisionnement en larves et un étalement des émissions sur toute l'année. Des essais réalisés depuis 1991 à la Station IFREMER de Palavas, ainsi que des résultats de diverses unités de production commerciales, il ressort que la fourniture de larves d'huîtres plates ne pose guère de problèmes en période printanière, à partir d'animaux prélevés dans le milieu naturel et conditionnés pendant 5 à 6 semaines en écloserie. Il n'en est pas de même en été et en automne, périodes auxquelles il est souvent plus délicat d'obtenir des pontes et de mener à terme des élevages larvaires.

Sur la base de ces constatations, la première série d'essais réalisée en 1994 a visé à établir la possibilité de retarder le processus de maturation, chez un lot de géniteurs constitué en début d'année à partir du milieu naturel, et de répartir les émissions de larves sur toute l'année selon un calendrier prévisible. Cette expérimentation s'est appuyée sur la référence qu'a constitué un cycle annuel d'observations sur la reproduction de l'huître plate indigène en milieu naturel méditerranéen.

Le contrôle de la maturation a ainsi permis d'étaler les émissions de larves de mai à novembre 1994. Toutes les larves récoltées ont été validées, sur des critères biométriques et biochimiques, et également sur leur aptitude à réaliser une croissance larvaire et une métamorphose normale. Ces validations se sont appuyées sur une recherche de la maîtrise du milieu d'élevage, au niveau de la qualité de l'eau d'une part, et de celle des algues unicellulaires d'autre part.

La deuxième série d'essais réalisée en 1995 avait naturellement pour premier objectif de conforter les résultats obtenus en 1994, le second étant de les compléter par des expérimentations portant sur la compression du cycle de reproduction. Pour ce faire, le principe retenu est le raccourcissement de la période de reconstitution des produits gonadiques par vernalisation (*) des géniteurs en leur imposant une séquence de repos hivernal dès la fin de la séquence de ponte.

Durant cette année 1995, le chapitre "validation larvaire" a dû être évacué en grande partie, les structures expérimentales spécifiques ayant été réservées prioritairement à 4 séries de biotests réalisées sur des larves de *Crassostrea gigas* à la demande de la Région (Coatanea *et al.*, 1995).

*** VERNALISATION** (définition proposée par "Le Robert")

ou "printanisation"

Technique due aux agronomes soviétiques (Lyssenko, 1930) permettant de transformer un blé d'automne en blé de printemps à rendement élevé, qui accomplit en peu de temps toute son évolution.

Cette technique est également applicable à d'autres semences

MATERIEL ET METHODES

1994 - 1995



2 - MATERIEL ET METHODES

2.1. SALLE DES GENITEURS (figure 1 et photographies 1 et 2 - Annexe 1)

Pour cette expérimentation, une salle de 40 m² a été équipée début 1994, afin d'accueillir le stock des géniteurs maintenu au froid (7 à 8°C) et les géniteurs mis dans des conditions propices à la maturation (18-19°C).

Alimentation en eau

Celle-ci provient de la réserve principale de l'unité Diversification Conchylicole : 6 m³ d'eau de mer sortant de la station de pompage préalablement filtrée sur filtres à sable et à cartouche, stérilisée sur U.V. et recirculée en continu sur filtre biologique, généralement chauffée à 21°C.

Air

L'air surpressé provient du réseau général de la station et alimente tous les bassins et air-lifts. Deux purges permettent d'évacuer régulièrement l'eau de condensation dans les tuyaux.

Lumière

La photopériode n'a pas fait l'objet d'une étude particulière. Cependant, afin de maintenir un rythme moyen d'éclairement, les néons de la salle sont allumés automatiquement chaque jour à 7 heures du matin et s'éteignent à 19 heures.

Climatisation

La régulation thermique de la salle est fixée à 14-15°C.

2.2. STOCKAGE FROID

Bacs de stockage des géniteurs (S1 et S2)

Le stock d'animaux est réparti dans 2 bacs rectangulaires de 1,2 m³, tous deux équipés d'un groupe froid. De plus, l'eau du bac tourne en circuit fermé sur un filtre biologique, selon la technique utilisée les années précédentes (Coatanéa *et al.*, 1992). Un bullage réparti dans chaque bassin assure l'aération et le brassage.

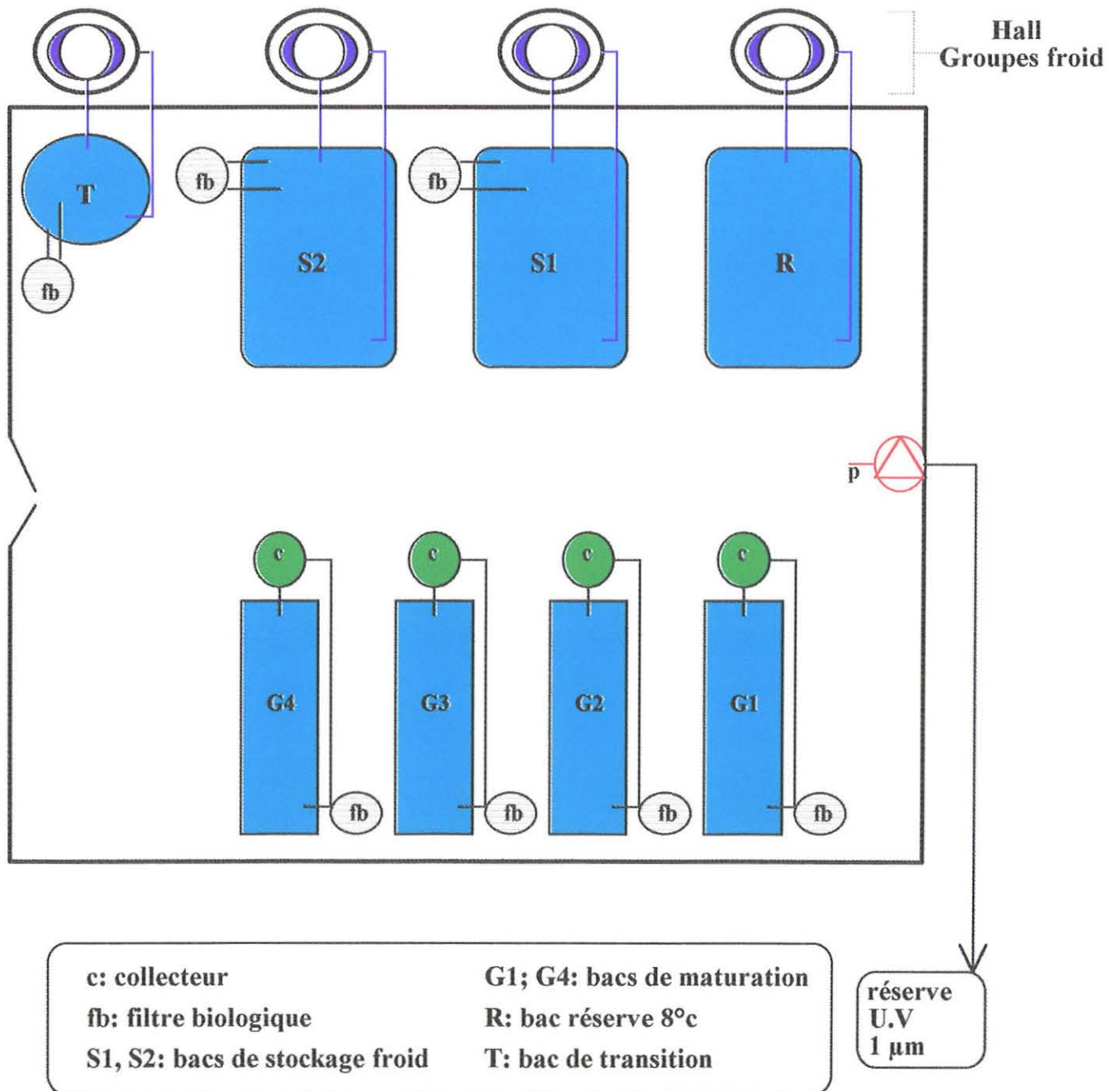


FIGURE 1 - Plan des structures expérimentales de la salle des géniteurs

Alimentation en froid

Quatre groupes frigorifiques, du type "tank à lait" de laiterie, ont été adaptés et placés à l'extérieur de la salle des géniteurs. Les cuves inox sont remplies d'eau douce maintenue à 5-6°C. A l'intérieur de ces tanks, un serpentin de 50 mètres de polyéthylène, dans lequel circule l'eau de mer du bac de stockage (débit 800 l/h), assure l'échange thermique avec le bac des géniteurs. La régulation est réalisée à partir d'une pompe commandée par une sonde immergée, de façon à obtenir une température d'environ 7-8°C dans le bac lui-même.

Filtres biologiques

Chaque bac de stockage est complété par un filtre colonne de 350 mm de diamètre et de 80 cm de hauteur, contenant 60 litres de Biogrog d'une granulométrie de 15-25 mm, préalablement activé par adjonction de NH_4Cl (Mélard et Blancheton, 1990). Un débit de recirculation de 1,5 m³/h est assuré par air-lift.

Bac de transition (T)

Un bac circulaire de 1 m³, grée de la même manière que les bacs de stockage, est utilisé pour les remontées ou descentes progressives de température, afin d'éviter les chocs thermiques.

Réserve d'eau froide (R)

Un bac de 1,2 m³, rempli à partir de la réserve principale, est maintenu au froid (sans filtre biologique) afin de constituer une réserve d'eau à la même température que les bacs de stockage, en prévision des changements d'eau.

2.3. ZONE DE CONDITIONNEMENT (G1, G2, G3, G4)

Quatre race-ways de 300 litres sont remplis à partir de la réserve principale et maintenus à une température de 18-19°C à l'aide de résistances de 200 W thermostatées.

Chaque race-way est équipé d'un collecteur de larves (maille de 100 µm) et d'un filtre biologique (diamètre 160 mm, hauteur 140 cm) contenant 30 litres de Biogrog. Le débit de recirculation est de 300 l/h.

2.4. LA ZONE D'EXPERIMENTATION LARVAIRE

En 1994, l'ensemble de cette zone a été reconditionné (figure 2) :

- réfection des sols et des réseaux,
- cloisonnement en trois sous-ensembles isolés, une salle d'expérimentation larvaire, une salle technique de traitement et stockage de l'eau et une salle de travail et traitement des élevages,
- climatisation de la salle d'expérimentation larvaire, permettant le travail en période estivale.

L'eau de mer naturelle, après filtration sur filtre à sable et sur cartouche de 1 μm , est stockée dans une réserve de 6 m^3 et recirculée sur filtre biologique.

Une deuxième cuve de 2 m^3 a été installée, avec filtration à sable, à cartouche et U.V., et a permis la préparation et le stockage d'eau de mer artificielle Thalasea (distribuée par les Salins du Midi, voir information en annexe 2).

2.5. LA SALLE DE PRODUCTION D'ALGUES UNICELLULAIRES

Cette salle a été remise à niveau en 1994 et équipée d'une armoire thermostatée de conservation des souches, d'une hotte pour les repiquages et d'une ultrafiltration de type Cuno Preteck à 0,1 ou 0,2 μm .

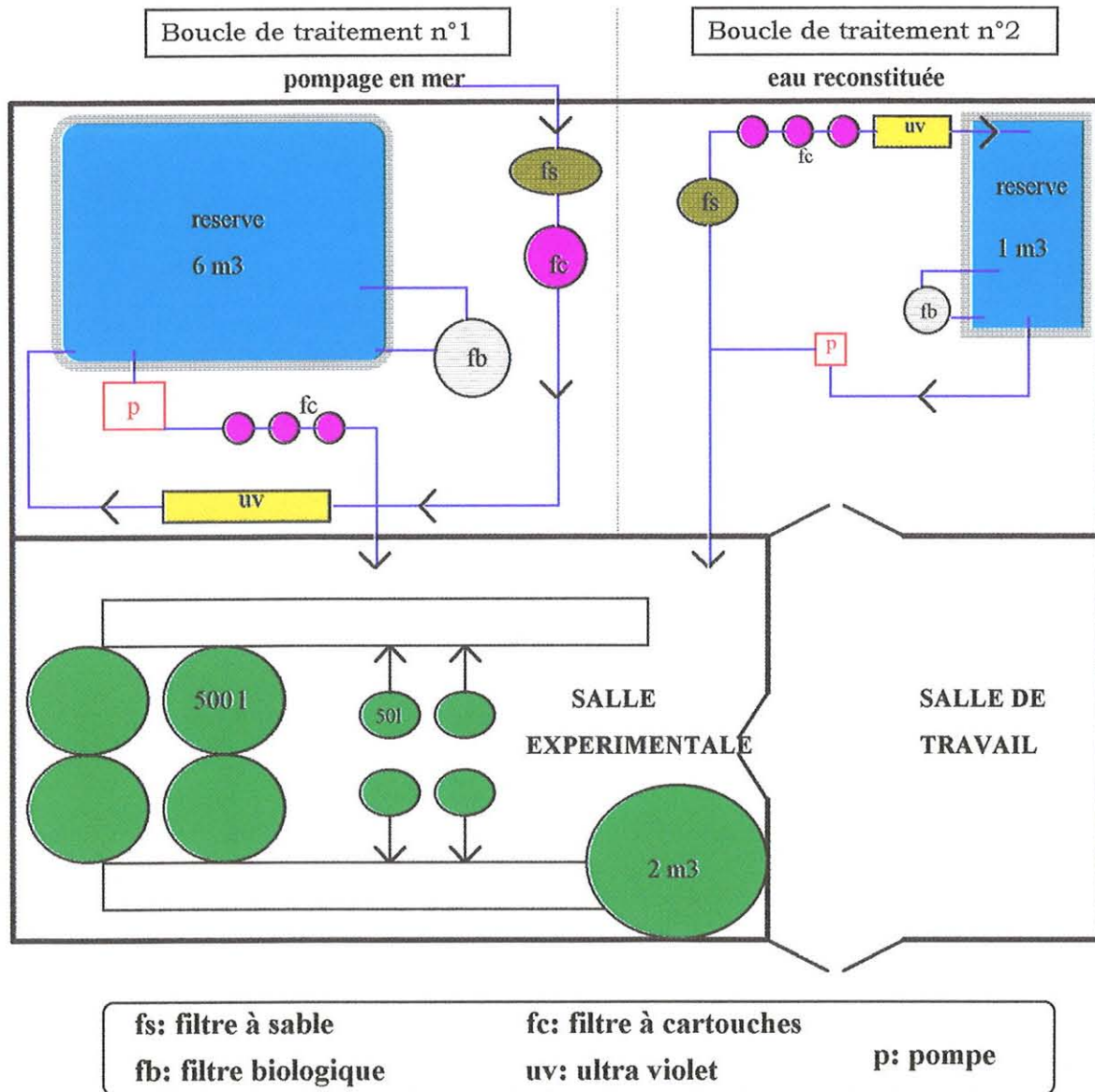
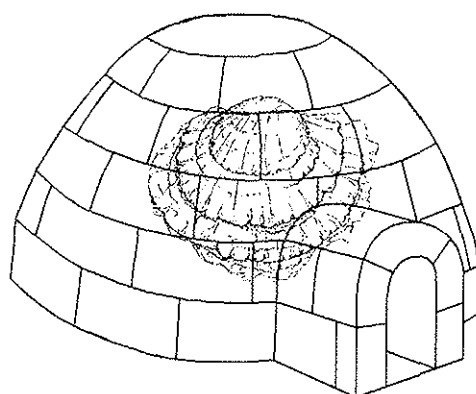


FIGURE 2 - Plan des structures expérimentales de traitement d'eau et d'expérimentation larvaire.

STOCKAGE AU FROID

1994



3 - EXPERIMENTATIONS 1994

L'organigramme des expérimentations réalisées en 1994 est représenté figure 94.1.

3.1. LE STOCK DE GENITEURS 1994

3.1.1. Constitution du stock

Il était initialement prévu de constituer un stock de géniteurs homogène, en provenance d'un gisement naturel en mer (Grau du Roi). Mais, ce stock ayant été partiellement dispersé par la tempête de février 1994, il a été nécessaire de le compléter par des animaux provenant de l'étang de Thau, et de réserver une cinquantaine d'huîtres de chaque origine pour comparaison. Cette double origine a entraîné une hétérogénéité dans les poids et les tailles, particulièrement pour ce qui est des animaux provenant de la mer.

Le **STOCK** est donc constitué à parts égales à partir du **sous-stock d'origine Mer - Grau du Roi** et du **sous-stock d'origine Etang de Thau** (collage sur cordes dans les zones A et C, à partir de dragages).

Chaque sous-stock a fait l'objet d'un échantillonnage initial, sur lequel ont été réalisées des mesures de biométrie et d'indice de condition (Lawrence et Scott, 1982). Le tableau 1 affiche des poids moyens comparables, mais des indices de conditions plus élevés pour l'origine Etang (131,6) que pour la Mer (78,8).

Le contrôle zoosanitaire fait apparaître un cas d'infestation de *Bonamia* sur 76 géniteurs d'origine "Etang", tandis que ceux d'origine "Mer" sont indemnes (0/75).

La figure 94.2 représente les stades de maturation observés par macroscopie. Tous les géniteurs ont commencé leur gamétogenèse et le sous-stock "Etang" semble être légèrement moins avancé (77 % de stade 1 et 23 % de stade 2) que le sous-stock "Mer" (60 % de stade 1 et 40 % de stade 2).

Cependant, afin de qualifier une différence potentielle liée à l'origine des géniteurs, nous avons repris les travaux de Wilson et Simons (1985) qui proposent une formule permettant de calculer une "constante thermique" qui caractérise le niveau de maturité d'*Ostrea edulis* :

$$D = \sum_{i=1}^n (t_i - t_0)$$

où D est la constante thermique exprimée en degrés-jour

n est le nombre de jours de maturation

t_i est la température à laquelle les huîtres sont exposées quotidiennement

t₀ est le seuil de température au-dessous de laquelle la gamétogenèse ne peut débiter.

Ces auteurs estiment que le seuil de maturité correspond, pour *O. edulis*, à une constante thermique de **D ≥ 554 ± 44 degrés-jour**.

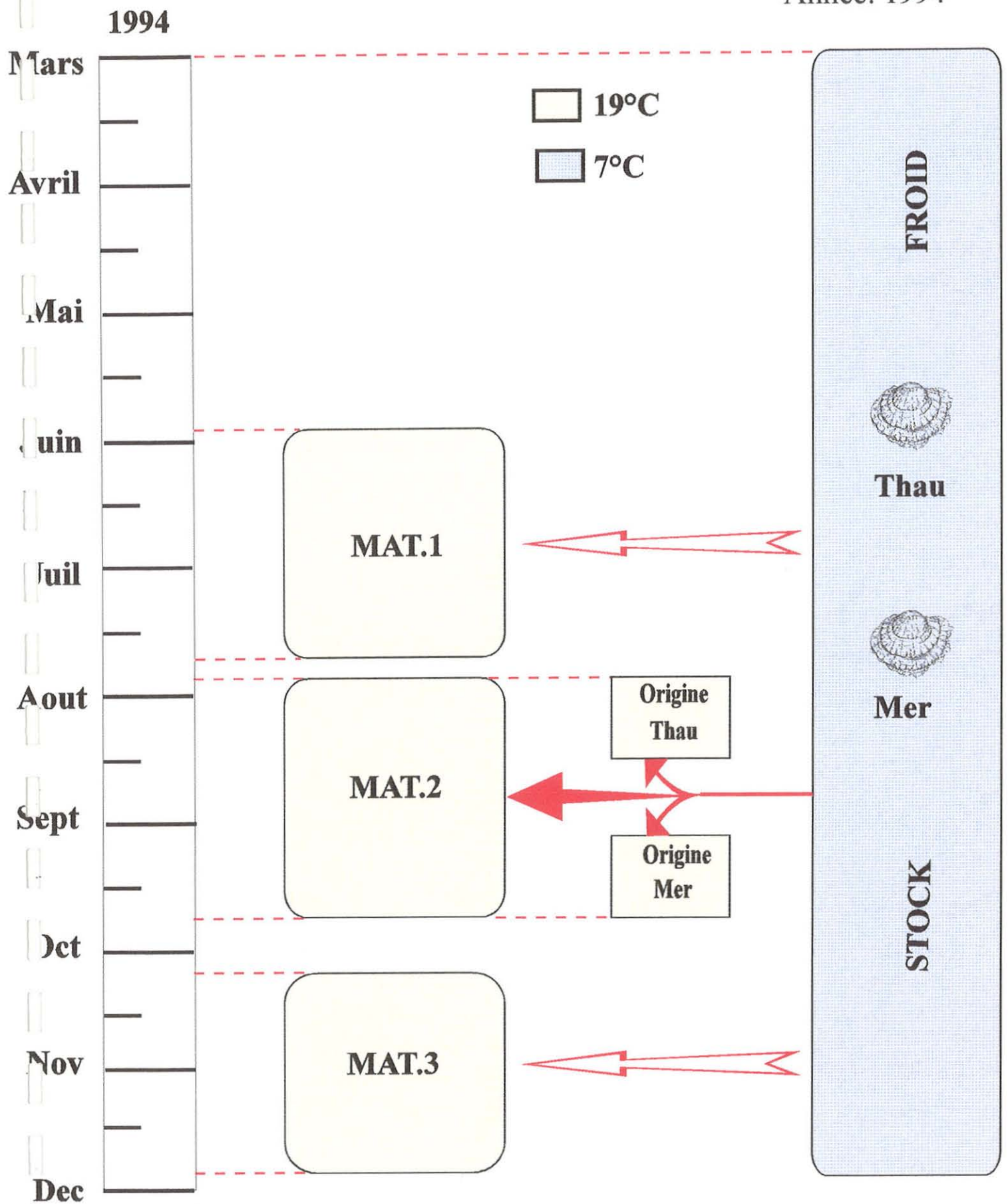


Figure 94.1: ORGANIGRAMME GENERAL DES EXPERIMENTATIONS 1994

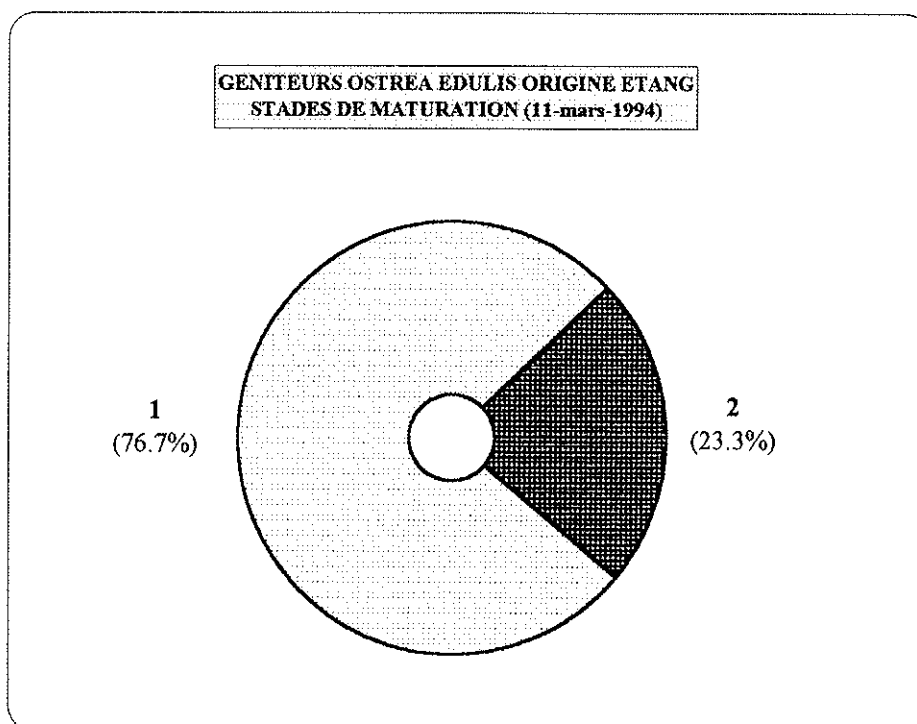
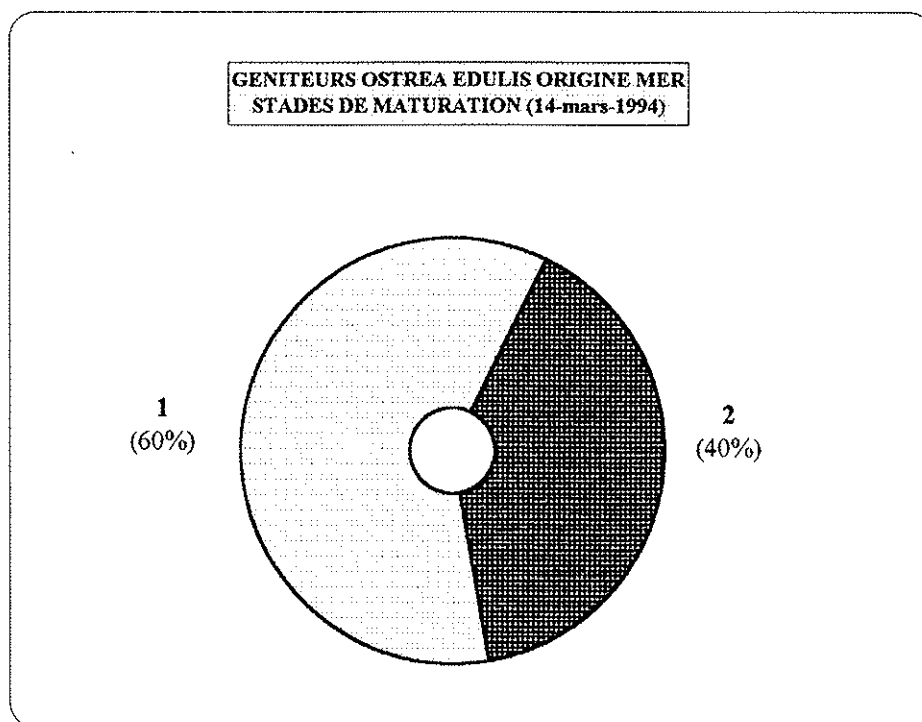


FIGURE 94.2 - Caractéristiques de maturation des sous-stocks Mer et Etang (*observations macroscopiques*)

Au vu de la littérature (Ruiz *et al.*, 1992) et de nos propres observations sur la maturation d'*Ostrea edulis* dans le milieu naturel méditerranéen, nous avons estimé *to* à 7°C.

Dans le tableau 94.1, nous avons porté la constante thermique (exprimée en degrés-jour) sur les deux mois et demi précédant la mise en bassins, en tenant compte des températures respectives ayant prévalu dans les milieux Mer et Etang. On voit que, cette fois, les géniteurs d'origine Mer sont avantagés puisqu'ils ont déjà dépassé la moitié de la valeur-seuil de la constante thermique D.

Tableau 94.1 - Biométrie et température cumulée par les géniteurs dans leur milieu naturel d'origine avant le stockage au froid.

ORIGINE	POIDS MOYEN (G)	INDICE DE CONDITION (L-S)	VALEUR DE LA CONSTANTE THERMIQUE (DEGRES-JOUR)			
			Janvier	Février	01-15 Mars	Total
Mer	121	78,7	139,5	114,8	69	323,0
Etang	101	131,6	9,3	25,2	72	106,5

Un échantillonnage réalisé sur le STOCK permet d'effectuer des dosages biochimiques selon la méthode de Dubois *et al.* (1956) pour les glucides et le glycogène, et de Marsh et Weinstein (1966) pour les lipides. L'observation macroscopique des gonades est faite sur tous les animaux sacrifiés, à partir de l'échelle de Marteil (1979) légèrement modifiée :

- stade 0 la gonade vide est transparente
- stade 1 la gonade commence à recouvrir la glande digestive
- stade 2 la gonade recouvre entièrement la glande digestive
- stade 3 la gonade est épaisse et striée de réseaux
- stade 4 l'huître est laiteuse (émission de trochophores)
- stade 5 l'huître est ardoisée (larves incubées).

Des coupes semi-fines de gonades, fixées puis colorées (hématoxyline), permettent de préciser l'évolution sexuée des géniteurs en se basant sur l'échelle de Cole (1942) ainsi simplifiée :

- I = sexe indéterminé
- M1 Mâle, début de maturation
- F1 Femelle, début de maturation
- M2 Mâle, évolution en cours
- F2 Femelle, évolution en cours
- M3 Mâle mature
- F3 Femelle mature
- H Hermaphrodite

L'ensemble de ces informations constitue l'échantillon initial A (15 mars 1994).

Tous les animaux du stock sont soumis à un traitement par saumure à 300 g/litre (bain de 5 minutes et assec de 5 heures), pour élimination des épibiontes et en particulier du *Polydora*, présent notamment sur les huîtres de mer (Catherine *et al.*, 1990).

Avant le stockage au froid, les géniteurs, d'un poids moyen de 116 g, sont répartis par 50 dans des clayettes numérotées et empilées dans les 2 bacs de stockage ; en outre, S1 reçoit un panier de 50 huîtres de MER et S2 les 50 huîtres d'ETANG.

Lors de la mise à l'eau, la température des bacs de stockage est de 12,2°C pour S1, et de 12,5°C pour S2. La salinité est de 36 g/l et le pH de 7,92 pour les deux bacs. La température de stockage est atteinte le 22 mars pour S1 et le 24 mars pour S2.

3.1.2. Protocole de suivi

Le protocole de suivi du stock de géniteurs maintenu au froid comporte des **contrôles de routine** et des **échantillonnages lourds bimestriels**.

Contrôles de routine

- Température et pH sont contrôlés journallement.
- Filtres biologiques : quantification des teneurs NH_4 , NO_2 , NO_3 dans l'eau (analyses Technicon) tous les deux jours, puis une fois par semaine.
Remarque : en fin d'expérimentation, la chaîne Technicon étant fréquemment indisponible, les dosages sont plus espacés.
- Changement d'eau et nettoyage des bacs : une fois par semaine pendant les deux premiers mois, puis seulement lorsque le bac commence à être sale ; entre chaque renouvellement, des siphonnages fréquents sont effectués.
- Rotation des clayettes : une fois par semaine, accompagnée d'un nettoyage rapide des animaux au jet d'eau.
- Contrôle de la mortalité : tous les trois jours durant les trois premiers mois, puis une fois par semaine.
- *Bonamia* : le contrôle du sous-stock Etang ayant fait apparaître un cas d'infestation, les animaux morts font l'objet d'un examen systématique.

Echantillonnages bimestriels

Tableau 94.2 - Calendrier des points bimestriels réalisés sur les géniteurs au froid.

A	B	C	D	E
15 mars <i>point initial</i>	9 mai	20 juillet	20 septembre	(S2) 24 novembre

Chaque échantillonnage est constitué de 60 animaux (30 animaux par bac de stockage après tirage au sort des numéros de clayettes) et subit les traitements suivants.

Sur la totalité :

- pesée
- observation macroscopique de l'état des gonades.

Sur une moitié :

- indice de condition (Lawrence-Scott)
- analyses biochimiques : lipides totaux, glucides, glycogène.

Sur l'autre moitié :

- recherche de *Bonamia* par frottis cardiaque
- examen histologique de la gamétogenèse.

Cet échantillonnage sert également de référence pour la séquence de maturation démarrant à la suite.

3.1.3. Alimentation algale

L'alimentation est fournie sous forme de micro-phytoplancton produit par la salle d'algues de la Station de Palavas (*Isochrysis galbana* souche *T.Iso* et *Chaetoceros calcitrans*) en eau de mer reconstituée avec la saumure Thalasea (Salins du Midi).

La ration journalière de départ est empiriquement fixée à la moitié de ce que l'on donne habituellement aux géniteurs en maturation ; soit, pour une concentration moyenne dans la gaine de production estimée à $12 \cdot 10^6$ cellules/ml d'*Isochrysis* et de $8 \cdot 10^6$ cellules/ml de *Chaetoceros*, une quantité de 10 litres de chaque espèce par jour et par bac de stockage. La quantité exacte de cellules apportée sera précisée par comptage journalier, ou chaque fois qu'une gaine sera entamée. Cette ration, distribuée en deux fois, sera ajustée au fur et à mesure de la descente en température et de la consommation constatée *de visu*.

Le tableau 94.3 résume les informations concernant l'alimentation algale du stock de géniteurs maintenu au froid, mois par mois. L'effectif calculé est une moyenne [(effectif du début du mois + effectif en fin de mois)/2], tenant compte de la mortalité, des prélèvements pour échantillonnages et constitution des lots mis en maturation, ainsi que des remises en stock après maturation.

Tableau 94.3 - Alimentation algale des géniteurs stockés au froid du 15 mars au 10 novembre.

MOIS	CONCENTRATION MOYENNE (10 ⁶ CEL/ML)		EFFECTIF		RATION JOURNALIERE MOYENNE (10 ⁶ CEL/GENITEUR/JOUR)	
	<i>T.Iso</i>	<i>Chaeto</i>	S1	S2	S1	S2
Mars	13,1	11,2	576	580	0,29	0,29
Avril	10,8	6,9	561	573	0,16	0,15
Mai	11,2	5,0	520	526	0,16	0,15
Juin	9,9	7,9	470	480	0,19	0,19
Juillet	8,7	7,5	389	448	0,21	0,18
Août	9,7	5,6	293	409	0,21	0,15
Septembre	10,4	5,9	275	383	0,24	0,17
Octobre	11,9	6,9	230	358	0,33	0,21
Novembre	13,8	7,7	150	339	0,36	0,22

3.1.4. Résultats - Evolution du stock

Période : 15 mars au 10 novembre 1994 (date de l'arrêt du bac S1). Stockage au froid.

Température

Le tableau 94.4 présente la synthèse des données de température par bac. Le cumul en degrés-jour est calculé, constante de base déduite (cf. chapitre 2.1.2.) et représente l'accroissement de la constante thermique pendant le séjour des géniteurs dans le stockage froid. Si l'on ajoute la valeur initiale de cette constante thermique au moment de la constitution du stock (tableau 1), fin novembre, la constante thermique des géniteurs se situe, selon leur origine, dans une fourchette théorique de 340 à 570.

Remarque : durant le plein été, les groupes de refroidissement placés dans le hall étaient en limite d'utilisation, malgré une protection isolante en polystyrène. De même, des incidents techniques sur les compresseurs ont parfois occasionné quelques dérives.

Tableau 94.4 - Suivi de la température dans les bacs de stockage au froid du 15 mars au 10 novembre (241 jours).

BAC	MOYENNE/JOUR (°C)	MAXIMUM (°C)	MINIMALE (°C)	ACCROISSEMENT DE CONSTANTE THERMIQUE
S1	8,10	13,7	6,3	235,4
S2	8,06	11,4	7,4	250,6

pH

Le pH est toujours resté compris entre 7,87 et 8,10 dans les deux bacs. Les valeurs maximales doivent être considérées avec réserves, étant donné qu'elles précèdent toujours un changement d'eau.

Tableau 94.5 - Suivi du pH dans les bacs de stockage froid du 15 mars au 10 novembre.

BAC	PH MOYEN	PH MAXIMUM	PH MINIMUM
S1	7,88	8,10	7,70
S2	7,87	8,06	7,65

Filtres biologiques

Le tableau 94.6 rapporte les résultats synthétiques des mesures physico-chimiques relatives au fonctionnement des filtres biologiques de chaque bassin. Les prélèvements d'eau sont faits à fréquence variable (cf. chapitre 2.2.2. Protocole de suivi). Les valeurs maximales sont à considérer comme éphémères puisqu'elles sont toujours suivies d'un changement d'eau.

Tableau 94.6 - Suivi des paramètres physico-chimiques dans les bacs de stockage au froid du 15 mars au 10 novembre.

BACS	N-NH ₄			N-NO ₂			N-NO ₃		
	Moy.	Maxi	Mini	Moy.	Maxi	Mini	Moy.	Maxi	Mini
S1	0,37	0,83	0,08	0,38	1,61	0,03	1,90	6,42	0,21
S2	0,38	0,85	0,08	0,30	1,37	0,03	2,09	9,17	0,21

Caractéristiques biométriques des échantillons bimestriels

Les données biométriques du tableau 94.7 ne représentent pas une croissance pondérale mais caractérisent simplement le stock échantillonné. L'indice de condition (I.C.) est très élevé lors de la constitution du stock : on a vu qu'il existait, de ce point de vue, une différence importante en faveur des géniteurs d'origine Etang. Les deux échantillons suivants ont la même caractéristique (85,5 et 85,2), mais le point D (20 septembre) accuse une diminution (74,4), qui se confirme lors de l'échantillonnage E (21 novembre : 71,6).

Tableau 94.7 - Caractéristiques biométriques des géniteurs stockés au froid.

PRELEVEMENT	POIDS MOYEN (G)	POIDS MAXI (G)	POIDS MINI (G)	I.C. (L.S.)
A	116	334	64	105,2
B	89	156	64	85,5
C	103	295	57	85,2
D	65	237	55	74,4
E	100	538	49	71,6

Survie

Les taux de survie en fin d'expérimentation sont de 79 % pour le bac S2, et pour le S1 de 71 % jusqu'à l'incident de novembre ayant provoqué une mortalité brutale de 27 % du stock initial.

BAC S1 : 3 épisodes de mortalité ont affecté ce bac :

- en juillet, le nombre de morts s'est élevé à 37 ; ceci est à rapprocher des problèmes de régulation thermique (cf. chapitre 2.2.4.),
- en août, 43 morts sur la période sont à mettre en relation avec une panne du groupe froid (idem),
- début novembre, 156 morts sont relevés, soit 27 % du stock initial ; le lendemain, une trentaine de morts de plus nous amènent à arrêter l'expérimentation sur cette partie du stock afin de faire une désinfection totale du bac et de son filtre biologique. Les animaux restants, isolés, ont été décimés en quelques jours. Les frottis cardiaques réalisés immédiatement n'ayant pas révélé de recrudescence de *Bonamia* (1 cas sur 36 empreintes), ce pathogène ne peut être incriminé.

Plusieurs hypothèses peuvent être avancées :

- une fragilisation des animaux, à la suite des accidents de température de l'été, plus marqués dans ce bac que dans le S2,
- une toxicité brutale du filtre biologique,
- un agent pathogène, bactérien ou viral.

La mortalité cumulée dans le bac S1 est de 56,4 % au 10 novembre.

Bac S2 : aucun incident n'a été noté. La mortalité est constatée sous la forme d'un "bruit de fond" représentant 21 % de l'effectif initial au 10 novembre et le stockage de géniteurs s'est poursuivi dans ce bac.

Recherche de *Bonamia*

Le résultat des examens est exprimé en nombre d'animaux infestés par rapport au nombre d'animaux observés, avec mention de l'origine E (Etang) ou M (Mer), lorsque celle-ci est identifiable sans doute possible, ou encore (?) en cas de doute.

Tableau 94.8 - Résultats des recherches de *Bonamia* sur les géniteurs stockés au froid.

CÔNTRÔLES SUR LES POINTS BIMESTRIELS		CÔNTRÔLES SUR LA MORTALITÉ	
A	1(étang)/151 frottis	182 frottis cardiaques	1 (mer) 19 (étang) 1 (?)
B	0/30		
C	1(étang)/25		
D	1(étang)/30		
E	0/30		
Total en %	0,4		11,5

On remarque que, si les contrôles effectués lors des échantillonnages bimestriels sur des géniteurs vivants ne font ressortir que 0,4 % de cas de *Bonamia*, le résultat des examens réalisés sur les animaux morts est plus important : 11,5 %.

Gamétogenèse : (résultats exprimés en %)

Les figures 94.3a et 94.3c représentent l'évolution des stades de maturation des géniteurs stockés au froid, du 9 mai au 24 novembre 1994 dans les deux bacs ; les figures 94.3b et 94.3d concernent le seul bac en activité le 16 janvier 1996.

Observation macroscopique

On remarque (fig. 94.3a) que le stade 0 disparaît entre juillet et septembre et que les stades 2 sont dominants tout au long du stockage au froid. Il est intéressant de constater la présence de stade 3 de mai à novembre, (>30 % en juillet et en septembre). Le point final (fig. 94.3b) montre une réapparition de stade 0 et une forte proportion (44 %) de stade 1.

L'état de maturité maximum se situe lors de l'observation de juillet. Les 3,4 % de stade 4 (émission de larves trochophores) sont observés consécutivement à l'ouverture des huîtres. Il faut cependant rapprocher ces observations des incidents de régulation thermique notés durant le mois de juillet.

Observation histologique

La figure 94.3c ne fait apparaître des animaux de sexe indifférencié que lors des prélèvements de mai et de septembre. L'hermaphrodisme est constaté à partir de septembre et jusqu'au point final.

Evolution des teneurs biochimiques des géniteurs

Les résultats, présentés dans la figure 94.4, sont exprimés en pourcentage moyen des concentrations par rapport au poids sec de chair.

Durant l'expérimentation, le taux de lipides reste stable entre 6,3 % et 7,4 % du poids sec de chair. Les teneurs en glycogène, élevées lors de l'échantillonnage initial (11,2 %), ont diminué de moitié en final. Les glucides totaux décroissent régulièrement de 15,1 à 10,7 %. Ces chiffres correspondent à ce que d'autres auteurs ont observé, notamment Walne et Mann (1975). Toutes les valeurs obtenues sur les dosages de septembre accusent une baisse sensible, sans que nous ne puissions l'expliquer autrement que par une éventuelle fragilisation des animaux consécutive à des écarts de température dans les bacs de stockage, qui aurait obligé les animaux à mobiliser leurs réserves énergétiques.

L'analyse du 16 janvier 1995 (effectuée sur un seul bac) montre une remontée remarquable des valeurs comparables (glucides et glycogène) et supérieures (lipides) à celles relevées lors du point initial (mars 1994).

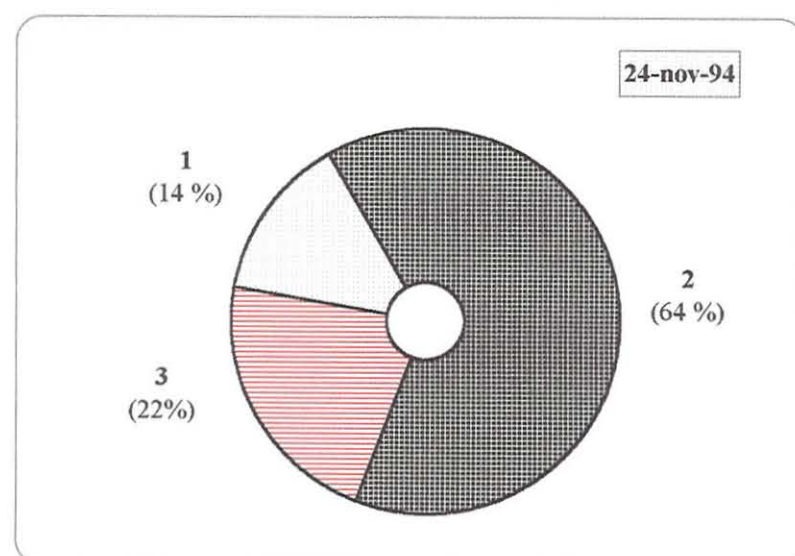
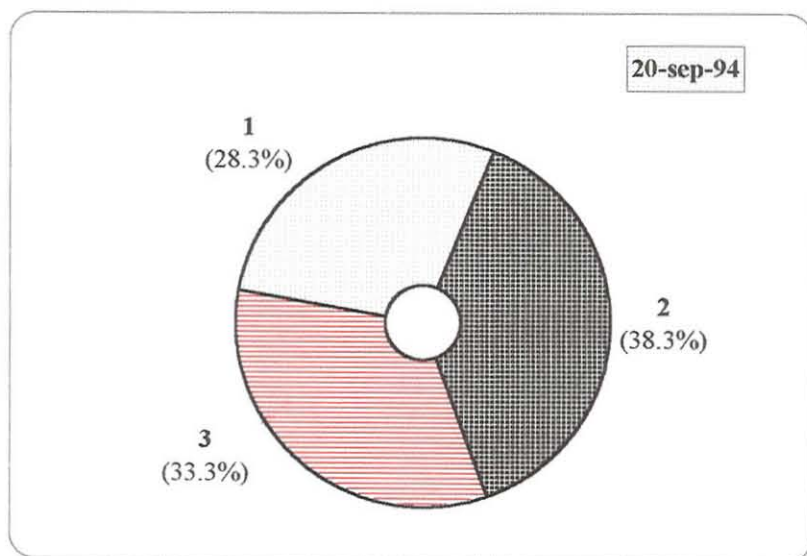
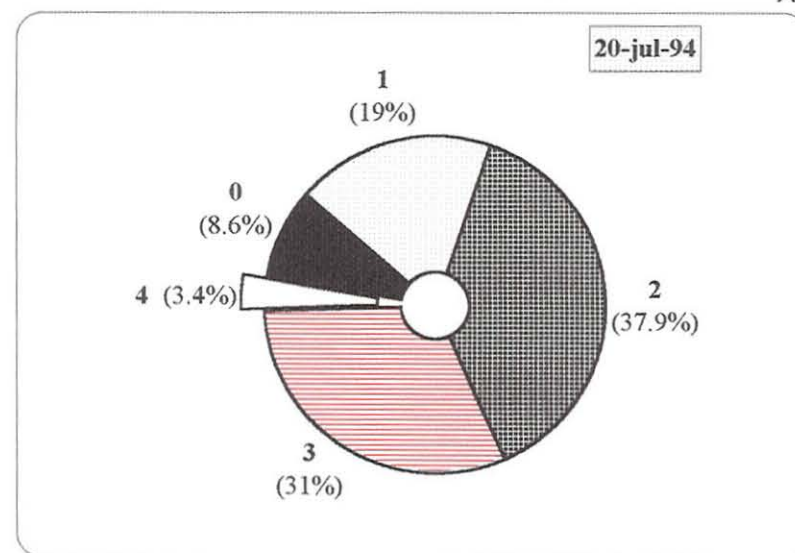
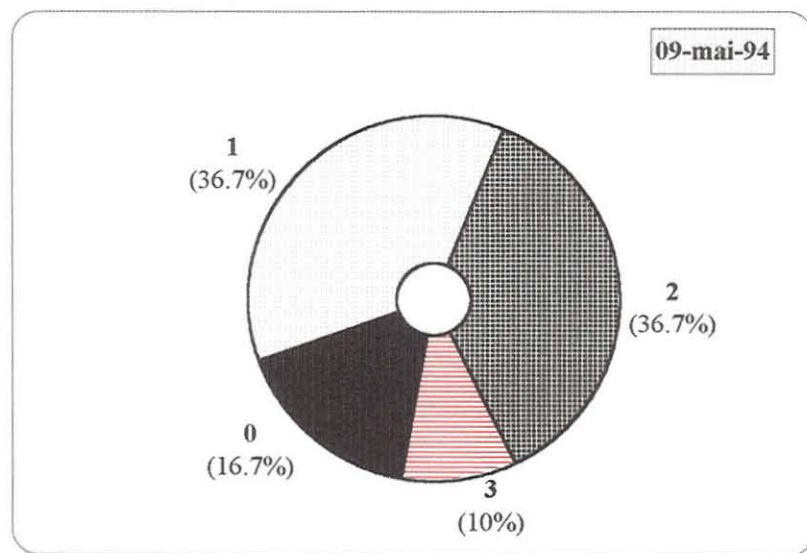


FIGURE 94.3a - Evolution des stades de maturation des géniteurs *Ostrea edulis* stockés au froid (*observations macroscopiques*)

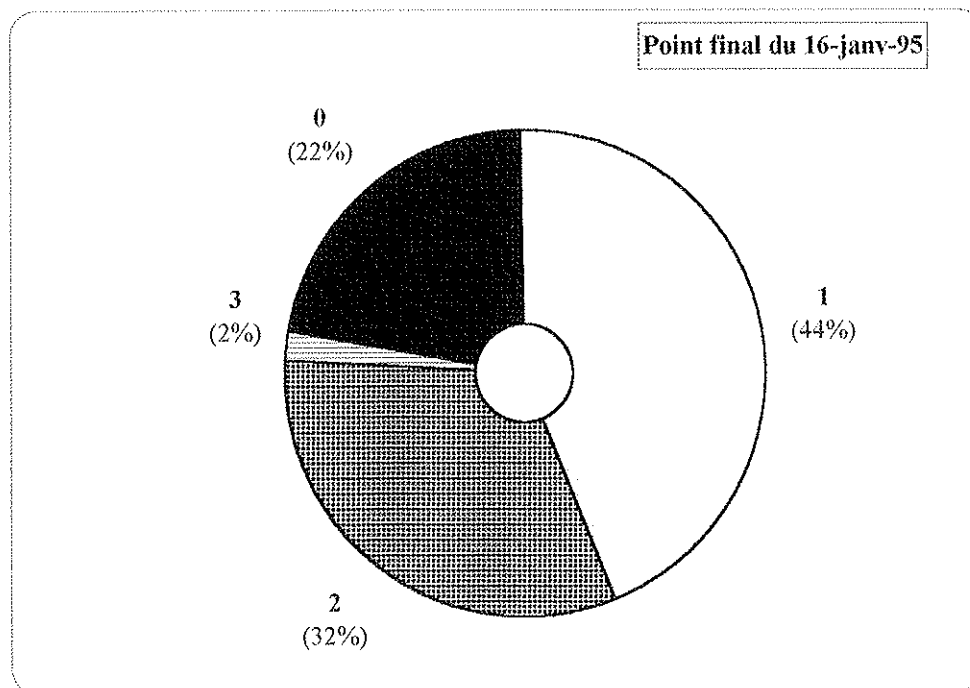


FIGURE 94.3b - Stades de maturation des géniteurs *Ostrea edulis* stockés au froid (observations macroscopiques) sur (1 bac *).

(*) : du fait de la mortalité massive ayant décimé l'autre bac début novembre.

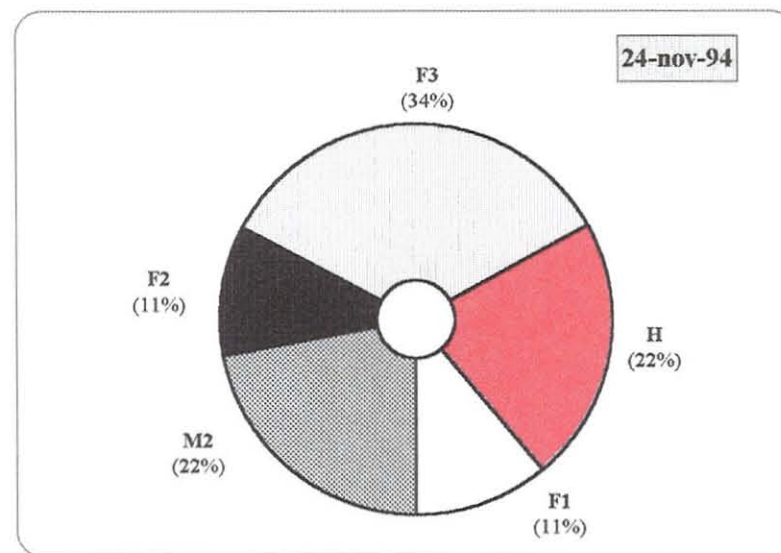
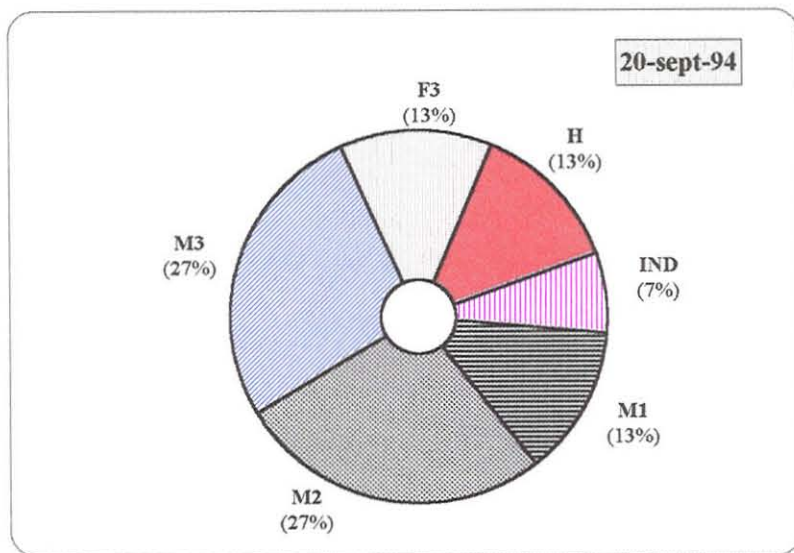
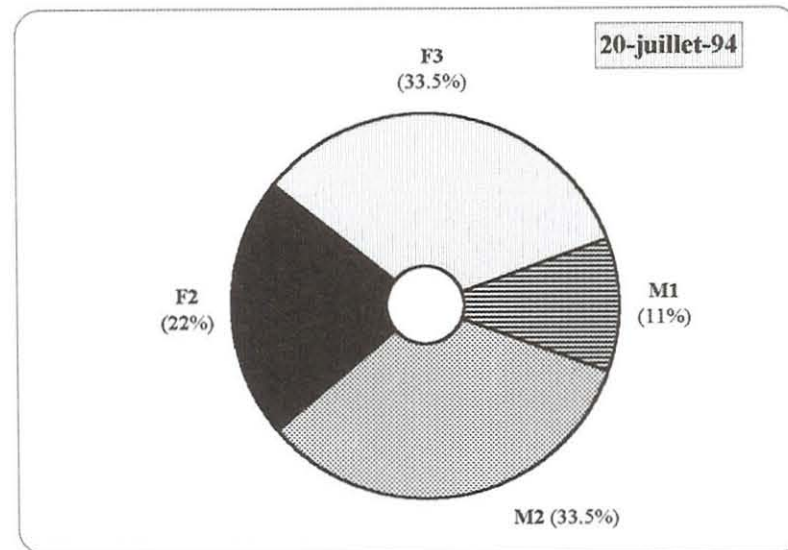
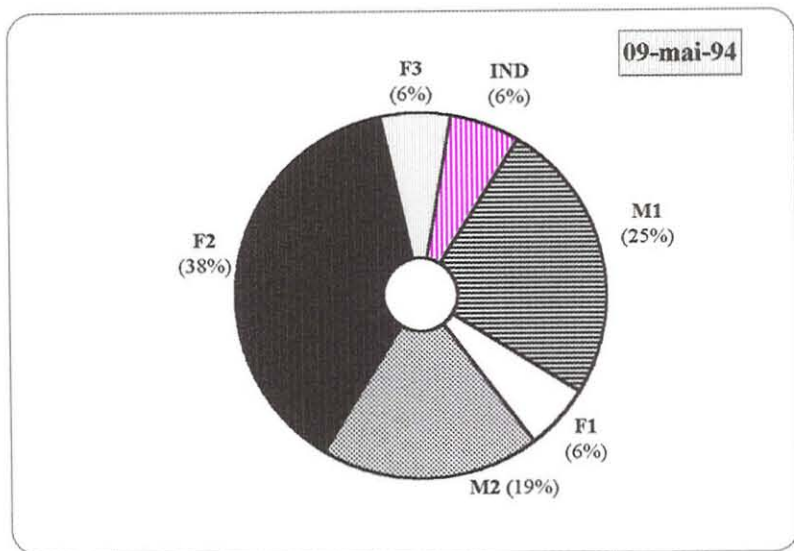


FIGURE 94.3c- Evolution des stades de maturation des géniteurs *Ostrea edulis* stockés au froid (*observations histologiques*)

(IND: indéterminé, M: mâle, F: femelle, H: hermaphrodite.)

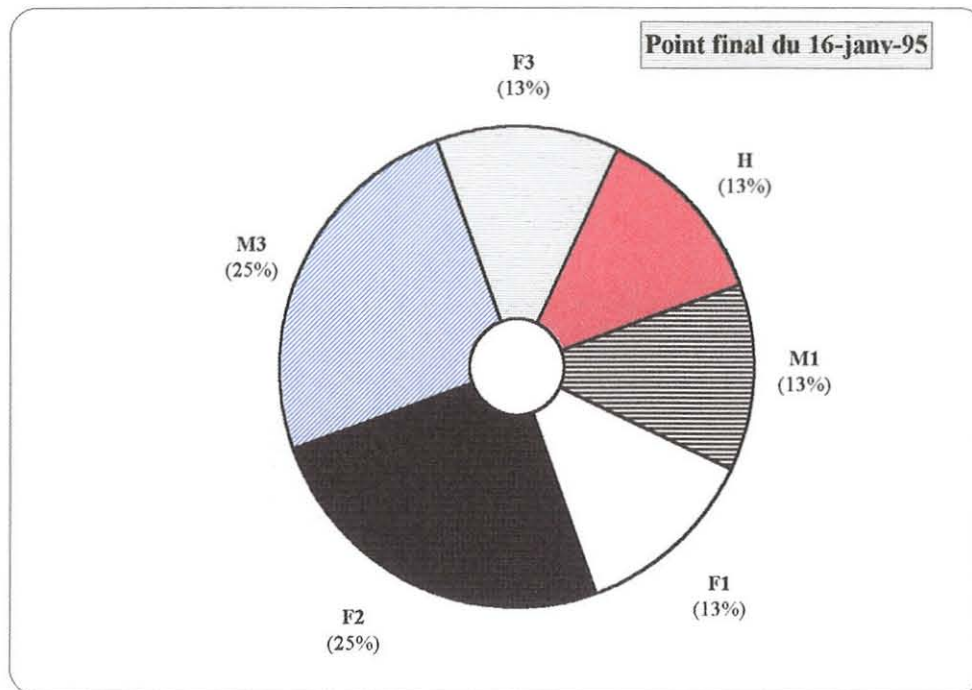
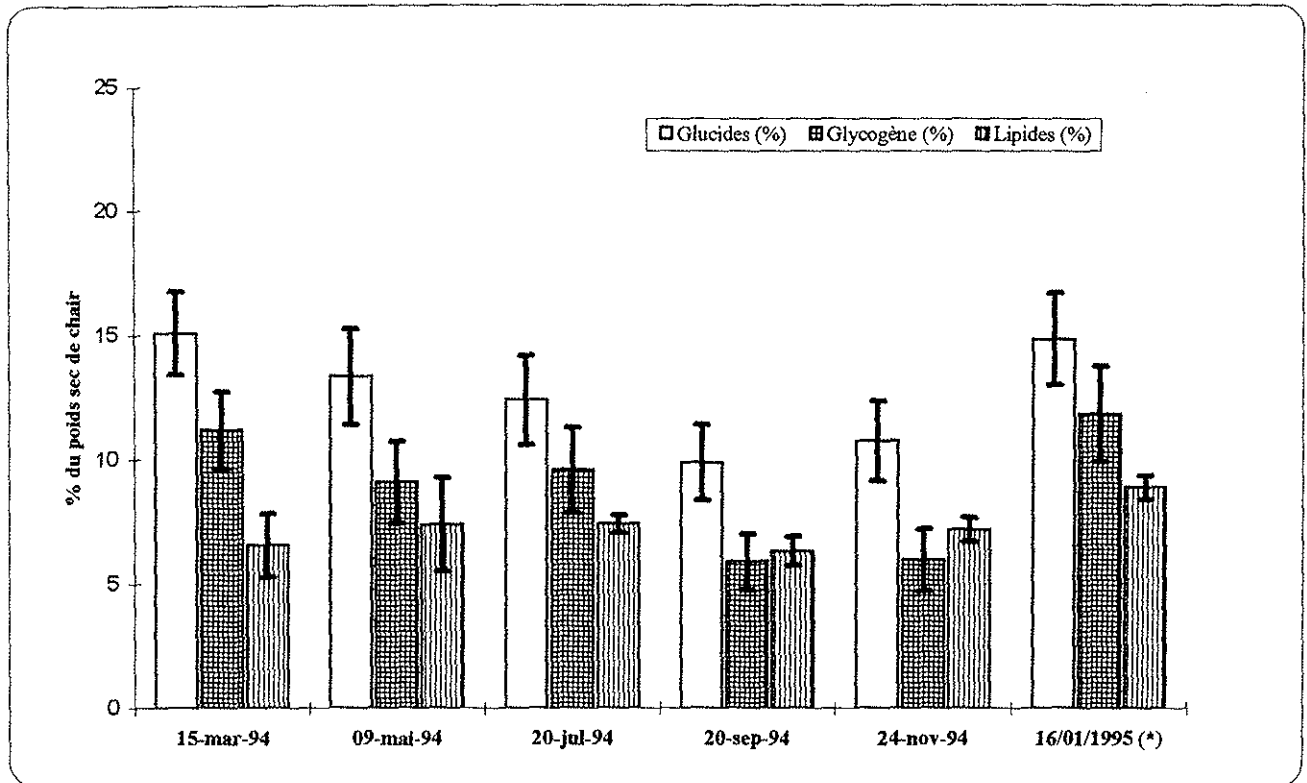


FIGURE 94.3d - Stades de maturation des géniteurs *Ostrea edulis* stockés au froid (observations histologiques) sur (1 bac *).

(IND: indéterminé, M: mâle, F: femelle, H: hermaphrodite.)

(*) : du fait de la mortalité massive ayant décimé l'autre bac début novembre.

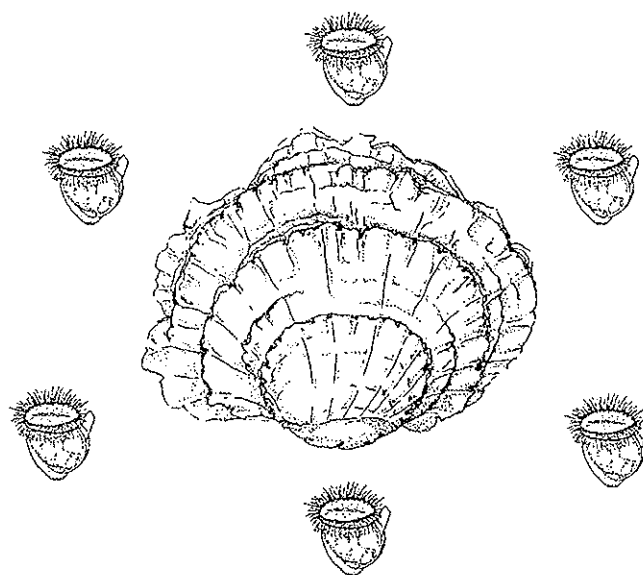


(*): sur un seul bac.

FIGURE 94.4: Teneurs biochimiques des géniteurs stockés au froid
(moyennes et intervalles de confiance à 95%)

LES MATURATIONS CONTROLÉES

1994



3.2. MATURATIONS CONTROLÉES (retard) 1994

3.2.1. Constitution des lots de maturation

De mai à décembre 1994, nous avons procédé à trois séquences de maturation contrôlées, selon le calendrier suivant :

séquence 1	du 30 mai au 18 juillet
2	25-28 juillet au 21 septembre
3	7 octobre au 21 novembre

Les lots sont constitués par tirage au sort des clayettes dans les 2 bacs de stockage au froid, puis transférés dans le bac de transition afin de subir une remontée progressive en température, à raison de 1 à 2°C par jour. Ils sont ensuite placés, après pesée, dans les auges de maturation (G1 à G4, cf. Figure 1).

3.2.2. Protocoles de suivi

Contrôles de routine :

- température et pH sont contrôlés journallement
- récolte des larves s'il y a lieu et nettoyage des collecteurs chaque matin
- filtres biologiques : quantification des teneurs en N-NH₄, N-NO₂, N-NO₃ dans l'eau (analyses Technicon) toutes les deux semaines
- changement d'eau (en cas de salissure)
- entretien des animaux : environ une fois par semaine les huîtres sont rincées rapidement au jet d'eau douce
- siphonnages fréquents
- contrôle de la mortalité : chaque jour
- *Bonamia* : recherche systématique sur les mortes
- biochimie : en prévision du dosage des lipides totaux, les larves récupérées sur tamis de 60 µm sont rincées à l'eau distillée, puis broyées à l'Ultraturax, congelées et lyophilisées.

Contrôle de fin de maturation

Le protocole de fin de maturation différera selon les cycles.

Séquence 1 : pesée puis remise au froid.

Séquence 2 : sacrifice du lot OER9405AB
pesée et remise au froid pour les lots OER9406 et 9407.

Séquence 3 : pesée et sacrifice.

3.2.3. Alimentation algale des géniteurs en maturation

Le tableau 94.9 présente le détail des rations alimentaires distribuées durant les 3 séquences.

Tableau 94.9 - Alimentation algale des géniteurs en maturation contrôlée.

Séquence	Origine	<i>Chaeto.</i> N.cel/j/gén. 10^7	<i>T:Iso</i> N.cel/j/gén. 10^8	Total N.cel/j/gén. 10^7
1	STOCK	0,51	0,36	0,87
	STOCK	0,50	0,36	0,88
2	STOCK	0,36	0,20	0,56
	STOCK	0,46	0,21	0,67
	MER	0,44	0,27	0,71
	ETANG	0,40	0,24	0,64
3	STOCK	0,52	0,29	0,81
	STOCK	0,52	0,29	0,81

3.2.4. Résultats des 3 séquences de maturation

Les principaux résultats biométriques figurent dans les tableaux 94.10.

Le poids moyen final est très proche du poids initial. Les taux de survie sont toujours compris entre 85 et 95 %. Seuls deux incidents sont notés (durant la première séquence) heureusement sans conséquence :

- à J9 : apparition d'un développement bactérien sous la forme de taches roses sur les parois des bacs G1 et G2,
- à J37 : apparition de colonies algales engluant huîtres et clayettes des deux bacs.

Dans les deux cas, les animaux sont brossés et rincés à l'eau douce, les bacs et collecteurs sont vidés, récurés, javellisés et abondamment rincés. La colonne des filtres biologiques subit simplement un rinçage à l'eau douce.

Lorsqu'il est calculé en fin de séquence, l'indice de condition accuse une diminution d'environ 20 points (séquences 2 et 3).

La survie est toujours comprise entre 95 % (lot 1, séquence 1) et 85 % excepté pour le lot 1 de la séquence 3 dont la survie est de 79 %.

Tableau 94.10 - Caractéristiques biométriques et survie des géniteurs des trois séquences de maturation contrôlée.

Séquence	Origine	P. moyen initial (g)	P. moyen final (g)	Effectif initial	Survie (%)	I.C. initial (L.S.)	I.C. (*) final (L.S.)
1	STOCK	101	103	39	95	85,5	n.c.
	STOCK	97		40	90		
2	STOCK	103	99	40	88	85,2	61,5
	STOCK	101		40	85		
	MER	115	116	40	93	n.c.	n.c.
	ETANG	114	115	45	93	n.c.	n.c.
3	STOCK	115		39	79	74,4	55
	STOCK	120		39	85		

(*) l'I.C. n'est calculé que lorsque les animaux sont sacrifiés.

Toutes les valeurs des paramètres physico-chimiques sont restées stables sur l'ensemble des expérimentations de maturation contrôlée. Les moyennes correspondantes figurent au tableau 94.11.

Tableau 94.11 - Caractéristiques physico-chimiques des 3 séquences de maturation contrôlée.

Séquence	Origine	Temp. moyenne °C	Constante thermique °C jour	pH moyen	N-NH ₄ (max/min) (mg/l)	N-NO ₂ (max/min) (mg/l)	N-NO ₃ (max/min) (mg/l)
1	STOCK	18,6	555,6	7,89	0,53 (2,19/0,06)	0,35 (1,26/0,02)	2,46 (3,71/0,71)
	STOCK	18,6	553,7	7,90	0,14 (0,22/0,10)	0,37 (1,06/0,02)	3,83 (6,37/1,19)
2	STOCK	18,8	666,4	7,93	0,29 (0,37/0,21)	0,10 (0,10/0,09)	3,38 (4,83/1,92)
	STOCK	18,7	680,4	7,96	0,23 (0,28/0,17)	0,07 (0,09/0,04)	3,54 (5,12/1,96)
	MER	18,7	643,0	7,93	0,30 (0,31/0,29)	0,11 (0,11/0,10)	4,90 (5,02/4,78)
	ETANG	18,7	622,5	7,96	0,29 (0,30/0,27)	0,09 (0,09/0,09)	5,17 (5,21/5,13)
3	STOCK	18,9	527,2	7,93	0,65 (0,09/0,04)	0,07 (0,09/0,04)	5,24 (5,63/4,84)
	STOCK	18,9	548,4	7,96	0,20 (0,28/0,13)	0,04 (0,05/0,02)	5,29 (5,97/4,61)

La valeur "constante thermique" représente l'accroissement de la constante thermique durant la séquence de maturation

Recherche du parasite *Bonamia* (Tableau 94.12)

Le contrôle effectué sur les animaux morts n'a pas toujours été possible du fait de la dégradation rapide des tissus à la température de conditionnement. Par contre, lorsque les animaux sont sacrifiés, à la fin des séquences 2 et 3, les taux d'infestation constatés sont respectivement de 23,8 et 10 %.

Tableau 94.12 - Résultats des recherches de *Bonamia*.

Séquence	Origine	Contrôle sur mortalité	Contrôle en fin de maturation (N)	Total (%)
1	STOCK	1 (E)/2	Pas de contrôle	
	STOCK	0/2	Pas de contrôle	
2	STOCK	1 (E)/5	2 (M)/9	23,8
	STOCK		3 (E)/10	
	MER	Pas de contrôle	Pas de contrôle	
	ETANG	Pas de contrôle	Pas de contrôle	
3	STOCK	Pas de contrôle	3/30 (?)	10
	STOCK	Pas de contrôle		

(E) = Etang

(M) = Mer

(?) origine non identifiée

Emissions larvaires (Tableau 94.13)

Toutes les séquences (soit le total des 8 lots) ont donné lieu à des émissions de larves, avec des temps de réponse variant entre 7 jours (séquence 2/origine Mer) à 17 jours (séquence 1). La taille moyenne des larves est comprise entre 171 μm (bac 2, séquence 1) et 180 μm (bac 2, séquence 3), avec des tailles maximum de 199 μm mesurées lors de la séquence 2 (bac 2).

Teneurs en lipides (Tableau 94.13)

(Les résultats sont exprimés en pourcentages de poids sec de chair).

Les valeurs de lipides dosées sur les larves récoltées se situent autour de 3,8 % pour les séquences 1 et 2 (bacs 1, 2 et origine Mer), mais s'élèvent à 4,49 % (origine Etang) et 5,48 % pour les 2 bacs de la séquence 3.

Validations larvaires (Tableau 94.13)

Le nombre de validations larvaires réalisées est indiqué pour chaque séquence de maturation. On se reportera au chapitre 3.3. pour le déroulement de ces validations.

Tableau 94.13 - Caractéristiques des émissions larvaires des 3 séquences de maturation contrôlée 1994.

Séquence	Origine	Temps de réponse (jours)	N.larves/géniteur (10^6)	Taille moyenne (μm)	Tailles min/max (μm)	Lipides (% poids sec total)	Nombre validations larvaires
1	STOCK	17	0,51	177	152/196	3,73	3
	STOCK	17	0,76	171	155/194		3
2	STOCK	9	0,32	178	173/189	3,86	1
	STOCK	8	0,36	180	170/199		3
	MER	7	0,25	177	172/181	3,85	2
	ETANG	11	0,48	177	171/184	4,49	2
3	STOCK	12	0,12	175	170/189	5,48	7
	STOCK	12	0,27	180	156/193		13

Remarque : à deux reprises, pour les géniteurs d'origine Mer et une fois pour le lot 1 de la séquence 2, c'est à dire chaque fois durant la période du 25 juillet au 21 septembre 1994, des larves émises ont présenté des signes de malformation.

Comparaison des origines Mer et Etang (Séquence 2)

Les poids moyens des géniteurs des deux origines sont identiques (114 et 115 g) et leur taux de survie est de 93 % en fin de maturation (Tableau 94.10).

Les géniteurs des deux origines produisent des larves d'une même taille moyenne : 177 μm . Le temps de réponse des huîtres de Mer est plus court (7 jours) que celui des huîtres d'Etang, plus court également que celui constaté sur l'ensemble des lots des 3 séquences. Par contre, les géniteurs d'Etang ont un meilleur rendement en termes de quantité de larves émises $0,48 \cdot 10^6$ ($0,25 \cdot 10^6$ pour l'origine Mer) et leurs larves présentent un taux de lipides plus élevé (4,49 %) que celles issues des géniteurs Mer (3,85 %).

Evolution de l'état des gonades durant les séquences de maturation contrôlée

Le sacrifice des géniteurs de la séquence 2 et de la séquence 3 a permis de pratiquer des observations macroscopiques (figures 94.5a et 94.6a) et histologiques (figures 94.5b et 94.6b) des gonades.

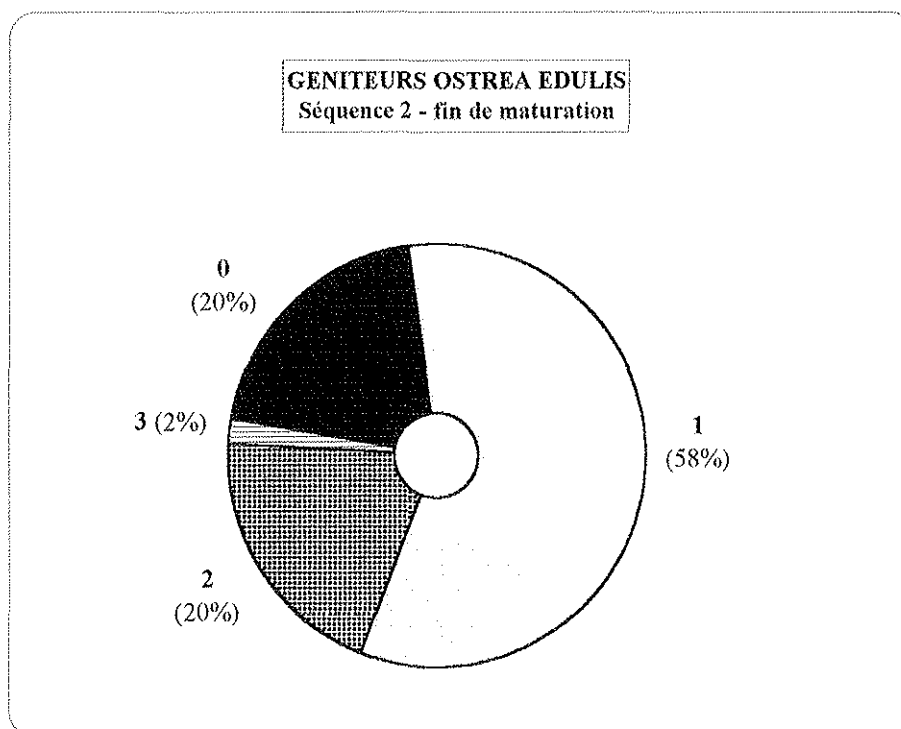
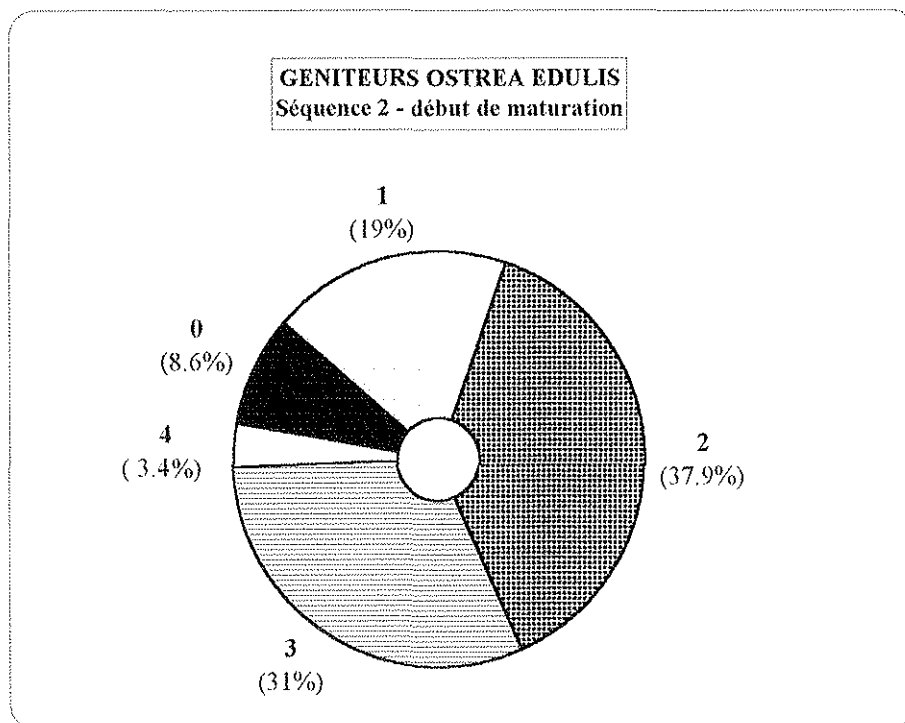
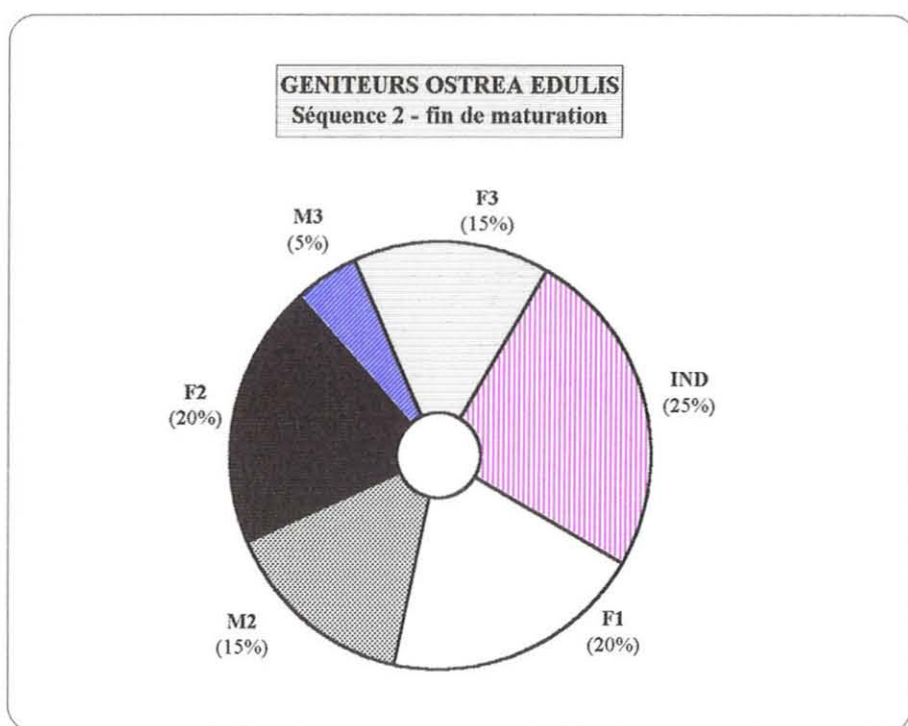
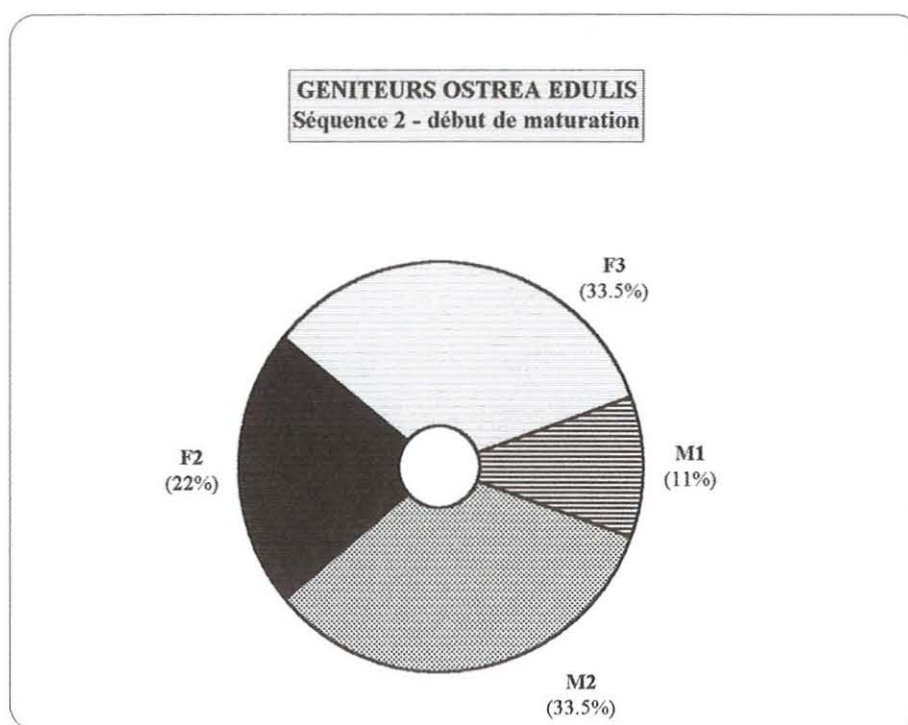
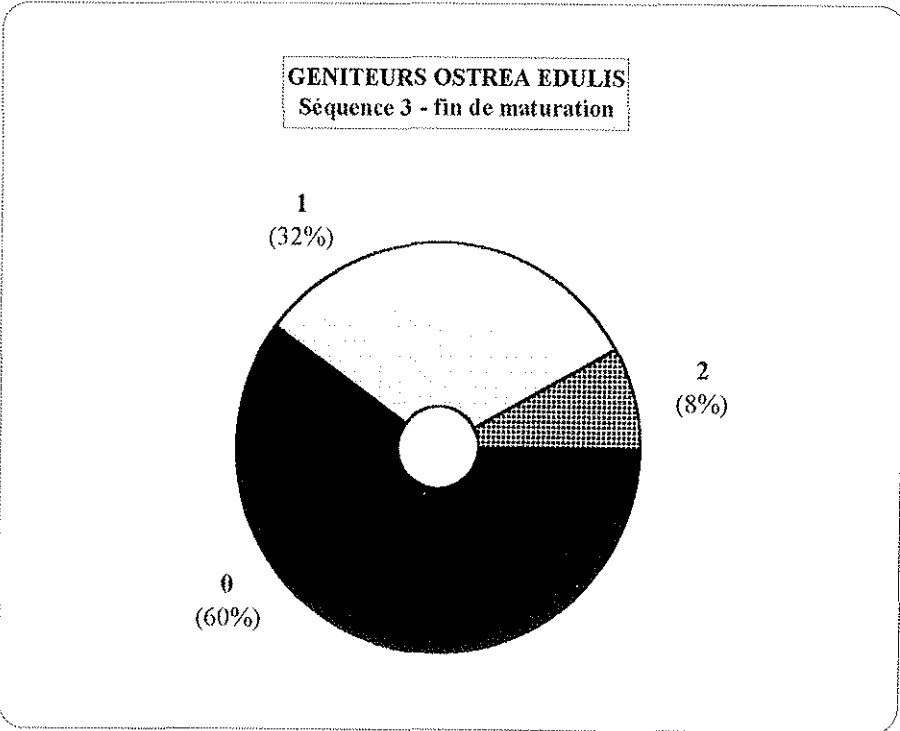
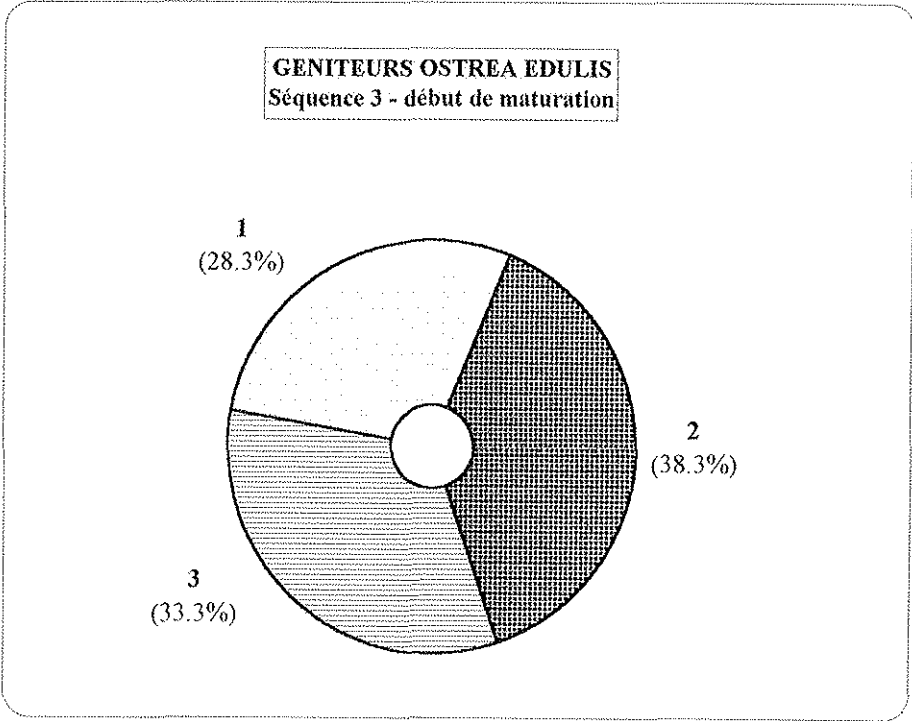


FIGURE 94.5a - Evolution des stades de maturation des géniteurs *Ostrea edulis*.
Maturation-retard. Séquence 2 (*observations macroscopiques*)

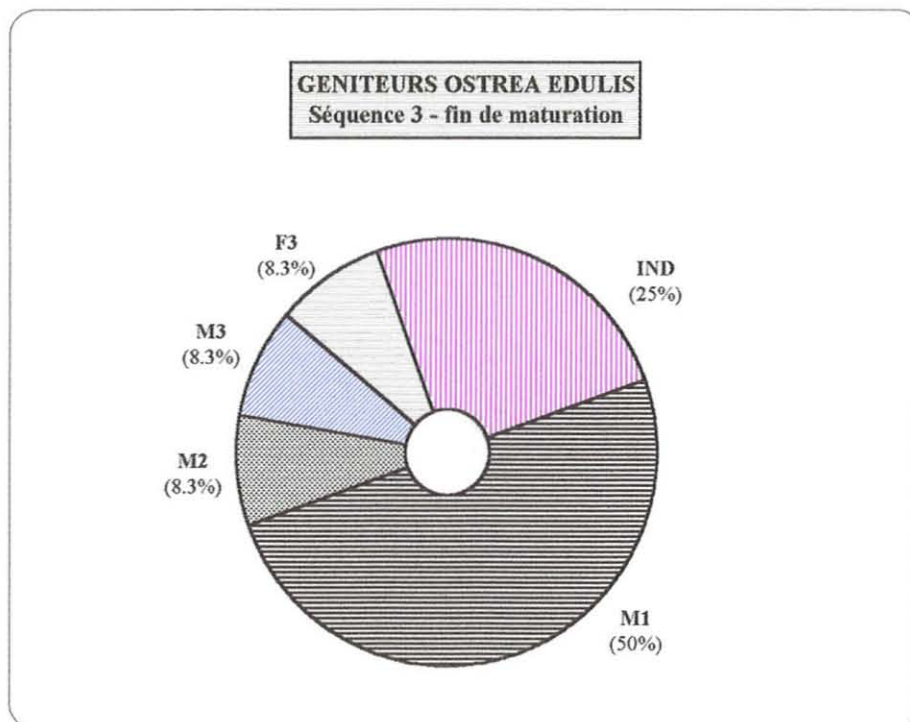
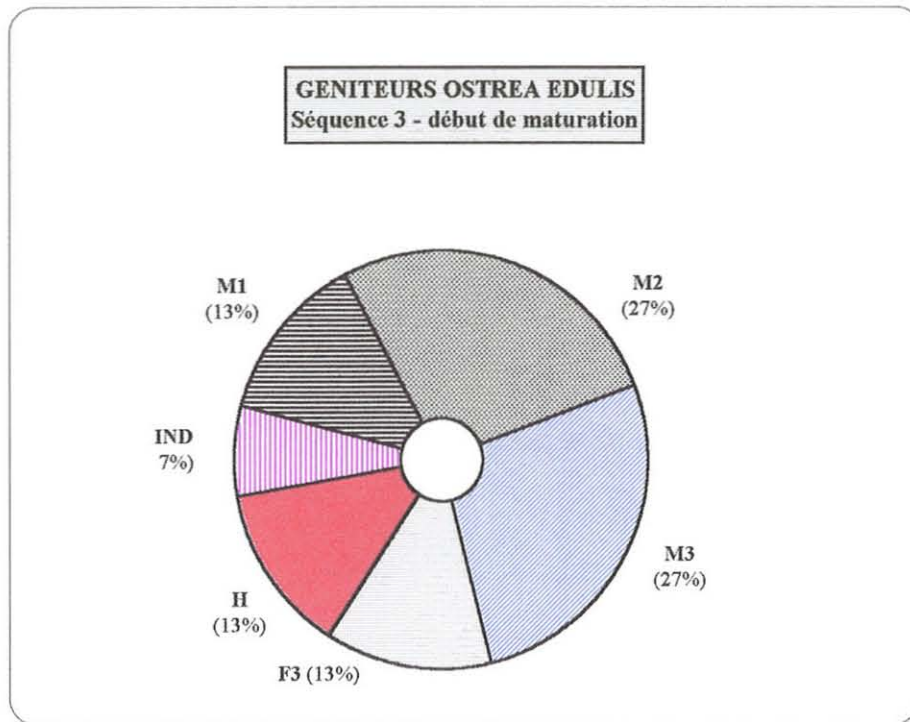


**FIGURE 94.5b - Evolution des stades de maturation des géniteurs *Ostrea edulis*.
Maturation-retard. Séquence 2 (observations histologiques).**

(IND: indéterminé, M: mâle, F: femelle, H: hermaphrodite.)



**FIGURE 94.6a - Evolution des stades de maturation des géniteurs *Ostrea edulis*.
Maturation-retard. Séquence 3 (*observations macroscopiques*)**



**FIGURE 94.6b - Evolution des stades de maturation des géniteurs *Ostrea edulis*.
Maturation-retard. Séquence 3 (*observations histologiques*).**

(IND: indéterminé, M: mâle, F: femelle, H: hermaphrodite.)

- **Séquence 2** : l'observation macroscopique initiale fait apparaître un état de maturation avancée : 37,9 % de stade 2 et 31 % de stade 3 (les 3 % de stade 4 illustrent en fait une émission provoquée par le stress de l'ouverture d'huîtres se trouvant en stade 3 très avancé).

En final, il ne reste plus que 2 % de stade 3 et 20 % de stade 2, la majorité des animaux étant en stade 1 (58 %) ; on peut supposer que l'effort de ponte des géniteurs de cette séquence est pratiquement terminé.

L'observation histologique initiale confirme que tous les animaux observés sont en cours de gamétogenèse, avec un avantage très net des stades femelles matures (35 %). En fin de séquence, 25 % des animaux sont en repos sexuel, mais il reste 20 % de stades matures dont 15 % sont femelles. Cette dernière information est sous-estimée en examen macroscopique.

- **Séquence 3** : l'observation macroscopique initiale montre l'absence de stade 0 et une répartition des géniteurs entre les stades 1 (28 %), 2 (38 %) et 3 (33 %).

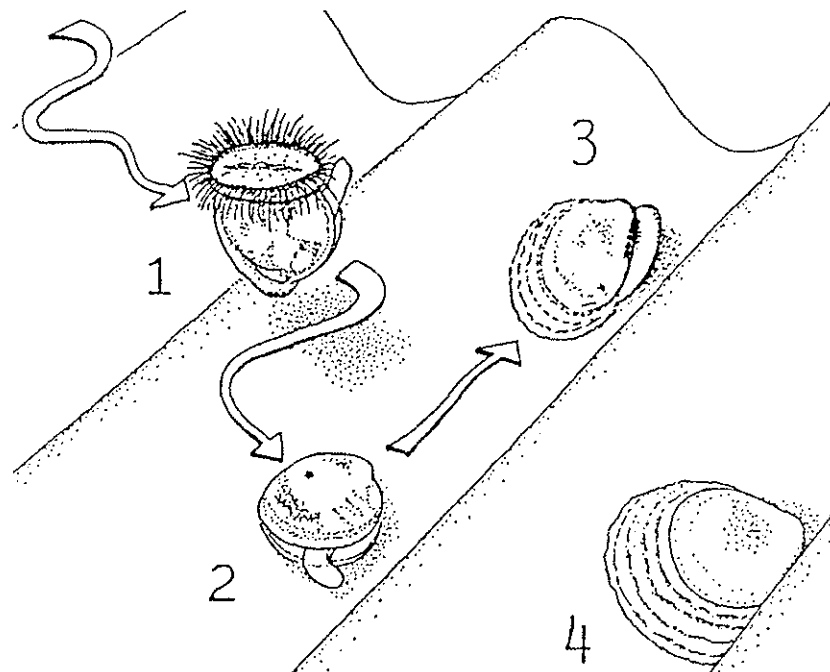
En final, le stade 0 domine largement (60 %), le pourcentage de stade 2 a fortement diminué (8 %) tandis qu'il reste 32 % de stade 1 ; le stade 3 a totalement disparu. Les pontes ont bien cessé.

L'observation histologique initiale montre que plus de la moitié des géniteurs (53 %) est en stade avancé de gamétogenèse (Hermaphrodite, Femelle et Mâle). Lors de l'échantillon final, la proportion d'animaux matures a fortement diminué (16,6 %).

En fin de maturation, les géniteurs de la séquence 1 et ceux des origines Mer et Etang de la séquence 2 sont réacclimatés progressivement au froid, dans des clayettes identifiées, afin de tester leur résistance au stockage à 7°C après une période de ponte. Malheureusement, ces animaux ont été victimes de l'épisode de mortalité massive ayant décimé le bac dans lequel ils étaient stockés, et n'ont pu, de ce fait, faire l'objet de contrôle spécifique (cf. paragraphe 3.1.4. Résultats du stock froid - Survie).

VALIDATIONS LARVAIRES

1994



d'après JOLY 1989

3.3. VALIDATIONS LARVAIRES 1994

PREAMBULE

Les émissions de larves se sont étalées de juin à octobre, sans modification apparente de leurs caractéristiques de taille et de composition en réserves lipidiques.

Au-delà de ce premier résultat, il s'agissait de vérifier la capacité de ces larves à assumer une fin d'élevage larvaire normale, permettant d'accéder à la métamorphose et à la fixation.

Deux types de validations ont été pratiqués : une validation courte, sur une période de 4 à 8 jours, et une validation longue correspondant à un élevage larvaire complet. Ces validations des performances larvaires ont bien sûr supposé une maîtrise préalable des aspects qualité du milieu d'élevage et de la nourriture algale. Pour compléter cette approche zootechnique, l'analyse des teneurs en lipides totaux, glucides et glycogène a été réalisée sur les larves émises et élevées.

3.3.1. Matériel biologique

Les larves destinées aux expérimentations sont fournies par les trois séquences de maturation de juin-juillet, août-septembre et octobre-novembre, et sont traitées selon le plan expérimental schématisé sur la figure 94.7.

Au cours de la deuxième séquence, une comparaison particulière est effectuée entre les larves issues de géniteurs originaires de l'étang de Thau et de la mer.

3.3.2. Protocole d'élevage larvaire

Le protocole habituel pratiqué à Palavas est utilisé. Les élevages sont réalisés à une densité de 4 à 5 larves au millilitre, en bacs cylindroconiques de 200 à 400 litres pour les deux premières séquences, et en volumes de 50 litres pour la troisième séquence. Pour cette dernière, un élevage complet a également été réalisé dans un bac de 2 m³.

Les bacs sont remplis à partir de la réserve d'eau de mer naturelle recirculée sur filtre biologique, ou de la réserve de Thalasea. La salinité est ajustée à 35 g/l, et la température d'élevage est comprise entre 21 et 22°C. Le pH se situe autour de 7,9.

Les larves sont nourries sur un mélange d'*Isochrysis galbana* souche *T-Iso* et de *Chaetoceros calcitrans*, ajusté à 40 cellules/ μ l. Les algues utilisées pour les validations des deux premières séquences de maturation ont été cultivées en gaines de 50 litres ; pour la troisième séquence, elles proviennent de ballons de 20 litres.

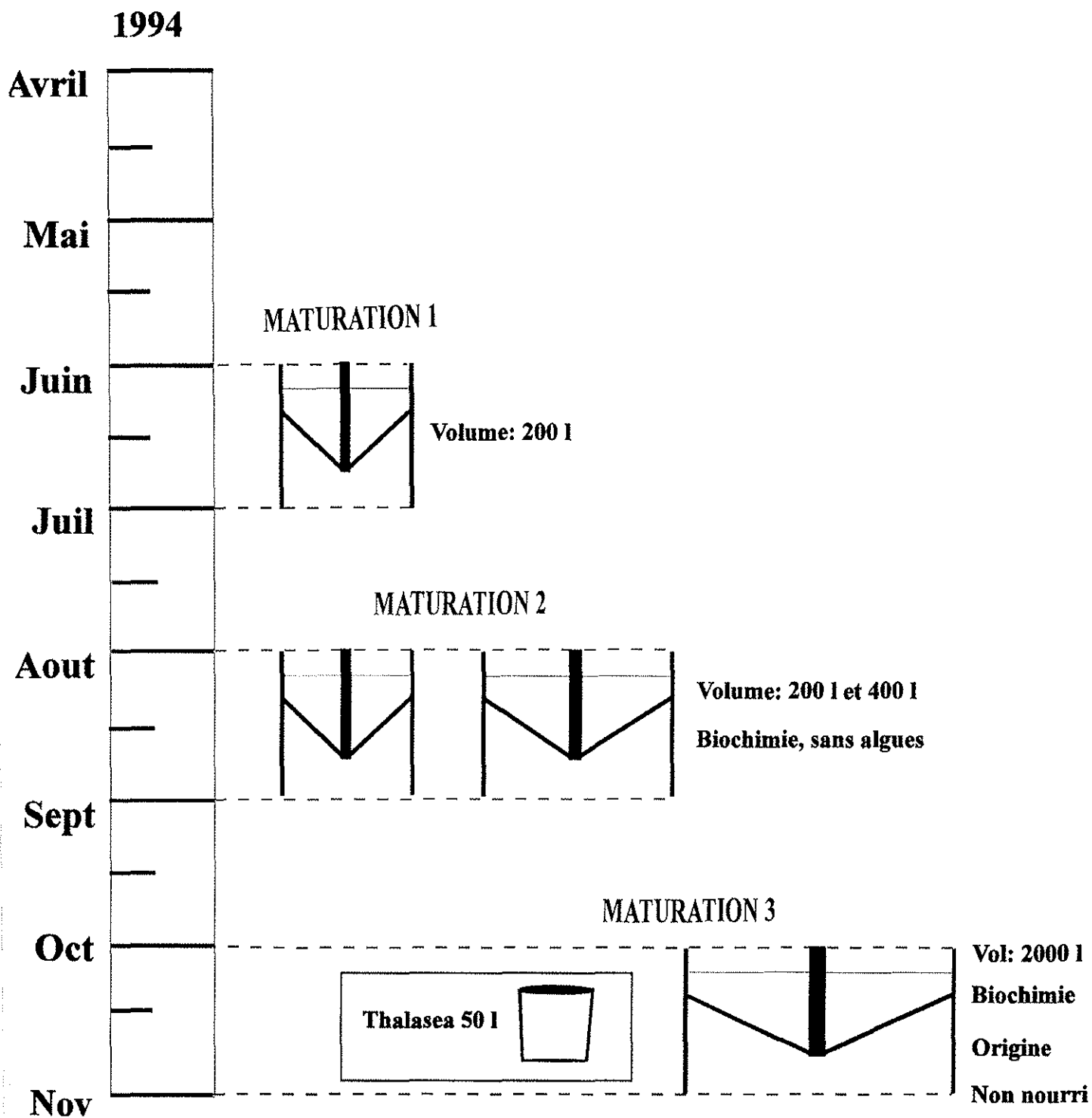


Figure 94.7 : Plan experimental des validations larvaires

Un changement d'eau a lieu trois fois par semaine, et permet de faire le point sur les différents paramètres. Les larves prélevées pour les dosages biochimiques sont broyées au Polytron, congelées puis lyophilisées. Les dosages de glucides totaux et de glycogène sont réalisés selon la méthode de Dubois *et al.*, (1956) le dosage des lipides selon la méthode de Marsh et Weinstein (1966). La méthode de coloration de Gallagher et Mann (1981) a été essayée pour apprécier par observation microscopique directe l'état des réserves lipidiques de la glande digestive.

3.3.3. Résultats des 3 séquences

Remarque : il convient de noter que toutes les émissions de larves obtenues au cours des trois séquences de maturation n'ont pas été validées par un élevage larvaire. Les résultats exposés ci-dessous ne concernent donc qu'une sélection réalisée, non pas en fonction de l'abondance de l'émission ou de la taille des larves émises, mais essentiellement sur le critère de disponibilité des installations expérimentales larvaires au moment de l'émission.

3.3.3.1. Séquence de maturation n° 1 (Tableau 94.14)

Origine : stock commun de géniteurs Mer-Etang de Thau.

Paramètres étudiés : croissance, survie, lipides et glucides totaux analysés en fin d'élevage.

Protocole : eau de mer naturelle stockée et recirculée sur filtre biologique, volume d'élevage 200 litres, phytoplancton produit en gaines de 50 litres.

Tableau 94.14 - Résultats des élevages larvaires de validation de la séquence 1.

N° Elevages	9401	9403	9404	9405	9406	9407
Date début	15/06	17/06	24/06	3/07	4/07	12/07
Durée maturation (j)	18	20	25	36	37	45
Age fin (j)	9	13	13	10	9	3
Alimentation algale	oui	oui	oui	oui	oui	oui
Taille début (µm)	181	177	169	174	158	162
Taille fin (µm)	294	295	317	214	194	162
Croissance moyenne (µm/j)	13	9,1	11,4	4	4	0
T°C (moyenne)	22,3	22,3	22,3	22,3	22,3	22,3
Lipides (% poids sec)	4,48	2,81	5,39			
Glucides totaux (% poids sec)	0,13	0,16	0,2			
Survie (%)	85	100	69	72	71	30

Les trois premiers élevages réalisés sur la deuxième moitié de juin se caractérisent par de bonnes performances de croissance. Les survies sont élevées et la teneur en lipides en fin d'élevage se situe entre 2,8 et 5,4 % de la matière sèche (cf. Fiche synthétique de l'élevage 9404 en annexe 3).

A l'inverse, les deux élevages suivants, après un démarrage normal, sont frappés par un arrêt de la croissance larvaire. Le dernier élevage est marqué par une stagnation totale de la croissance et par la plus faible survie.

Au cours de cette série de validations, un événement extérieur remarquable s'est produit à partir du 5 juillet : une forte malaïgue (crise dystrophique) s'est développée sur l'étang du Prévost. Les eaux de l'étang ont commencé de sortir vers la mer à partir du 7 juillet, et ont donc affecté le pompage en mer de la Station de Palavas à partir de cette date. La réserve d'eau de mer de l'écloserie, qui est reconstituée après utilisation pour les changements d'eau, a été à son tour affectée à partir du 8 ou du 9 juillet. L'effet direct de la malaïgue s'est donc répercuté sur les élevages de validation à partir des changements d'eau postérieurs au 9 juillet.

3.3.3.2. Séquence de maturation n° 2 (Tableau 94.15)

Origine : stock individualisé de géniteurs "Mer" pour les élevages 9409 et 9415, stock individualisé de géniteurs "Etang" pour les élevages 9413 et 9414, stock commun pour les autres élevages.

Paramètres étudiés : croissance, survie, lipides et glucides totaux analysés en fin d'élevage.

Protocole : eau de mer naturelle stockée et recirculée sur filtre biologique, volume d'élevage 200 litres, phytoplancton produit en gaines de 50 litres, élevage sans nourriture (9414).

Tableau 94.15 - Résultats des élevages larvaires de validation de la séquence 2.

N° Elevages	9408	9409	9410	9411	9412	9413	9414	9415
Date début	2/08	3/08	8/08	9/08	10/08	14/09	14/09	15/09
Durée maturation (j)	9	7	15	16	17	49	49	50
Age fin (j)	6	5	4	3	7	8	8	8
Alimentation algale	oui	oui	oui	oui	oui	oui	non	oui
Taille début (μm)	189	181	170	173	179	167	167	156
Taille fin (μm)	201	189	*	*	186	185	172	185
Croissance moyenne ($\mu\text{m}/\text{j}$)	2	0	0	0	1	2,2	0,5	3,6
T°C (moyenne)	22,2	22,3	22,2	22,4	22,3	20,9	21,2	21,2
Lipides (% poids sec)	0,86	1,51	0,68	0,83	1,64	1,41	1,52	0,69
Glucides totaux (% poids sec)	0,08	0,09	0,04	0,07	0,17	0,06	0,04	0,06
Survie (%)	68	81	0	0	60	67	64	64

* Fortes mortalités.

Tous ces essais, qui se sont déroulés sur la période août-septembre, se caractérisent par une durée brève et des résultats de croissance médiocres.

La comparaison des larves d'origine individualisée "Mer" ou "Etang de Thau" ne met pas en évidence de différences significatives.

Tous les élevages de cette période, qu'ils aient été nourris en algues unicellulaires ou non nourris (9414), montrent une utilisation des réserves lipidiques et glucidiques.

3.3.3.3. Séquence de maturation n° 3

Comparaison eau de mer naturelle-Thalasea (Tableaux 94.16 et 94.17).

Origine : stock commun de géniteurs Mer-Etang de Thau.

Paramètres étudiés : croissance, survie.

Protocole : eau de mer naturelle stockée et recirculée sur filtre biologique, eau de mer artificielle Thalasea, volume d'élevage 50 litres, phytoplancton produit en gaines de 80 litres pour l'essai 1 et en ballons de 20 litres pour l'essai 2.

La première comparaison a permis de tester le dispositif expérimental en petits volumes de 50 litres. Quel que soit le régime alimentaire, les résultats de croissance sur une semaine ne montrent pas de différence significative pour le Thalasea, pour l'eau de mer de la réserve (Tableau 94.16).

Tableau 94.16 - Résultats des élevages larvaires de validation de la séquence 3 : comparaison eau de mer naturelle/eau de mer artificielle Thalasea (essai 1).

N° Elevages	9416	9417	9418	9419	9420	9421
Date début	18/10	18/10	18/10	18/10	18/10	18/10
Milieu d'élevage	Thalasea	Thalasea	Thalasea	e.d.m.nat.	e.d.m.nat.	e.d.m.nat.
Durée maturation (j)	13	13	13	13	13	13
Age fin (j)	6	6	6	6	6	6
Alimentation algale	oui	non	oui	oui	oui	non
Taille début (μm)	177	177	177	177	177	177
Taille fin (μm)	180	175	175	185	187	180
Croissance moyenne ($\mu\text{m}/\text{j}$)	0,5	0	0	1,3	1,7	0,5
T°C (moyenne)	21,4	21,4	21,3	21,4	21,5	21,4
Survie (%)	50	59	37	37	49	55

Le même schéma se répète pour la deuxième comparaison réalisée 12 jours plus tard : absence de croissance sur une semaine (Tableau 94.17), malgré l'utilisation de phytoplancton produit en ballons de 20 litres.

Tableau 94.17 - Résultats des élevages larvaires de validation de la séquence 3 : comparaison eau de mer naturelle/eau de mer artificielle Thalasea (essai 2).

N° Elevages	9426	9427	9428	9423	9424	9425
Date début	30/10	30/10	30/10	30/10	30/10	30/10
Milieu d'élevage	Thalasea	Thalasea	Thalasea	e.d.m.nat.	e.d.m.nat.	e.d.m.nat.
Durée maturation (j)	24	24	24	24	24	24
Age fin (j)	6	6	6	6	6	6
Alimentation algale	oui	oui	oui	oui	oui	oui
Taille début (μm)	183	183	183	183	183	183
Taille fin (μm)	179	181	179	184	186	187
Croissance moyenne ($\mu\text{m}/\text{j}$)	0	0	0	0,2	0,5	0,6
T°C (moyenne)	21,3	21,3	21,2	21,7	21,7	21,7
Survie (%)	53	40	60	54	57	14

Elevage grand volume (Tableau 94.18).

Origine : larves issues du stock commun Mer-Etang de Thau.

Paramètres étudiés : croissance, survie, lipides et glucides totaux analysés en fin d'élevage.

Protocole : eau de mer naturelle recirculée sur filtre biologique, bac d'élevage de 2 m³, phytoplancton produit en ballons de 20 litres.

Tableau 94.18 - Résultats des élevages de production automnale en grand volume de 2 m³.

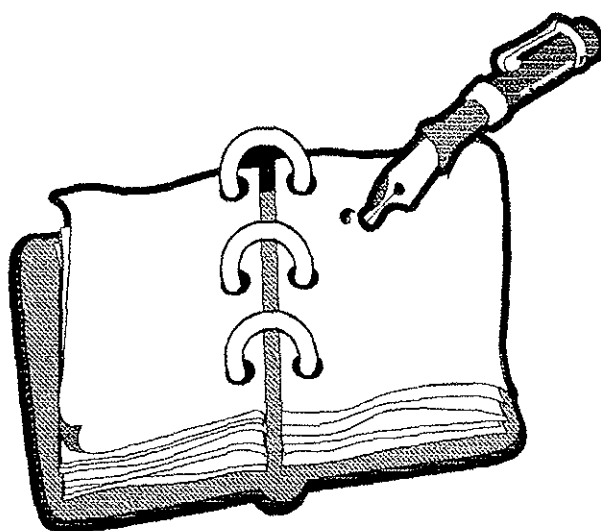
N° Elevage	Durée maturation (j)	Age fin (j)	Taille début (μm)	Croissance ($\mu\text{m}/\text{j}$)	Survie (%)	Lipides (% poids sec)	Glucides (% poids sec)	T°C (moyenne)
9422	14	21	183	5,2	18	1,82	0,3	21,6

Cet élevage, démarré le 19/10/94 à partir de larves émises après 14 jours de maturation, s'est déroulé en même temps que le premier essai de comparaison eau de mer naturelle recyclée et eau de mer artificielle Thalasea. La croissance moyenne journalière n'est que de 5,2 μm , sensiblement plus faible que les croissances obtenues au cours des premiers élevages de la première séquence de maturation (§ 3.3.1., Tableau 94.13). En fin d'élevage, les réserves en lipides et glucides sont présentes à des teneurs respectives de 1,8 % et 0,3 %.

Cependant, malgré une durée de 21 jours, cet élevage de production a pu être mené à terme, à l'inverse des élevages de comparaison réalisés simultanément en petits volumes de 50 litres. Une production de 700.000 larves oillées a permis d'effectuer un essai de fixation sur collecteurs de lames Norlac, avec un taux de fixation en sortie d'écloserie de 15 % (cf. Fiche synthétique d'élevage larvaire en annexe 3).

LES COMMENTAIRES

1994



3.4. COMMENTAIRES SUR LES EXPERIMENTATIONS 1994

3.4.1. Généralités

La double origine des huîtres au moment de la constitution du stock de géniteurs a introduit une hétérogénéité au départ. En effet, les huîtres issues de l'étang présentaient un poids moyen inférieur et un indice de condition plus élevé que celles issues de la mer. Mais cette différence a été compensée par le cumul thermique des deux lots au moment de la constitution du stock : la température hivernale plus clémente de l'eau de mer par rapport à l'étang a conféré au sous-stock Mer une constante thermique plus élevée (323 degrés-jours) que celle des huîtres de l'étang (106 degrés-jours) (Wilson et Simons, 1985). Effectivement, l'observation macroscopique des gonades (Figure 94.2) montre une gamétogenèse plus avancée en mer, avec davantage de stade 2 (40 %) qu'en étang (23 %). Etant donné la durée de l'expérimentation, on peut penser que ces différences initiales se sont résorbées avec le temps.

3.4.2. Le stock froid

Malgré une durée de stabulation au froid de 8 mois, la mortalité a été suffisamment faible pour ne pas compromettre le bon déroulement de l'expérience, jusqu'à l'échéance de novembre. Cette mortalité a été inégale dans les deux bacs. Dans le bac S2, qui n'a pas subi d'incidents de température, la mortalité cumulée de mars à novembre représente 21 % de la population initiale. La mortalité de 57 % enregistrée dans le bac S1 a pu être directement corrélée aux accidents de température de juillet et août dans ce bac (mortalité immédiate) et à l'affaiblissement que ces épisodes ont entraîné sur les géniteurs (mortalité différée). La responsabilité de *Bonamia*, détecté à moins de 1 % dans le stock initial dans cette mortalité, est restée limitée puisque seulement 11 % des animaux morts étaient infestés. On peut donc considérer que malgré la forte densité de stockage et la stabulation en circuit fermé, il n'y a pas eu de propagation massive du parasite dans les conditions de l'expérience.

L'observation macroscopique des stades de maturation montre que la température basse n'a pas empêché une certaine évolution de la gamétogenèse. Les stades 3 apparaissent dès le mois de mai et par la suite, le niveau de maturation se stabilise sur un équilibre entre les stades 1, 2 et 3. Cette situation offre l'intérêt d'avoir pu disposer jusqu'en novembre d'une population de géniteurs contenant une proportion non négligeable de stades 3, donc rapidement utilisables pour une fin de conditionnement. A la même époque, des géniteurs du milieu naturel ne contiennent essentiellement que des stades 1 et 2 (Vercelli *et al.*, à paraître). En fin de parcours, on assiste malgré tout à une diminution du pourcentage de stades 3.

L'évolution de la sex ratio des géniteurs stockés au froid durant la période mai à novembre (Figure 94.8) est caractérisée par la présence permanente d'une majorité d'animaux sexés, comprise entre 93 et 100 %. En mai, les sexes sont représentés quasiment à égalité : 50 % de femelles et 44 % de mâles. L'apparition des animaux hermaphrodites, en juillet, s'accompagne d'une chute plus accentuée dans la population femelle que dans la population mâle, particulièrement marquée en septembre.

Contrairement à ce qui se passe dans le milieu naturel (Figure 94.9), on ne constate pas de chute de la proportion d'animaux sexés en automne.

La température basse (8,3 et 8,2°C en moyenne dans les deux bacs), si elle n'empêche pas le développement de la maturation jusqu'au stade 3, ne suffit pas à assurer le déclenchement de l'émission des gamètes. La présence de 3 % de stades 4 dans l'échantillonnage bimestriel de juillet (Figure 94.3a) permet de situer ce seuil de déclenchement entre 13 et 14°C dans nos conditions expérimentales. Ceci correspond à la température atteinte début juillet dans le bac S1 pendant 8 à 10 jours de mauvais fonctionnement du groupe froid.

Pendant ce stockage prolongé au froid, l'indice de condition Lawrence-Scott diminue régulièrement, de 105 en mars à 72 en novembre (Tableau 94.7). Cette dernière valeur est faible, mais reste toutefois supérieure à la valeur de 58 qui avait été mesurée en novembre sur un lot de géniteurs naturels en mer (Vercelli *et al.*, à paraître).

Pendant le même temps, les réserves lipidiques restent stables entre 6,3 et 7,6 % du poids de chair sèche, alors que la teneur en glucides totaux diminue de moitié, de 11,2 à 6,3 % (Figure 94.4). Cette évolution des réserves correspond aux observations de Walne et Mann (1975) sur un cycle de reproduction de géniteurs en milieu naturel.

En l'absence d'expérimentations particulières sur le niveau d'alimentation, ces évolutions des réserves et de l'indice de condition permettent d'estimer en première approximation, que la quantité de nourriture algale (0,15 à 0,30.10⁹ cellules/huître/jour en moyenne) distribuée dans le stockage froid a suffi à assurer les besoins minimums des animaux (Tableau 94.3).

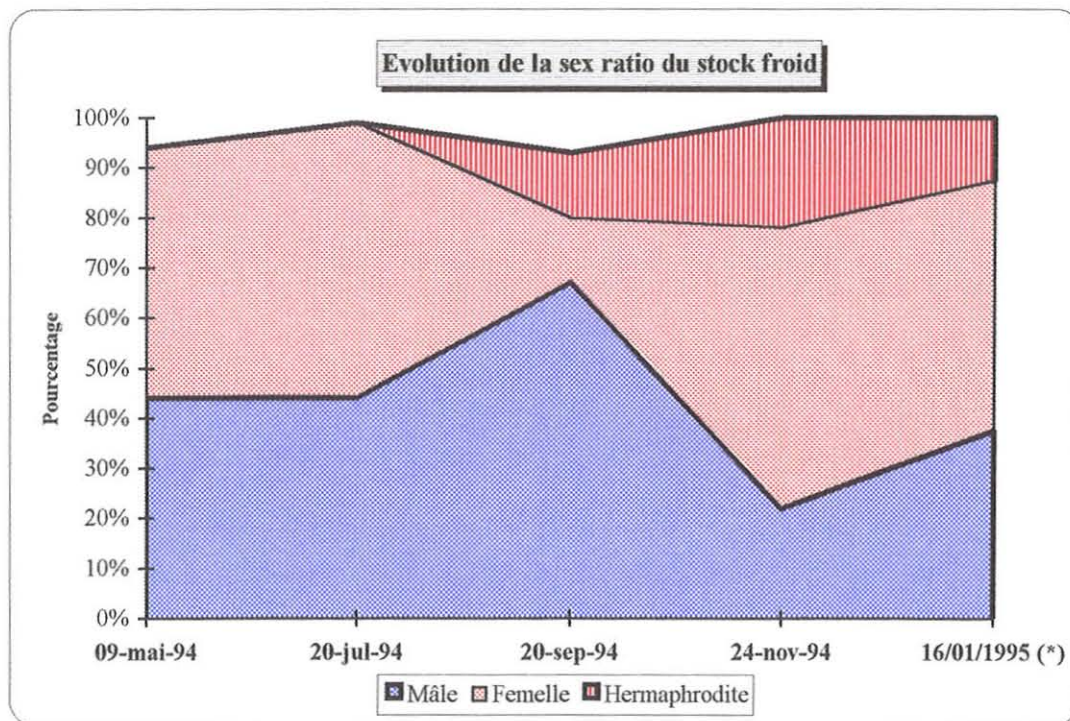
3.4.3. Les maturations contrôlées

Les maturations contrôlées constituent l'aboutissement pratique du stockage-retard au froid des géniteurs, et conduisent aux émissions de larves utilisables en éclosérie, selon le calendrier choisi.

Sur le plan technique, il n'a pas été rencontré de difficultés particulières, les paramètres de stabulation ayant été établis au cours des saisons précédentes (Coatanéa *et al.*, 1992 et 1994).

La température de 19°C a permis de déclencher la fin de la gamétogenèse et les émissions de larves avec des temps de réponse courts, compris entre 7 et 17 jours, dans l'ensemble plus brefs que ceux obtenus pendant les campagnes 1991, 1992 et 1993. On note que ce mécanisme de déclenchement des émissions n'a pas été altéré par le stockage prolongé des géniteurs au froid.

Le rendement global des émissions larvaires est plus faible que les années précédentes. Le meilleur rendement, obtenu au cours de la séquence 1, n'est que de 0,76.10⁶ larves/huître, alors qu'il atteignait 0,90 à 1,20.10⁶ de 1991 à 1993. Cette différence peut s'expliquer par un niveau d'alimentation algale plus faible (0,6 à 0,9.10⁹ cellules/huître/jour) que les années précédentes (1 à 1,5.10⁹ cellules/huître/jour), qui a pu affecter le rendement en termes de quantité de larves émises.



*: observation réalisée sur un seul bac.

FIGURE 94.8 - Evolution de la sex ratio des géniteurs *Ostrea edulis* stockés au froid.

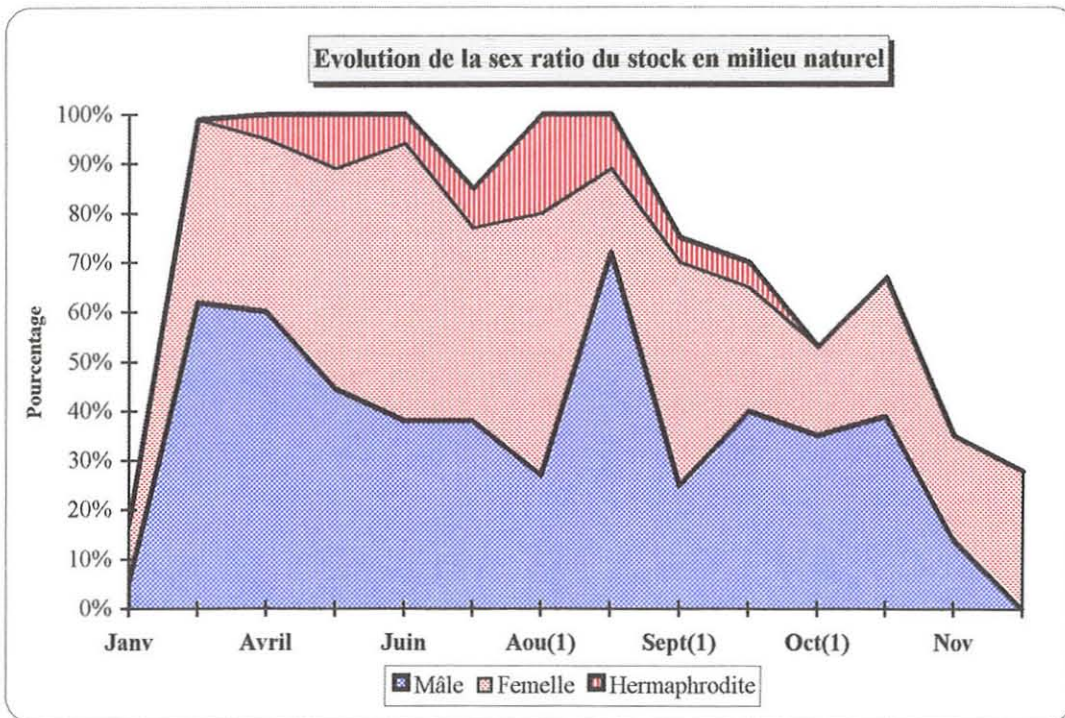


FIGURE 94.9 - Evolution de la sex ratio d'un stock de géniteurs en milieu naturel Méditerranéen 1993. Vercelli et al. (à paraître).

La figure 94.10 montre que la **1ère séquence** présente le temps de réponse le plus long avec des pontes continues et régulières, l'effort de ponte n'étant probablement pas terminé lors de l'arrêt de l'expérimentation. La **séquence 2** montre la réponse la plus rapide des maturations 1994, avec des émissions échelonnées en plateaux jusqu'à la fin, sans que l'on puisse dire si les géniteurs avaient terminé de pondre au moment de l'arrêt de cette séquence. Quant à la séquence 3, avec un temps de réponse intermédiaire, il apparaît nettement que la durée des pontes a été très brève (une dizaine de jours).

L'évolution du rendement des émissions par géniteur se caractérise par une diminution régulière, de $0,76 \cdot 10^6$ à la séquence 1, à $0,34 \cdot 10^6$ à la séquence 2 et $0,20 \cdot 10^6$ à la séquence 3 (Tableau 94.8). Cette diminution peut être corrélée d'une part, à la baisse progressive de l'indice de condition des géniteurs au cours du stockage et d'autre part, à l'effet de l'exposition prolongée au froid (Tableau 94.7).

Chaque séquence de maturation s'accompagne d'une modification importante de l'état des animaux. Les émissions de larves entraînent une baisse sensible, de l'ordre de 20 points, de l'indice de condition des géniteurs (Tableau 94.10). De plus, on note en fin de séquence la disparition des stades de maturation 3, la majorité des animaux étant revenue aux stades 0 et 1 (Figure 94.7a).

La taille des larves émises appelle deux commentaires. En premier lieu, quelle que soit la séquence de maturation considérée, cette taille est plus élevée et plus homogène (fourchette de 171 à 180 μm , Tableau 94.13) que les tailles mesurées les années précédentes (152 à 171 μm , Tableau 94.19). D'autre part, il n'y a pas de dégradation de la taille avec le temps, les larves de novembre présentant les mêmes caractéristiques que celles de mars. Ce résultat est confirmé par l'évolution de la teneur en lipides totaux des larves à l'émission, qui augmente légèrement de mars à novembre et se situe à une valeur de 5,48 % du poids sec total, proche des 6,6 % cités par Holland (1978) pour cette espèce. La présence de cette réserve lipidique est intéressante, plusieurs auteurs ayant démontré que les lipides font partie des réserves les plus mobilisées durant l'élevage larvaire et que, par ailleurs, la variabilité des élevages larvaires pouvait être corrélée à la concentration lipidique à l'émission (Millar et Scott, 1967 ; Holland et Spencer, 1973).

Tableau 94.19 - Caractéristiques de taille des émissions de larves pendant les années 1991, 1992 et 1993.

Largeur (μm)	1991		1992		1993	
	Printemps	Automne	Printemps	Automne	Printemps	Automne
Moyenne	161	153	152	156	171	/
Minimum	148	147	145	148	171	/
Maximum	175	159	166	163	173	/

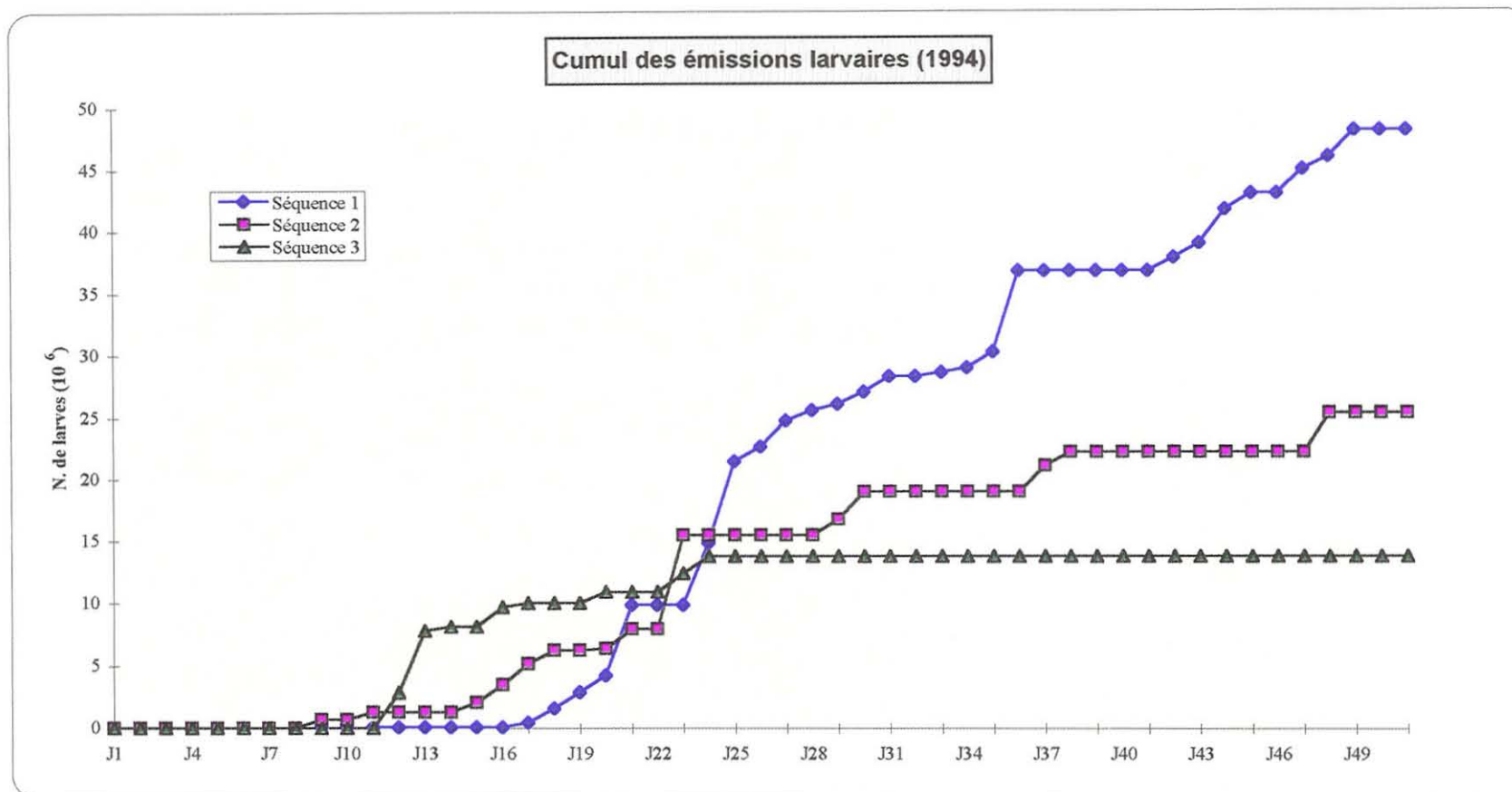


FIGURE 94.10: Cumul des pontes des 3 séquences de maturation

Enfin, on notera que la recherche de *Bonamia* en fin de séquences 2 et 3 révèle un taux de contamination plus élevé que celui observé dans le stock froid. Cette contamination n'a cependant pas entraîné de mortalités particulières.

3.4.4. Les validations larvaires

Cette série de validations larvaires issues des maturations 1994 se solde par un bilan contrasté.

Sur le plan des résultats positifs, on retiendra qu'avec un protocole de maturation original on a pu obtenir des larves satisfaisantes en qualité et en quantité sur l'ensemble de la saison de maturation. Pour la première fois, dans les conditions expérimentales de la Station de Palavas, ces larves ont permis de mener à bien un élevage larvaire en octobre-novembre, suivi d'une fixation.

1. Les larves disponibles pour les validations larvaires ont eu une taille élevée, située entre 171 et 180 μm .
2. La quantité de larves et la fréquence des émissions n'ont pas été un facteur limitant pour les validations larvaires. En effet, à l'inverse de la situation de 1993, il a été possible de réaliser des élevages larvaires en été et en automne.
3. La teneur en lipides des larves émises semble être un indicateur utilisable pour apprécier la qualité de la larve et son aptitude à réaliser un parcours larvaire normal. L'évolution de cette teneur en lipides au cours de l'élevage larvaire caractérise bien le bon déroulement de l'élevage. Ainsi, les élevages affichant une forte croissance journalière se traduisent par une bonne conservation des lipides (Tableau 94.14). Par contre, les élevages marqués par une stagnation de la croissance voient les réserves lipidiques des larves disparaître progressivement au cours de la première semaine, sans que cette disparition soit obligatoirement accompagnée de mortalité (Tableau 94.15). La méthode d'observation directe au microscope des réserves lipidiques, après coloration selon Gallager et Mann (1981), s'est révélée peu facile d'emploi et n'a pas été retenue.
4. Le stockage au froid des géniteurs pendant plusieurs mois ne semble pas affecter la capacité des larves émises à assurer de fortes croissances journalières. Les augmentations de taille de 9 à 13 $\mu\text{m}/\text{j}$ des élevages de juin, après trois mois de stockage froid, soutiennent la comparaison avec les 12 à 15 $\mu\text{m}/\text{j}$ obtenus sur les meilleurs élevages réalisés à Palavas au printemps 1991, à partir de géniteurs issus du milieu naturel et directement conditionnés.

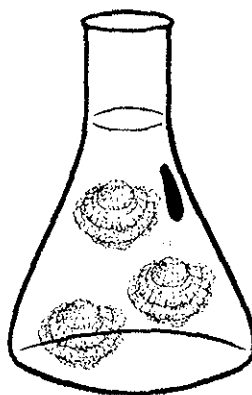
5. L'élevage larvaire réalisé en bac de 2 m³ fin octobre 1994, même s'il n'affiche qu'une performance de 5,2 µm/j et une consommation partielle des réserves lipidiques larvaires, démontre la viabilité des larves après une stabulation de 7 mois des géniteurs au froid et leur capacité de réaliser une métamorphose et une fixation normales. Le taux de fixation de 15 % se situe en effet dans la moyenne des résultats obtenus sur cette espèce à Palavas (de 10 à 25 % de 1991 à 1993). De plus, sur le plan de la gestion d'un calendrier de production dans une éclosérie, une telle durée de stockage au froid permet de couvrir un cycle annuel de production.

Cependant, ce dernier élevage, comme ceux de la séquence 2, met en évidence les difficultés qui ont été rencontrées au cours des validations larvaires. En effet, un certain nombre de problèmes non résolus ont été rencontrés au niveau de la maîtrise de la technique d'élevage larvaire. Ces problèmes sont apparus brutalement au moment de la malaïgue de début juillet jusqu'à la fin des expérimentations. Cette situation révèle que, malgré les efforts d'amélioration de l'infrastructure expérimentale, la salle d'élevage larvaire est demeurée dépendante des conditions extérieures.

Plusieurs hypothèses sont envisageables :

- 1) le coup d'arrêt brutal enregistré début juillet sur les élevages larvaires, en relation avec la malaïgue de l'étang du Prévost, suggère une dégradation de la qualité de l'eau de mer par :
 - apport de substances organiques dissoutes,
 - introduction de populations bactériennes indésirables malgré le traitement U.V. de l'eau introduite dans la réserve de l'éclosérie,
 - contamination bactérienne par aérosols,
 il faut toutefois noter qu'aucune mortalité larvaire fulgurante de type attaque bactérienne massive n'a été enregistrée, ce qui n'exclut pas une action indirecte de type exotoxine ;
- 2) les algues unicellulaires : en plus des variations propres de la qualité algale au cours d'une production phytoplanctonique, il est également possible que la salle d'algues ait souffert de problèmes liés, soit à la qualité de l'eau (substances dissoutes), soit à l'environnement bactérien (eau, aérosols) et qu'une contamination introduite à cette occasion se soit ensuite perpétuée dans l'enceinte de la salle d'algue, affectant durablement les validations larvaires des séquences 2 et 3 ;
- 3) les blocages de croissance larvaire non accompagnés de mortalités massives peuvent aussi suggérer plus de problèmes de type subtoxicité (substances dissoutes) que de type bactérien direct ;
- 4) l'utilisation d'eau de mer reconstituée (Thalasea) n'a pas permis de lever ces difficultés. En plus d'éventuelles contaminations bactériennes de la réserve d'eau de mer reconstituée, il est possible que la forte teneur en Carbone Organique Total (10 à 20 mg/l) du Thalasea ait pu être la cause de problèmes particuliers ;

EXPERIMENTATIONS 1995



4 - EXPERIMENTATIONS ANNEE 1995

4.1. PREAMBULE

Cette deuxième année d'expérimentation était destinée :

- d'une part, à **confirmer les résultats obtenus en 1994**, principalement pour ce qui concerne la gestion d'un stock de géniteurs maintenu au froid ; trois séquences de maturation ont été programmées selon le protocole de 1994 ;
- d'autre part, à tenter de **comprimer le cycle de reproduction**. Pour cela, la première séquence de maturation a été réalisée par conditionnement (19°C) dès la sortie du milieu naturel, afin d'obtenir une ponte précoce ; les géniteurs ayant pondu ont été mis en repos sexuel par vernalisation à 7°C et servent ensuite de stock pour trois expériences de rematuration.

L'organisation générale des expérimentations correspondant à ce double objectif est représentée sur la figure 95.1.

Les expérimentations ont eu lieu dans les mêmes salles qu'en 1994 (Figures 1 et 2) et, d'une façon générale, dans les mêmes conditions de matériel et méthodes (cf. chapitre 2).

La zone de stockage à 7°C est dévolue à la fois au stock froid (bac S2) et, à compter de fin mai, au stock vernalisé (bac S1).

La zone de conditionnement à 19°C accueille les séquences de **maturations retardées** ainsi que les séquences de **rematuration après vernalisation**.

4.2. CONSTITUTION DU STOCK DE GENITEURS 1995

Les animaux du stock expérimental 1995 proviennent de l'écloserie expérimentale de la Station IFREMER de Palavas, produits selon la technique déjà décrite (Coatanea *et al.*, 1993) à partir de géniteurs d'origine méditerranéenne ; le support de télécaptage était constitué de lames Norlac et la nurserie avait été réalisée en mer.

Deux lots ont été rassemblés :

- le télécaptage 1992 : prégrossissement en mer en poches ostréicoles (concession des Aresquiers) d'octobre 1992 à mars 1993, puis grossissement dans l'étang de Thau jusqu'en mars 1995 ;
- la tête de lot du télécaptage 1993 : collage sur cordes dans l'étang de Thau, de janvier 1994 à mars 1995.

1995

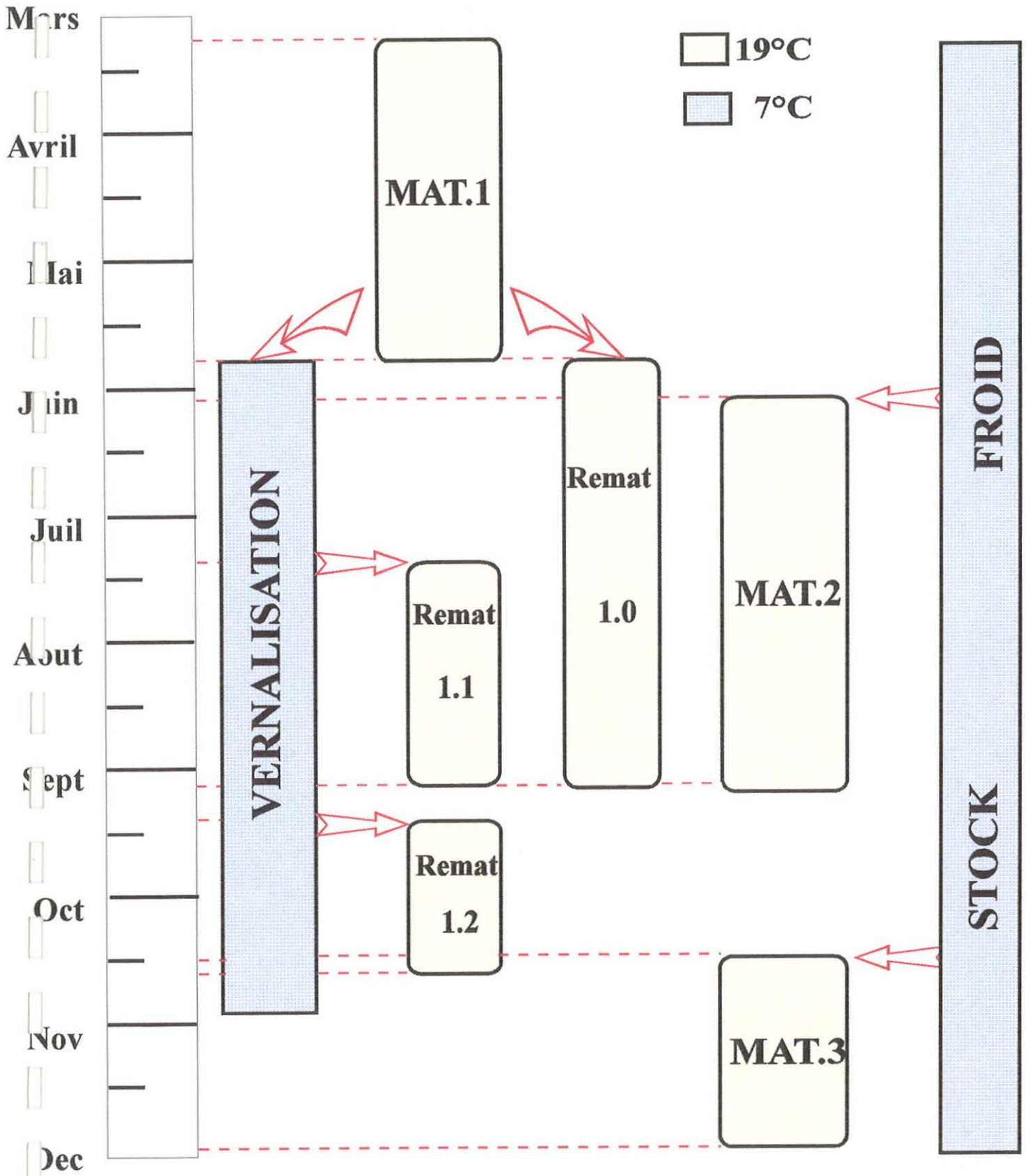


FIGURE 95.1: ORGANIGRAMME GENERAL DES EXPERIMENTATIONS 1995

Les caractéristiques de ces lots sont regroupées dans le tableau 95.1. On notera que les géniteurs sont loin d'avoir atteint la température correspondant au seuil de maturité fixé à 554 ± 44 degrés-jour (*se référer au paragraphe 2.2.1*).

Le poids moyen des géniteurs issus du télécaptage 1993 est nettement inférieur à celui des animaux 1992, de même, ils présentent un indice de condition plus bas. D'une manière générale, ces indices de condition sont très faibles (<80).

Tableau 95.1 - Biométrie, constante thermique et taux d'infestation par *Bonamia* des géniteurs 1995 dans leur milieu d'origine.

ORIGINE	Poids moyen (g)	I.C. (L-S)	Valeur de la constante thermique (degrés-jour)		<i>Bonamia</i> (%)
TC 92	94,3	83,4	Janvier	Février	10
TC 93	65,5	78	- 33,4	+ 81,8	0
Stock mélange*	100	78,5			5,2

* mélange TC92 et tête de lot TC93 (après élimination de la classe < 60 mm)

On note que seuls les animaux issus du télécaptage 1992 présentent un taux d'infestation de Bonamia.

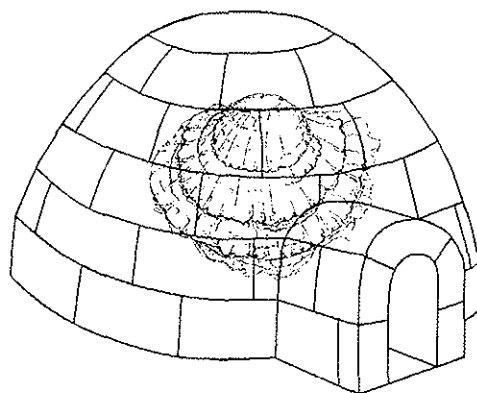
Mise en place (1er mars 1995)

Après mélange des deux origines, les géniteurs font l'objet d'un échantillonnage (biochimie, histologie) et d'un traitement à la saumure contre le *Polydora*.

430 animaux sont stockés au froid (7°C) et les 522 autres sont répartis en 4 race-ways de maturation (19°C) pour constituer la séquence 1 de maturation.

STOCKAGE AU FROID

1995



4.3. LE STOCKAGE AU FROID

4.3.1. Protocole de suivi (cf. 3.1.2.)

Comme en 1994, le protocole de suivi comporte des contrôles de routine et des échantillonnages systématiques.

Contrôle de routine :

- température, chaque jour
- pH, chaque semaine
- filtre biologique, quantification des teneurs en NH_4 , NO_2 , NO_3 dans l'eau en début de séquence
- mortalité, deux fois par semaine
- nettoyage des clayettes et du bac de stockage, 1 fois par semaine, siphonnage tous les deux jours
- changement d'eau, au vu de la salissure (environ toutes les 3 semaines)
- *Bonamia*, contrôle systématique des morts lorsque l'état des tissus le permet.

Par rapport à 1994, un effort de nettoyage supplémentaire a été prévu sur les filtres biologiques : tous les deux mois, le support Biogrog de chaque filtre biologique est sorti de son conteneur et rincé à l'eau douce.

Echantillonnages

Les analyses sont réalisées selon le même protocole qu'en 1994 et les prélèvements effectués selon le calendrier suivant :

- 05.03 : échantillon initial
correspond aussi au début de la séquence Maturation 1
- 02.06 : correspond aussi au début de la séquence Maturation 2
- 05.10 : correspond aussi au début de la séquence Maturation 3
- 11.12 : échantillon final.

4.3.2. Alimentation algale des géniteurs stockés au froid

Les géniteurs sont alimentés à partir des mêmes espèces de micro-phytoplancton qu'en 1994 : *Isochrysis aff. galbana* souche T. Iso et *Chaetoceros calcitrans*.

Au vu du faible indice de condition initial des géniteurs du stock froid 1995, il est décidé de fixer la ration alimentaire journalière minimum à $0,40 \cdot 10^9$ cellules algales par huître.

Pendant cette période, de nombreux problèmes ont affecté la production de microalgues, d'une part en terme de quantité produite (faibles densités), et d'autre part en terme de qualité (éclatement des cellules algales par lyse de la membrane plasmique). Ces problèmes ont conduit à modifier en cours d'expérimentation le protocole de production de la salle d'algue, qui avait été utilisé en 1994. L'eau de mer artificielle (Thalasea), utilisée jusqu'en juillet 1995, a été remplacée par de l'eau de mer reconstituée, selon le protocole décrit par Jonquières (1980). Cependant, ni cette modification, ni le renouvellement de souches par de nouvelles souches provenant de IFREMER/Argenton et IFREMER/La Tremblade n'ont permis de résoudre les problèmes rencontrés.

La ration journalière est distribuée en deux fois.

Tableau 95.2 - Alimentation algale des géniteurs 1995 stockés au froid du 5 mars au 11 décembre.

MOIS	Concentration moyenne <i>T. Iso Chaeto</i> (10 ⁶ cel/ml)		Effectif *	Ration journalière moyenne 10 ⁷ cel/géniteur/jour
Mars	11,5	5,9	432	0,40
Avril	11	8,9	425	0,49
Mai	8,6	5,1	423	0,46
Juin	10,6	8,8	346	0,70
Juillet	9,1	7,4	270	0,54
Août	6,9	6,1	266	0,49
Septembre	9,4	6,2	262	0,60
Octobre	14,8	9,7	182	0,63
Novembre	10,1	7,4	152	0,46
Décembre	12,3	11,4	152	0,61

*Effectif moyen mensuel calculé en tenant compte de la mortalité et des prélèvements pour échantillons et maturations.

4.3.3. Résultats d'évolution du stock froid

- Paramètres physico-chimiques (Tableau 95.3)

Ces paramètres sont restés stables sur l'ensemble de la période de stockage au froid. Il faut toutefois noter que la température, difficile à maîtriser durant la période chaude, a été supérieure à 9°C durant une trentaine de jours consécutifs (du 8 juillet au 9 août), avec une moyenne de 10,1°C et un maximum à 10,8°C.

Tableau 95.3 - Suivi des paramètres physico-chimiques du bac des géniteurs 1995 pendant le stockage au froid (moyennes).

Température °C	Salinité mg/l	pH	N-NH ₄ mg/l	N-NO ₂ mg/l	N-NO ₃ mg/l
7,5	37	7,8	2,44	0,44	1,79

- Biométrie et état sanitaire (Tableau 95.4)

L'indice de condition initial, peu élevé, est de 79 ; il décroît régulièrement pour terminer à une valeur très faible (49).

Tableau 95.4 - Evolution des paramètres biométriques et du taux d'infestation par *Bonamia* des géniteurs 1995 stockés au froid.

Prélèvement	Poids moyen (g)	I.C. (L-S)	<i>Bonamia</i> (%)
Mars	100	79	5
Juin	84	76	0
Octobre	85	55	14
Décembre	90	49	0

Le taux d'infestation par *Bonamia*, lors des examens systématiques, est nul sauf pour le prélèvement d'octobre où 14 % des animaux sont porteurs du parasite.

- Survie

En final, la survie est de 96 %. Aucun incident n'est noté durant le stockage au froid et la mortalité est constatée sous la forme d'un "bruit de fond".

- Stades de maturation (Figures 95.2 et 95.3)

Rappel : chaque observation précède un début de séquence de maturation.

L'observation macroscopique (Figure 95.2) fait apparaître, durant le stockage au froid, une faible proportion des stades 0 qui ont disparu lors du point final, ainsi qu'une diminution constante des stades 1. Les stades 2 sont toujours dominants (entre 50 et 72 %), sauf en final où ils sont largement dépassés par les stades 3 (60 %). Le dernier échantillonnage fait également apparaître 7 % de stades 4 sans doute provoqués par le stress de l'ouverture sur des animaux au dernier stade de maturité.

L'observation histologique (Figure. 95.3) montre que lors de l'échantillonnage initial seulement 5 % des animaux n'ont pas commencé leur maturation que l'on peut rapprocher des 8,5 % de stade 0 en macroscopie. De même, l'observation histologique permet de noter 10 % de stades Femelles matures (F3), comparables aux 8,5 % de stades 3 macroscopiques.

Les prélèvements suivants font apparaître une évolution vers les stades 2 et 3 répartis quasiment équitablement (42 et 48 %) en juin, tandis qu'en octobre le stade Hermaphrodite domine (53 %). Il n'y a pas eu d'examen histologique en décembre.

- Biochimie (Figure 95.4)

(Résultats exprimés en pourcentages moyens de poids sec de chair).

Durant toute la durée du stockage, le taux de **lipides** est resté stable autour de 7 %. Les **glucides totaux** élevés au départ (21,4 %) ont diminué fortement lors du prélèvement de juin (15,2 %) et restent ensuite stables autour de 12 %. La teneur en glycogène, de 19,4 % lors de la mise à l'eau, a chuté de moitié en juin et se situe autour de 8 % jusqu'en décembre.

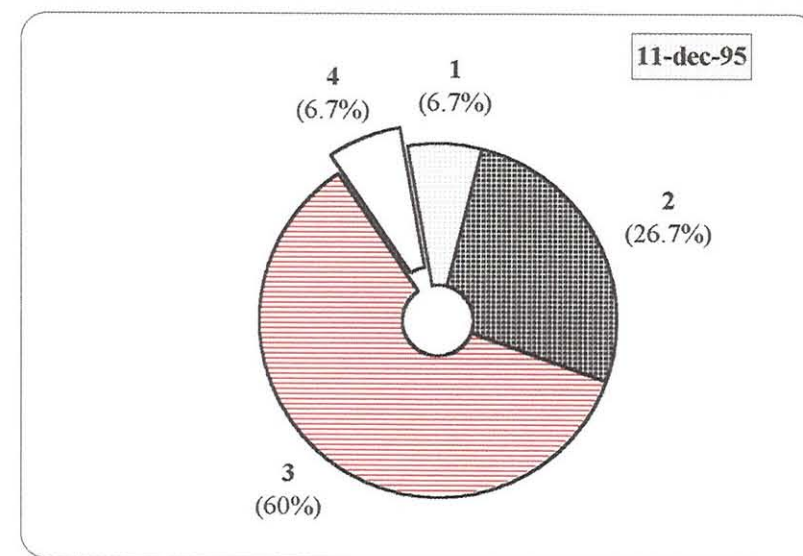
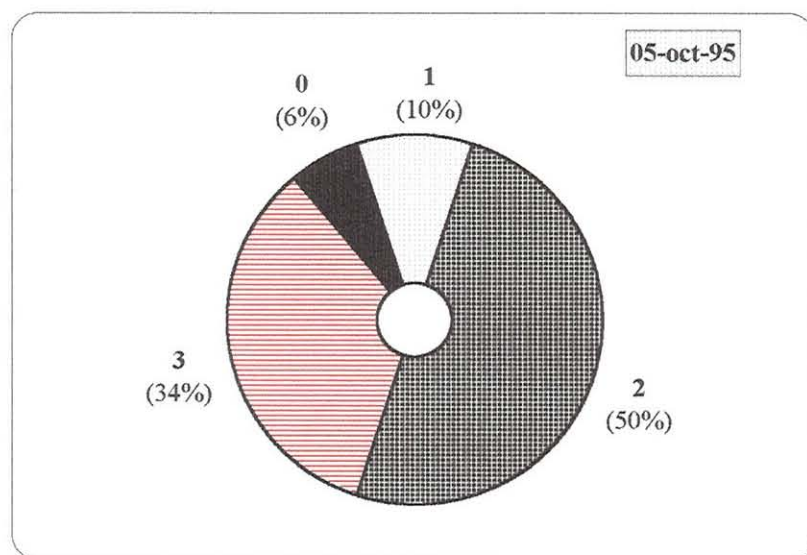
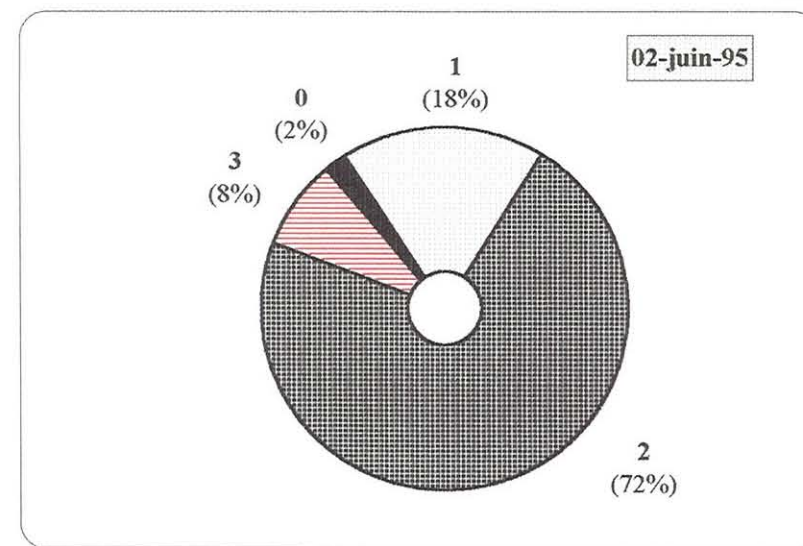
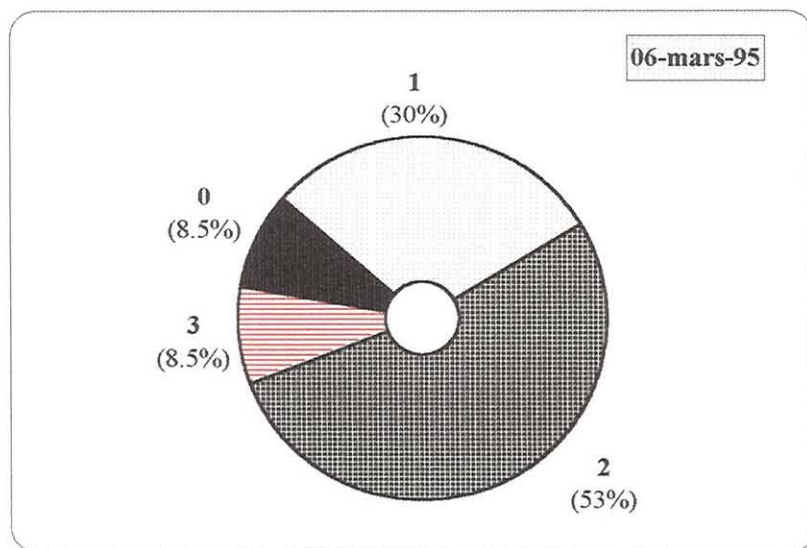
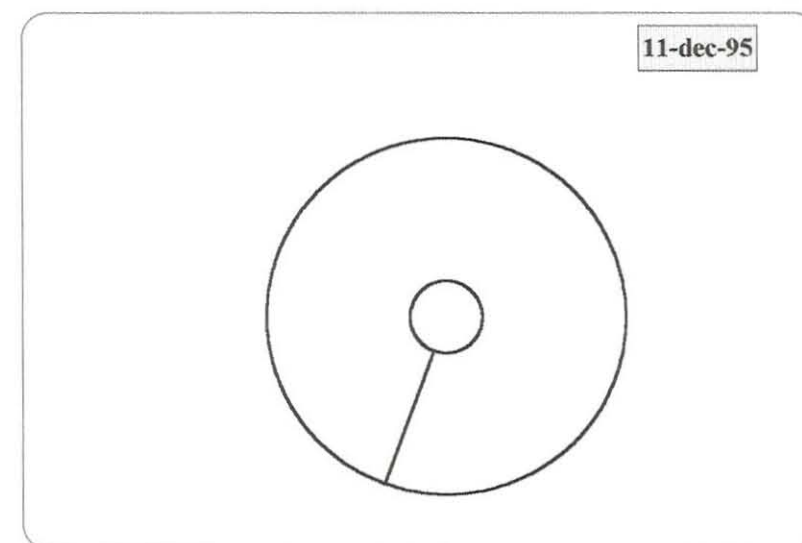
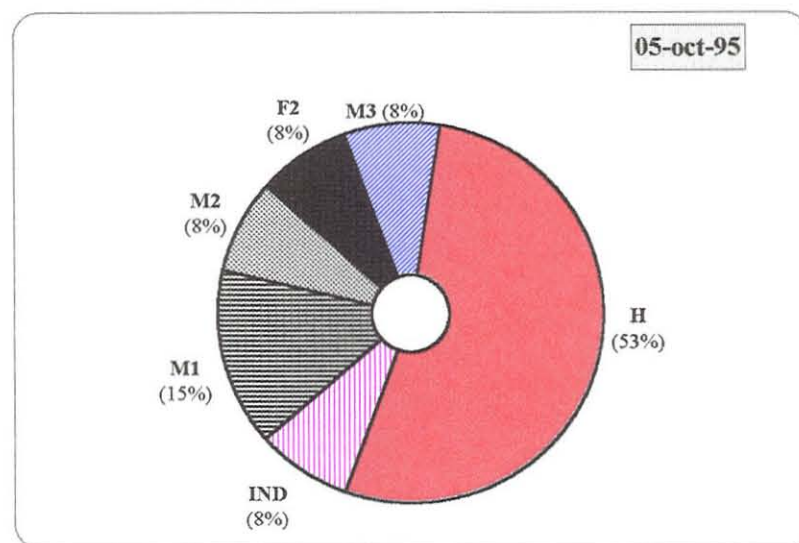
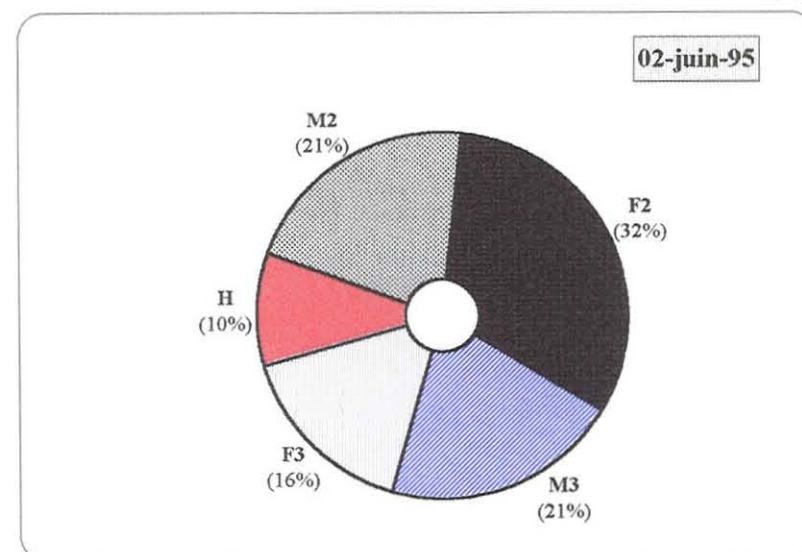
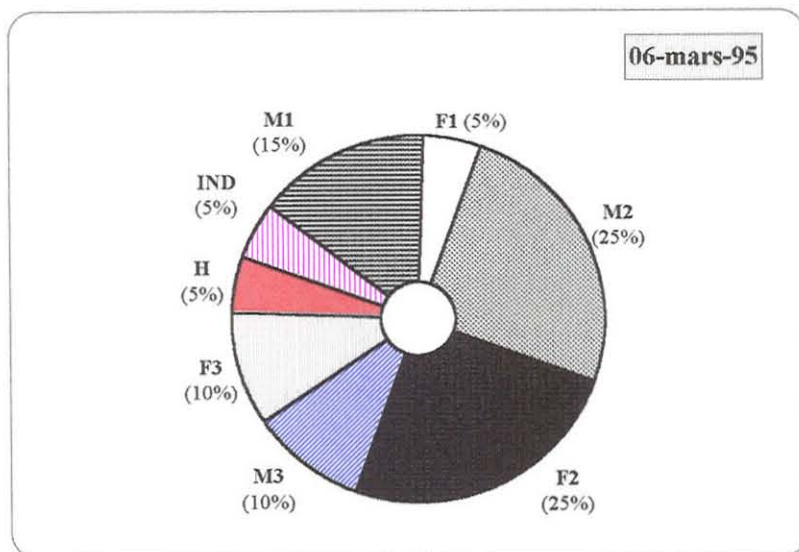


FIGURE 95.2 - Evolution des stades de maturation des géniteurs *Ostrea edulis* stockés au froid (*observations macroscopiques*)



Pas d'histologie

FIGURE 95.3 - Evolution des stades de maturation des géniteurs *Ostrea Edulis* stockés au froid (*observations histologiques*)
 (IND: indéterminé, M: mâle, F: femelle, H: hermaphrodite.)

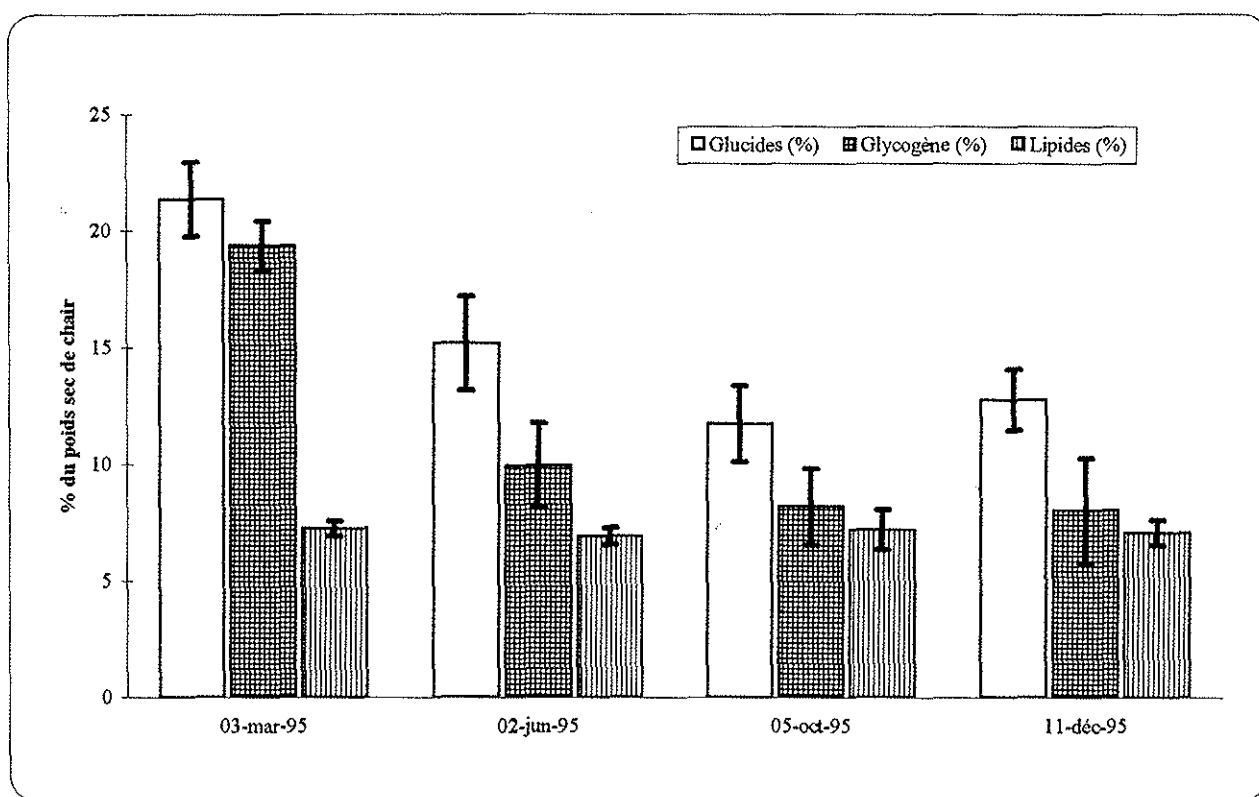
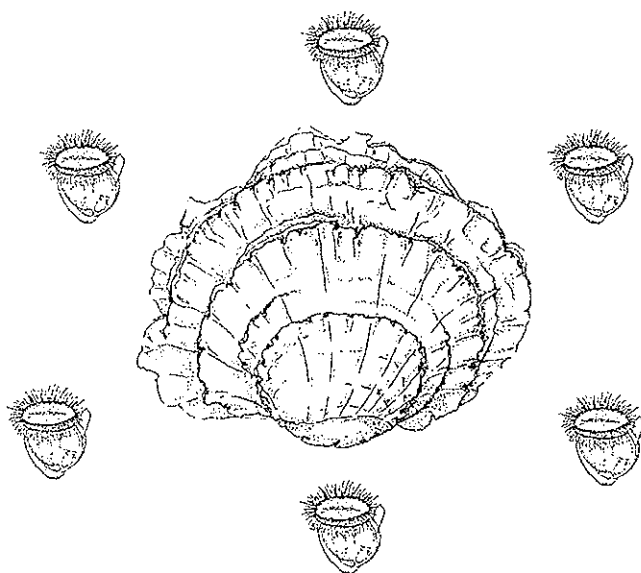


FIGURE 95.4: Teneurs biochimiques des géniteurs stockés au froid
(moyennes et intervalles de confiance à 95%)

LES MATURATIONS CONTROLÉES

1995



4.4. LES MATURATIONS CONTROLÉES (Maturations-retard 1995)

Se reporter à la figure 95.1 pour l'organisation de ces expérimentations.

Trois séquences de maturation contrôlée retardée ont été réalisées sur la période mars-décembre 1995 :

- séquence 1 : 14 mars - 17 mai
- séquence 2 : 7 juin - 1er septembre
- séquence 3 : 16 octobre - 3 décembre

Remarque : seules les deuxième et troisième séquences constituent réellement des maturations-retard, la première ayant été conditionnée dès la sortie du milieu naturel.

4.4.1. Constitution des lots

- Séquence 1

Cette séquence est réalisée sans stockage au froid préalable, à partir des géniteurs d'origine Etang de Thau, après une semaine de transition thermique. 522 animaux d'un poids moyen individuel de 100 g sont répartis en 4 race-ways contenant 138 individus chacun.

A la fin de cette séquence 1, les géniteurs servent de base aux manipulations de rematuration (cf. paragraphe 4.6.) et sont, pour cela, répartis en :

- un lot **témoin de 100 individus**, maintenu à 19°C, aussi appelé Rematuration 1.0, et
- un stock vernalisé à 7°C d'un effectif de 370 animaux.

- Séquences 2 et 3

Pour chacune des 2 séquences, une centaine de géniteurs, d'un poids moyen respectif de 84 g (séquence 1) et 91 g (séquence 2), est prélevée sur le stock froid dans les mêmes conditions qu'en 1994.

4.4.2. Protocole de suivi

Les mêmes paramètres sont suivis, et de manière identique, que lors des expérimentations de maturations-retard 1994 (cf. paragraphe 3.2.2.).

4.4.3. Résultats des trois séquences de maturation-retard 1995

L'essentiel des résultats concernant ces trois séquences de maturation contrôlée est présenté dans les tableaux 95.5, 95.6, 95.7 et 95.8, et dans les figures 95.5, 95.6 et 95.7.

Tableau 95.5 - Suivi des caractéristiques physico-chimiques des bacs de géniteurs pendant les trois séquences de maturation-retard 1995.

Séquence	Bac	Température moyenne (°C)	pH moyen
1	G1	19,1	7,6
	G2	18,9	7,61
	G3	18,7	7,6
	G4	18,8	7,6
2	G2	18,5	7,8
3	G3	18,5	7,93 *

Tableau 95.6 - Alimentation algale des géniteurs pendant les trois séquences de maturation-retard 1995.

Séquence	<i>T. Iso</i> 10 ⁶ cel/ml	<i>Chaeto</i> 10 ⁶ cel/ml	Ration moyenne journalière 10 ⁶ cel/j/géniteur
1	10,6	8,2	0,75
2	8,6	7,5	1,04
3	12,1	8,4	1,09

Biométrie, survie et taux d'infestation par *Bonamia* (Tableau 95.7)

Le poids moyen individuel des géniteurs de la seconde séquence (84 g) est sensiblement inférieur à celui des 2 autres (100 et 91 g). C'est également cette séquence qui a la survie la plus faible (76 %). Pour les 3 séquences de maturation-retard, on assiste à une forte diminution de l'indice de condition entre le point initial et le point final de chaque séquence.

Le taux d'infestation par *Bonamia* progresse tout au long des expérimentations pour atteindre 40 % lors de la dernière séquence.

Tableau 95.7 - Caractéristiques biométriques, survie et taux d'infestation par *Bonamia* des géniteurs pendant les trois séquences de maturation-retard 1995.

Séquence	Poids moyen initial (g)	Survie (%)	L.C. (L.S)		<i>Bonamia</i> (%)
			Initial	Final	
1	100	93	79	50	5
2	84	76	76	34	15
3	91	96	55	33	40

Emissions larvaires des trois séquences de maturation-retard 1995 (Tableau 95.8)

On remarque que le rendement des géniteurs en terme de nombre de larves émises est très faible, le maximum fourni par les géniteurs de la séquence 2 n'étant que de $0,31 \cdot 10^6$ larves par animal. De même, la taille moyenne (autour de $163 \mu\text{m}$) des larves est inférieure aux valeurs obtenues lors des expérimentations 1994, excepté pour la séquence 3 : $181 \mu\text{m}$.

Les teneurs des larves en lipides sont très basses durant la séquence 1 (2,29 %), les valeurs mises en évidence lors des deux séquences suivantes étant proches de celles obtenues en 1994.

Tableau 95.8 - Caractéristiques des émissions larvaires des trois séquences de maturation-retard 1995.

Séquence	Bac	Temps de réponse (j)	Nbre larves par géniteur (10^6)	Taille moyenne (μm)	Lipides % poids sec total
1	G1	J27	0,17	164	2,29
	G2	J25	0,15	163	
	G3	J24	0,03	162	
	G4	J23	0,09	163	
2	G2	J20	0,31	164	5,61
3	G3	J15	0,05	181	4,02

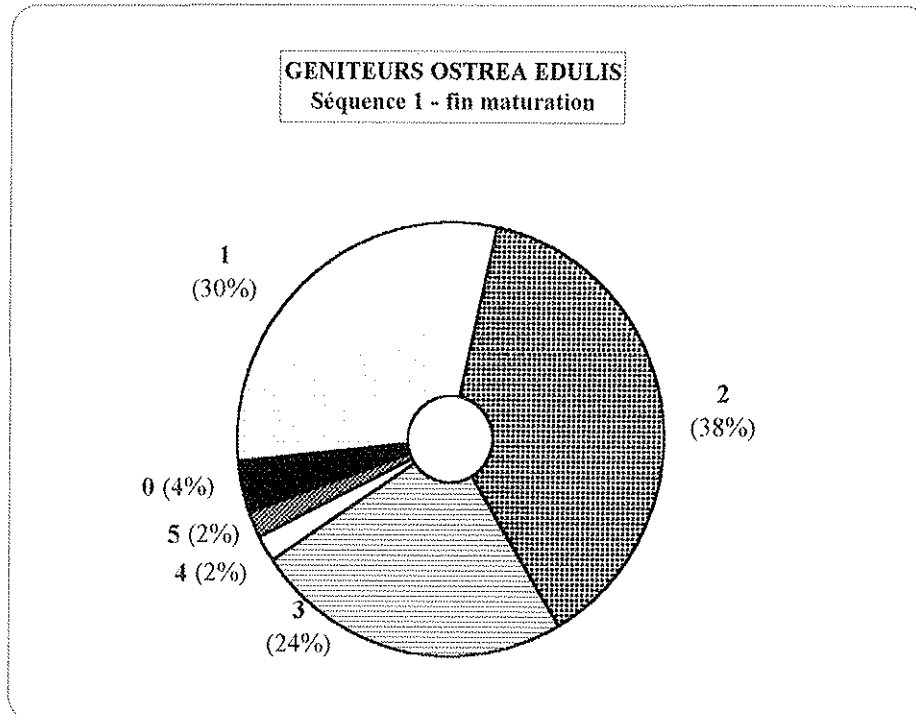
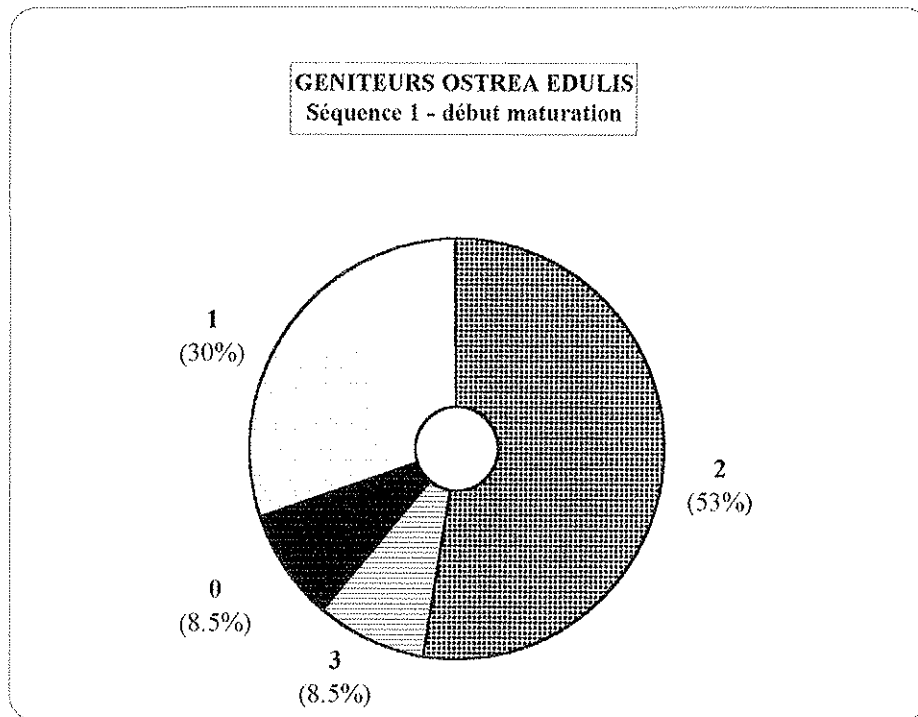
Evolution de l'état des gonades durant les trois séquences de maturation-retard 1995

Ces observations, réalisées uniquement par macroscopie, sont représentées sur les figures 95.5, 95.6 et 95.7.

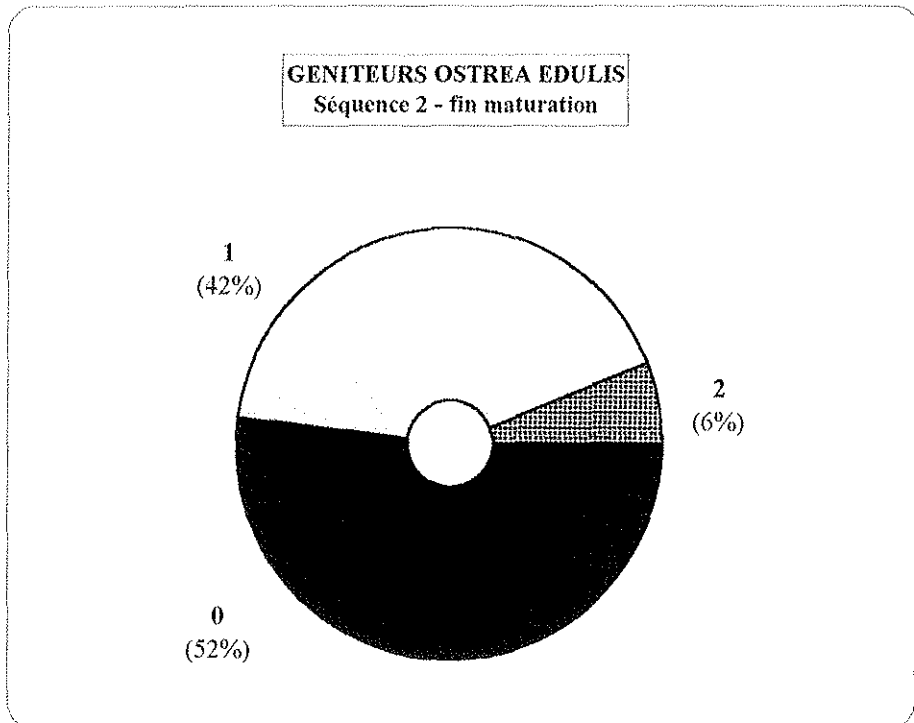
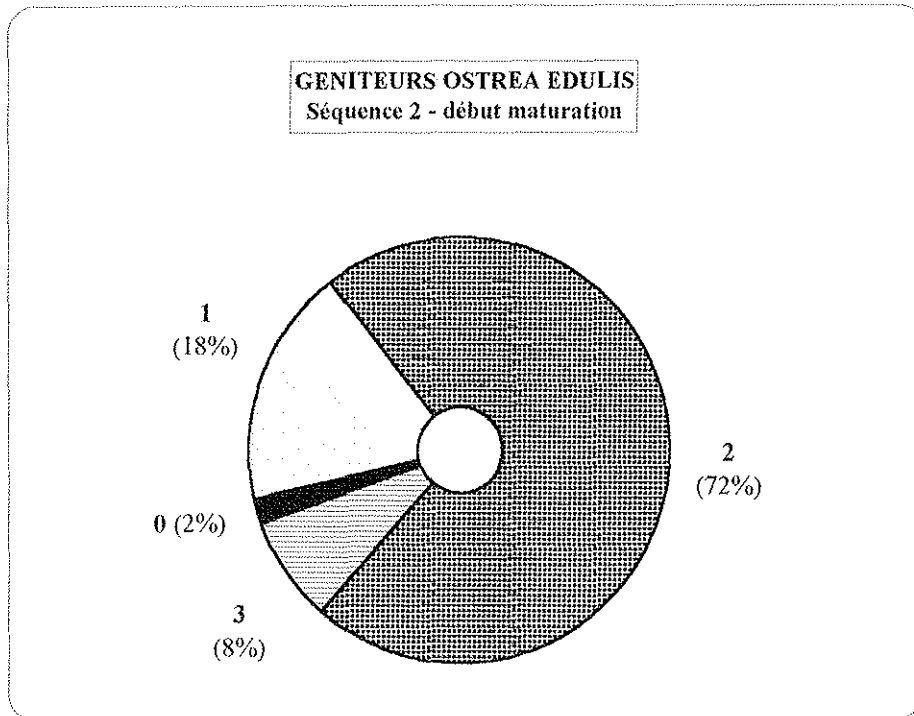
L'observation macroscopique initiale de la séquence 1, qui correspond en fait à une maturation printanière normale, montre que 97,5 % des géniteurs ont commencé leur maturation, dont 8,5 % sont déjà au stade 3. En final, on trouve 24 % de stades 3 et la présence de stades 4 (2 %) et 5 (2 %) montre que l'effort de ponte n'est pas terminé.

Au début de la **séquence 2**, on note une faible proportion de stades 3 (8 %) et une majorité de stades 2 (72 %). En final, le stade 3 a disparu et la majorité des géniteurs a regressé au stade 0 (52 %) ou 1 (42 %).

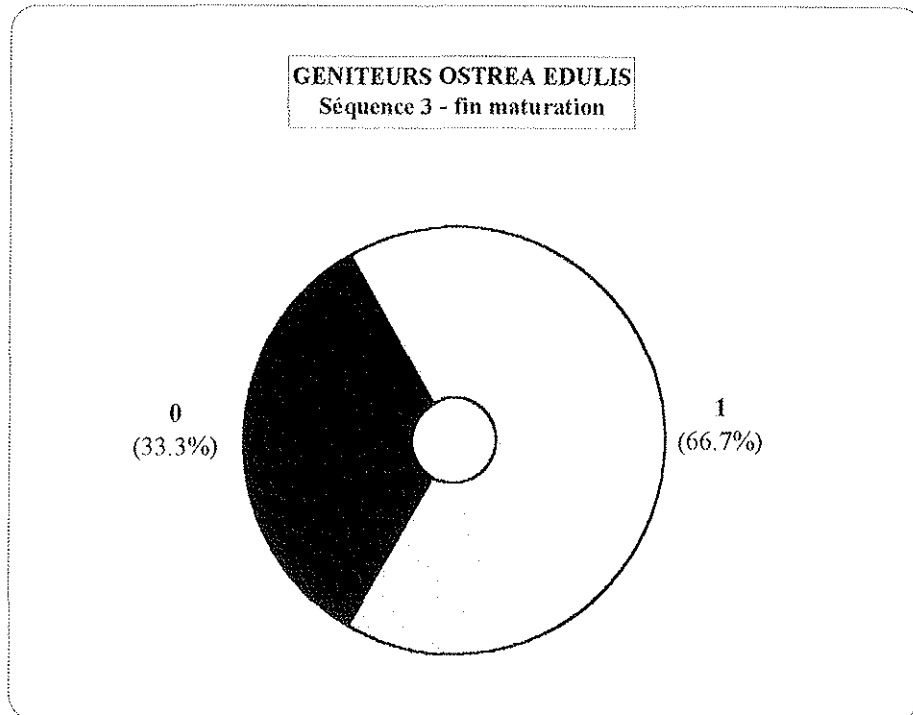
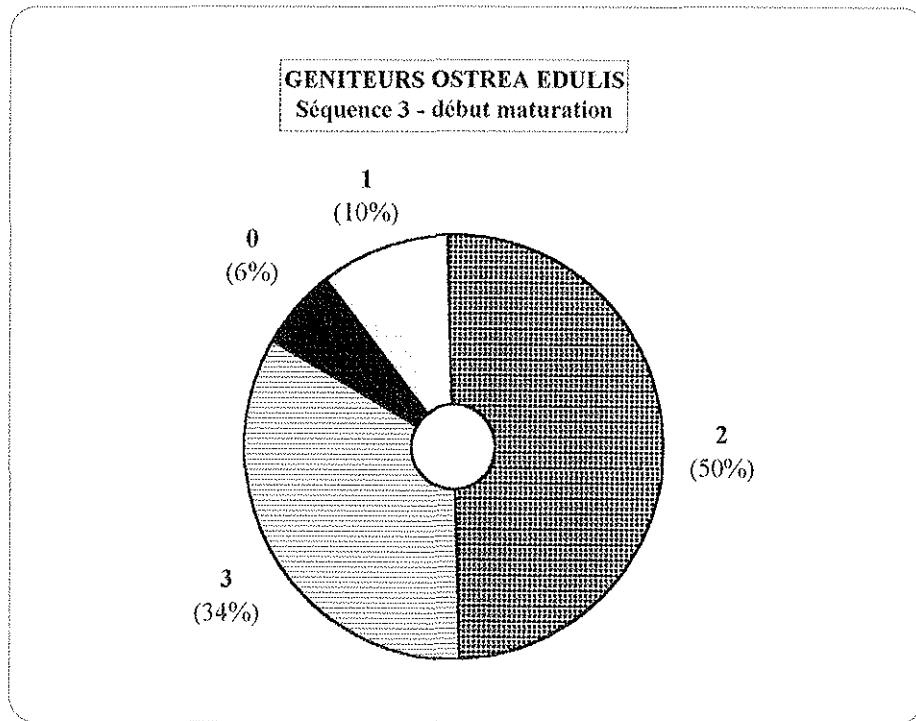
Le début de la **séquence 3** est caractérisé par la disponibilité de 34 % de stades 3. En final, les géniteurs de cette séquence sont tous en régression (stades 1 et 0).



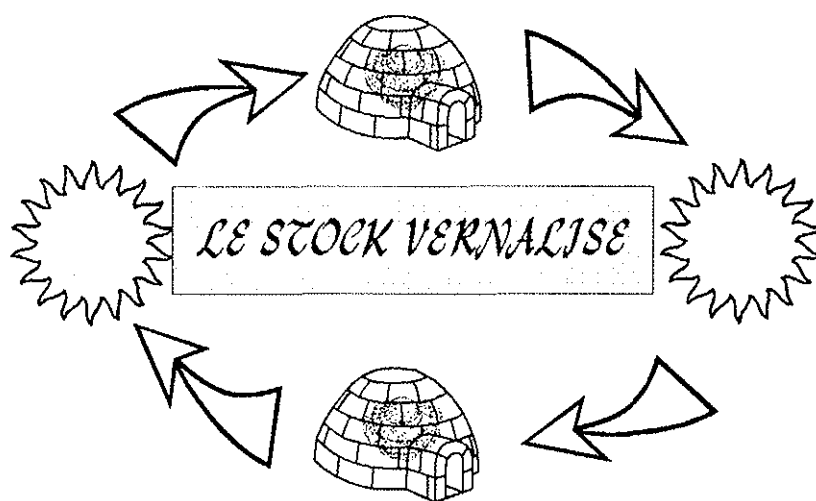
**FIGURE 95.5 - Evolution des stades de maturation des géniteurs *Ostrea edulis*.
Maturation-retard. Séquence 1 (*observations macroscopiques*)**



**FIGURE 95.6 - Evolution des stades de maturation des géniteurs *Ostrea edulis*.
Maturation-retard. Séquence 2 (observations macroscopiques)**



**FIGURE 95.7 - Evolution des stades de maturation des géniteurs *Ostrea edulis*.
Maturation-retard. Séquence 3 (*observations macroscopiques*)**



4.5. LE STOCK VERNALISE

4.5.1. Constitution

370 géniteurs issus de la séquence 1 de maturation contrôlée sont progressivement refroidis pour constituer un stock vernalisé (7°C).

4.5.2. Protocole de suivi

Se reporter au protocole de suivi du stock froid 1995 (chapitre 4.3.2.). Il faut noter que la température, difficile à maîtriser durant la période chaude, a été supérieure à 9°C durant une vingtaine de jours consécutifs (du 20 juillet au 8 août), avec une moyenne de 10,11°C et un maximum de 12,4°C.

4.5.3. Résultats du stock vernalisé

Les résultats sont présentés dans les tableaux 95.9 et 95.10, ainsi que sur les figures 95.8, 95.9 et 95.10. On remarque que l'**indice de condition** de 50 en début de vernalisation continue de décroître pour atteindre 38 en fin d'expérimentation ; ces valeurs confirment les observations visuelles journalières : animaux en mauvais état, très maigres, "baillant" fréquemment et se refermant mal.

Tableau 95.9 - Biométrie, survie, taux d'infestation par *Bonamia* des géniteurs 1995 vernalisés après maturation.

Prélèvement	Poids moyen (g)	I.C. (L-S)	Survie (% cumulé)	<i>Bonamia</i> (%)
Initial (mai)	85	50		5
Juillet	85	58		0
Octobre (final)	104	37	92	14

L'alimentation algale (Tableau 95.10) distribuée est conforme à la ration déterminée initialement ($>0,40 \cdot 10^9$ cellules algales/géniteur) ; cependant, comme pour les géniteurs 1995 stockés au froid, une fraction variable des algues n'était pas consommée et, salissant le bac, obligeait à de fréquents nettoyages (cf. 4.3.2. Alimentation algale).

Tableau 95.10 - Alimentation algale des géniteurs 1995 vernalisés après maturation.

MOIS	Concentration moyenne		Effectif *	Ration journalière moyenne 10 ⁷ cel/géniteur/jour
	<i>T. Iso</i>	<i>Chaeto</i>		
Mai	8,6	5,1	370	0,49
Juin	10,6	8,8	369	0,52
Juillet	9,1	7,4	300	0,56
Août	6,9	6,1	231	0,46
Septembre	9,4	6,2	177	0,71
Octobre	14,8	9,7	121	0,66

*Effectif calculé en tenant compte de la mortalité et des prélèvements pour échantillons et maturations.

Stades de maturation (Figures 95.8 et 95.9)

Remarque : l'observation initiale est réalisée en fin de séquence 1 de maturation, c'est à dire sur des animaux qui sont encore en phase de ponte.

- L'observation macroscopique au moment de la mise en vernalisation confirme que les géniteurs n'ont pas terminé leur effort de ponte (présence de stades 4 et 5). Deux mois plus tard, il semble que le froid ait provoqué une régression de l'état des gonades, avec 73 % de stades 0.
- L'observation histologique initiale montre naturellement une forte activité sexuelle avec seulement 6 % d'animaux en phase indéterminée et 41 % en maturation avancée (H/M3/F3). Mais lors des observations suivantes, ce pourcentage reste à 40 % et progresse encore en final jusqu'à 50 %. L'information enregistrée sur ces deux derniers points est en décalage avec celle obtenue en macroscopie, peut être du fait de la sous-estimation induite par cette dernière méthode.

Biochimie (Figure 95.10)

Les valeurs restent stables durant les deux premiers mois, excepté pour le glycogène qui diminue en juillet. Le prélèvement final montre une chute accusée des glucides totaux et du glycogène et une relative stabilité des lipides. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus lors du suivi des géniteurs du stock froid 1994.

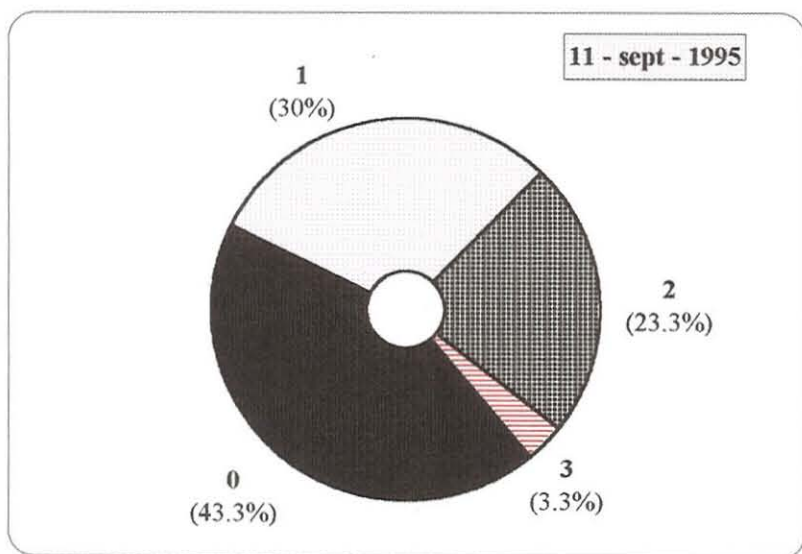
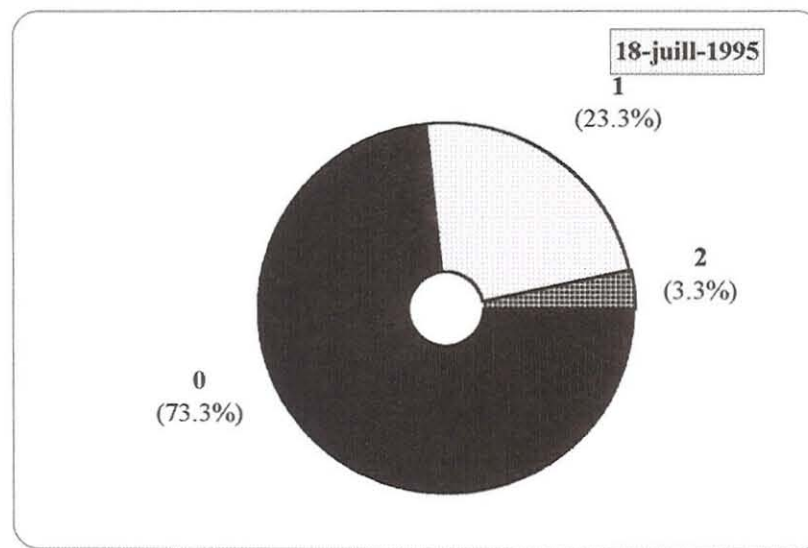
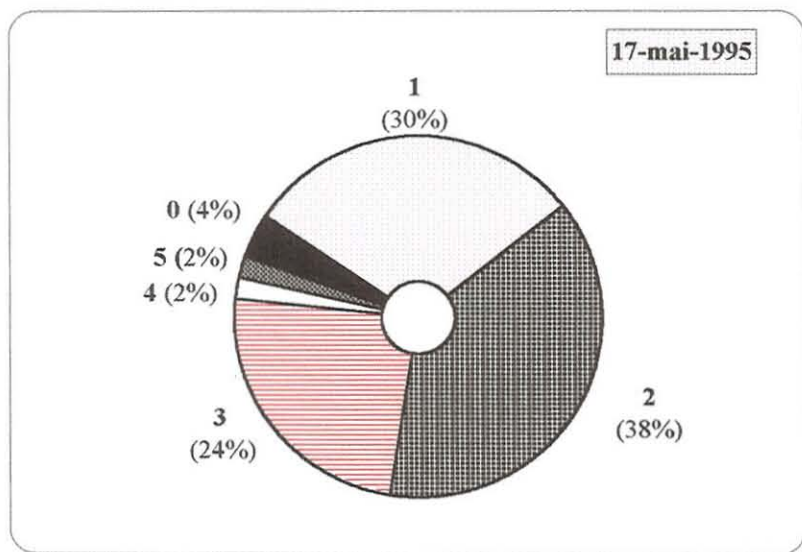


FIGURE 95.8 - Evolution des stades de maturation des géniteurs *Ostrea edulis* vernalisés (*observations macroscopiques*).

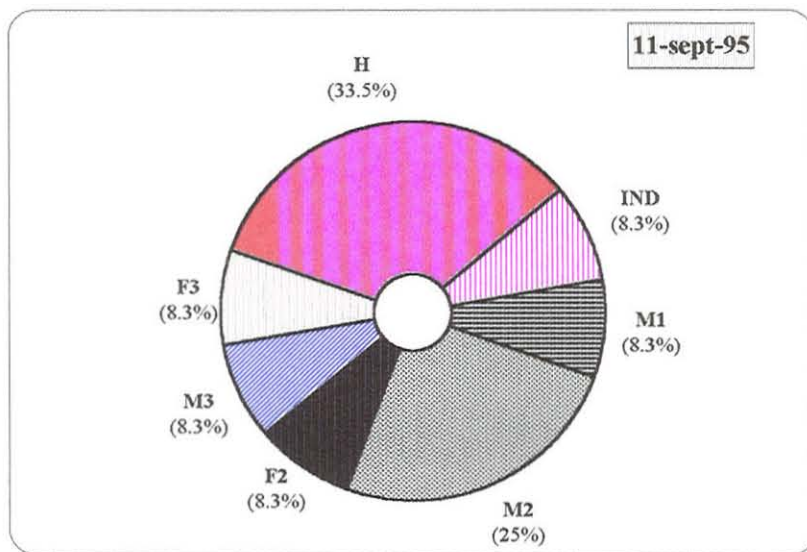
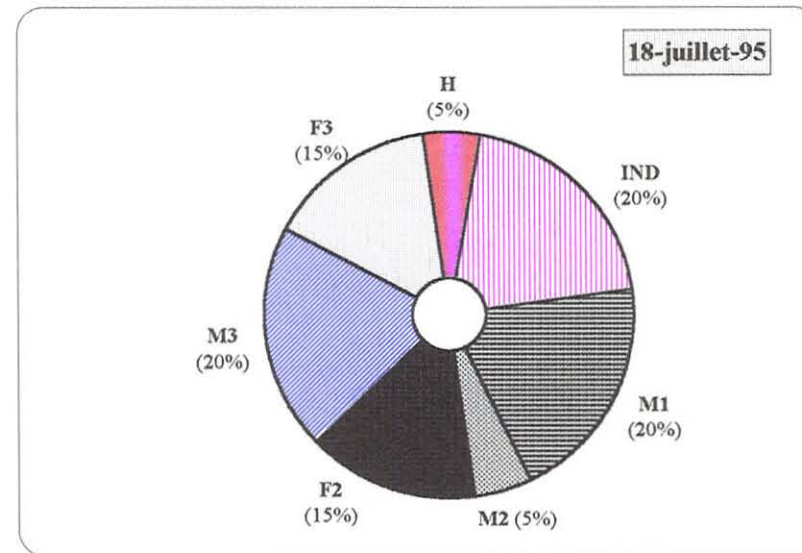
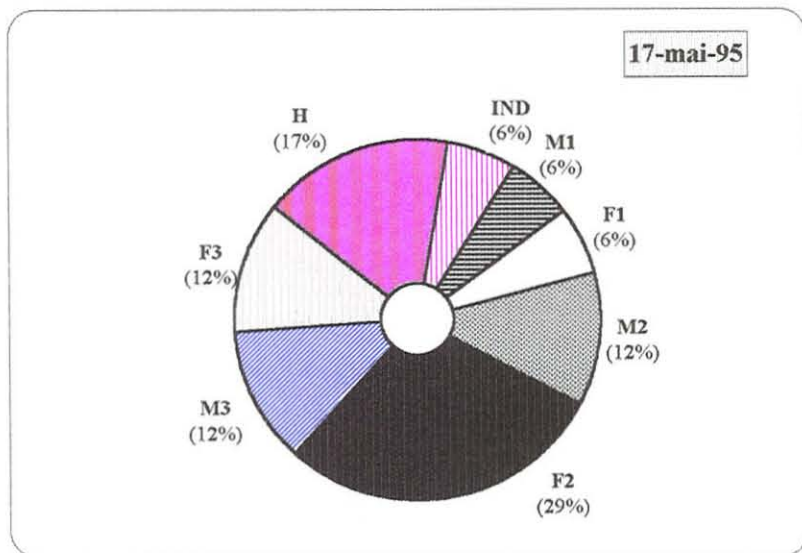


FIGURE 95.9- Evolution des stades de maturation des géniteurs *Ostrea edulis* vernalisés (*observations histologiques*)

(IND: indéterminé, M: mâle, F: femelle, H: hermaphrodite.)

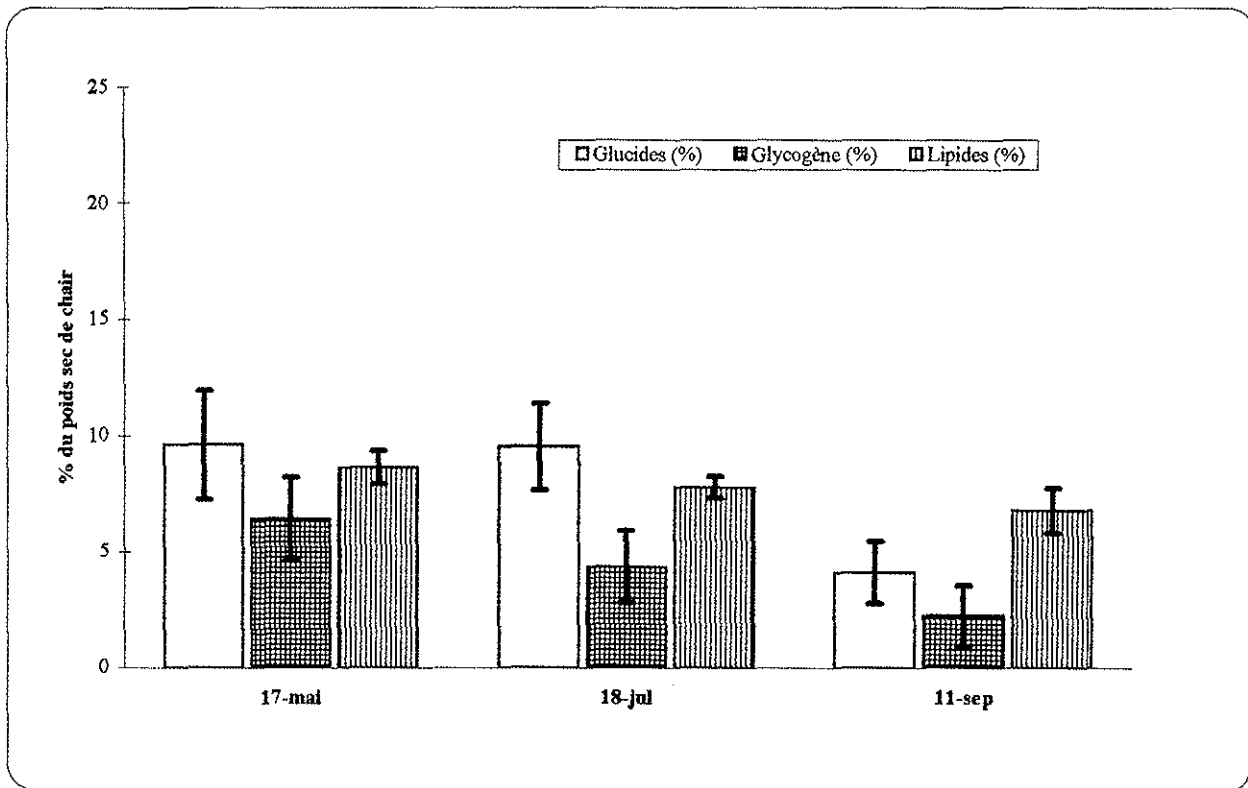
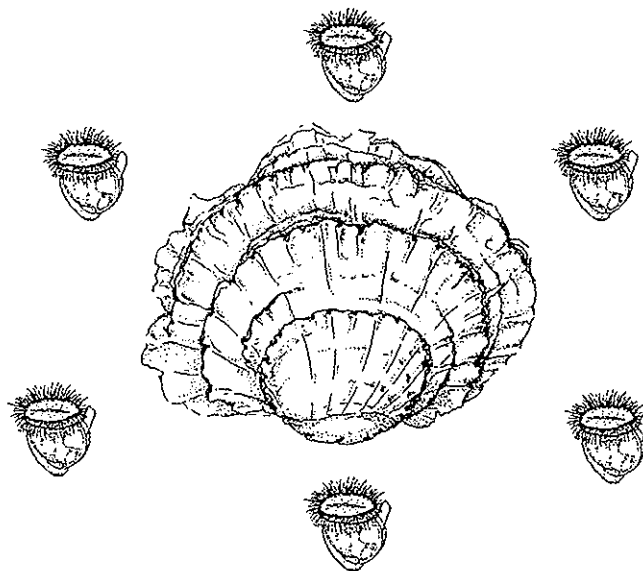


FIGURE 95.10: Teneurs biochimiques des géniteurs vernalisés

(moyennes et intervalles de confiance à 95%)

LES REMATURATIONS



4.6. LES REMATURATIONS APRES VERNALISATION

Trois séquences de rematuration ont eu lieu, de mai à octobre 1995, selon le calendrier suivant :

- séquence 1.0 : 18 mai au 7 septembre (témoin)
- séquence 1.1 : 13 juillet au 7 septembre
- séquence 1.2 : 12 septembre au 16 octobre

4.6.1. Constitution des lots

• Lot de la séquence de rematuration 1.0

Ce lot est constitué de 100 géniteurs issus de la séquence 1 de maturation sans vernalisation, afin de servir de **témoin** pour les expérimentations de rematuration.

• Lot de rematuration 1.1

70 géniteurs sont prélevés sur le stock vernalisé à 7°C, après deux mois de stabulation à cette température.

• Lot de rematuration 1.2

70 géniteurs sont prélevés sur le stock vernalisé, après quatre mois de stabulation à 7°C.

4.6.2. Protocole (pour mémoire)

Le reconditionnement à la température de ponte est effectué progressivement de 7 à 9°C en une semaine environ. Le reste du protocole est identique à celui des maturations-retard 1995.

4.6.3. Résultats des trois séquences de rematuration

Les principaux résultats des trois séquences de rematuration sont présentés dans les tableaux 95.11 (physicochimie), 95.12 (alimentation), 95.13 (biométrie, survie, *Bonamia*) et les figures 95.13, 95.14ab, 95.15 (gamétogenèse, observations macroscopiques et histologiques).

Tableau 95.11 - Suivi des paramètres physico-chimiques des bacs de géniteurs des trois séquences de rematuration 1995.

Séquence	Température (°C)	pH	N-NH ₄ mg/l	N-NO ₂ mg/l	N-NO ₃ mg/l
1.0	18,7	7,90	/	/	/
1.1	18,9	8,03	/	/	/
1.2	19,0	8,07	0,20	0,51	2,41

Tableau 95.12 - Alimentation algale des géniteurs pendant les trois séquences de rematuration 1995 (moyennes journalières).

Séquence	<i>T. Iso</i> 10 ⁶ cel/ml	<i>C. calcitrans</i> 10 ⁶ cel/ml	Ration totale 10 ⁷ cel/j/géniteur
1.0	9,1	6,6	1,11
1.1	8,5	7,2	1,05
1.2	10,4	5,1	1,49

Tableau 95.13 - Biométrie, survie, taux d'infestation par *Bonamia* des géniteurs des trois séquences de rematuration 1995.

Séquence	Poids moyen initial (g)	Survie (%)	I.C. (L-S)		<i>Bonamia</i> (%)
			Initial	Final	
1.0	100	30	50	25	47
1.1	85	29	58	29	75
1.2	104	62	37	30	14

Les survies sont faibles, particulièrement pour les deux premières séquences de rematuration. De même, les indices de condition sont très bas ; la troisième séquence, dont les animaux ont subi la période de vernalisation la plus longue (quatre mois), présente la moins forte diminution de cet indice (de 37 à 30).

Le taux d'infestation par *Bonamia* est plus élevé en fin de séquence 2, qui a été reconditionnée après seulement 2 mois de repos au froid.

Tableau 95.14 - Caractéristiques des émissions larvaires 1995 des trois séquences de rematuration.

Séquence	Nbre larves par bac (10 ⁶)	Temps de réponse (j)	Nbre larves par géniteur (10 ⁶)	Taille moyenne (µm)	Lipides % poids sec total
1.0	13,40	J5	0,21	165	3,34
1.1	2,10	J16	0,03	168	3,88
1.2	/	/	/	/	/

Le rendement en termes d'émissions larvaires est particulièrement bas, voire nul pour la dernière séquence ; la valeur de 13,4.10⁶ larves/bac pour la séquence 1.0 confirme que les géniteurs de la Maturation 1 n'avaient pas terminé de pondre. Les teneurs en lipides sont faibles.

Stades de maturation (Figures 95.11, 95.12 et 95.13)

Remarque : pas d'examen histologique en fin de séquence, donc pas de comparaison possible à partir de cette technique.

- Observations macroscopiques

. Séquence 1.0

La figure 95.11 met en évidence une évolution très nette au cours des 4 mois de cette séquence : de 4 %, les stades 0 passent à 87 % et confirment que les géniteurs ont bien terminé de pondre.

. Séquence 1.1

La figure 95.12 ne montre pas d'évolution notable entre le point initial et le point final. Les géniteurs sont restés majoritairement immatures (73 et 67 % de stades 0) durant les 2 mois de conditionnement.

. Séquence 1.2

La figure 95.13 montre que 3,3 % des géniteurs présentent des signes de maturité avancée (stade 3) en début de conditionnement et 4 % sont en stade 0. En final, la majorité (90 %) se situe en stade 0, sans qu'il y ait eu d'émissions larvaires durant cette séquence.

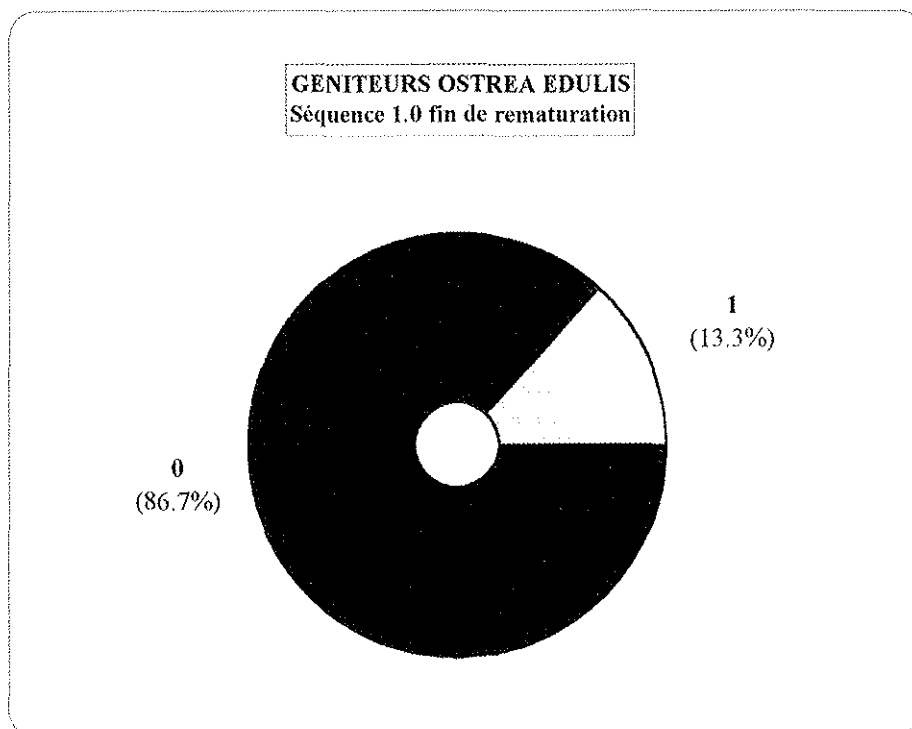
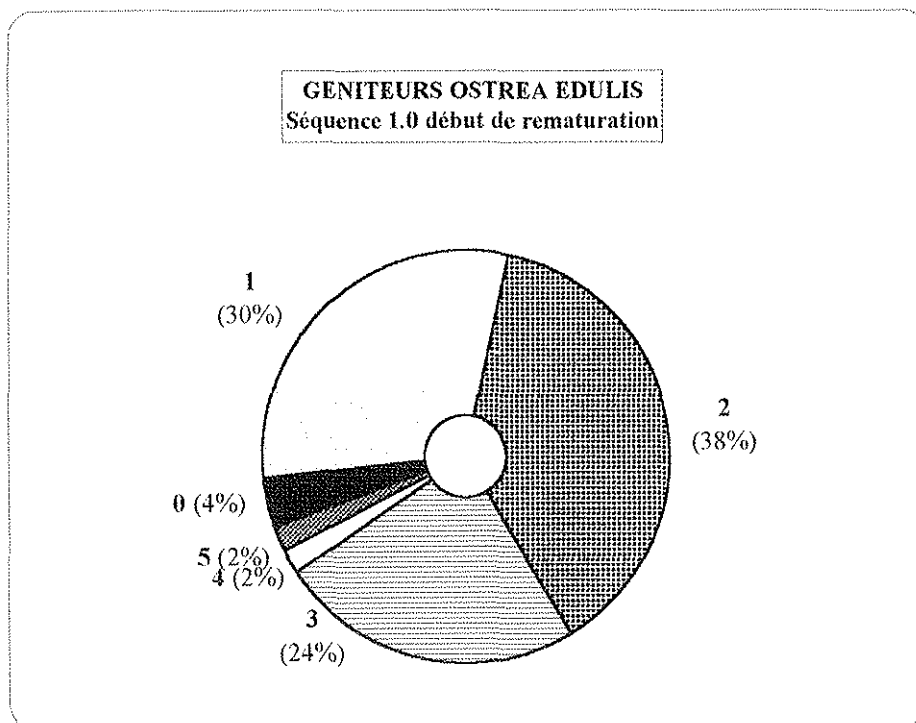


FIGURE 95.11 - Evolution des stades de maturation des géniteurs *Ostrea edulis* au cours de la séquence de rematuration 1.0 (*observations macroscopiques*)

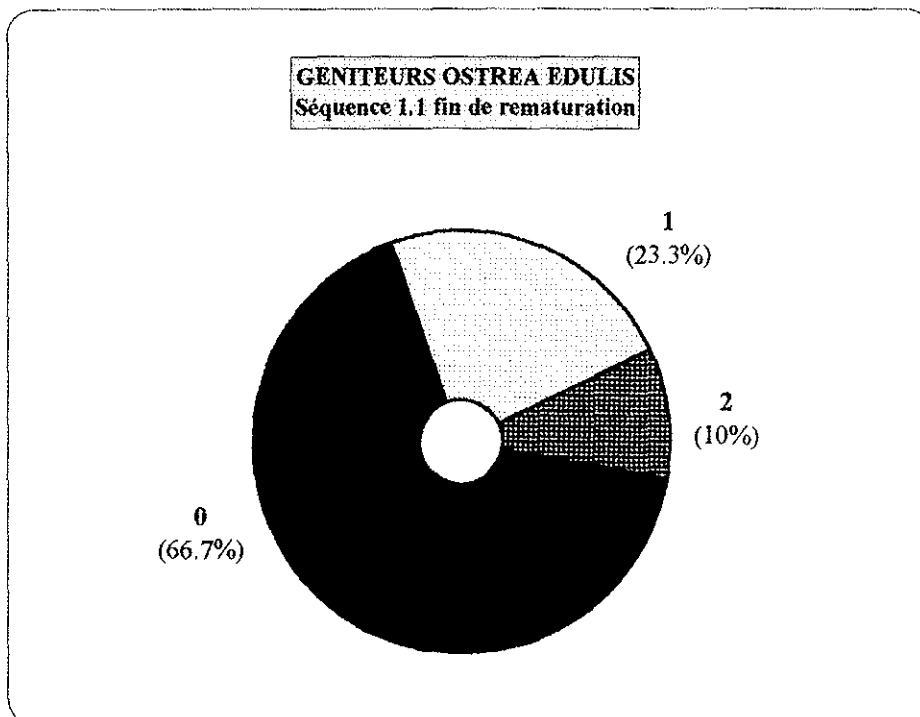
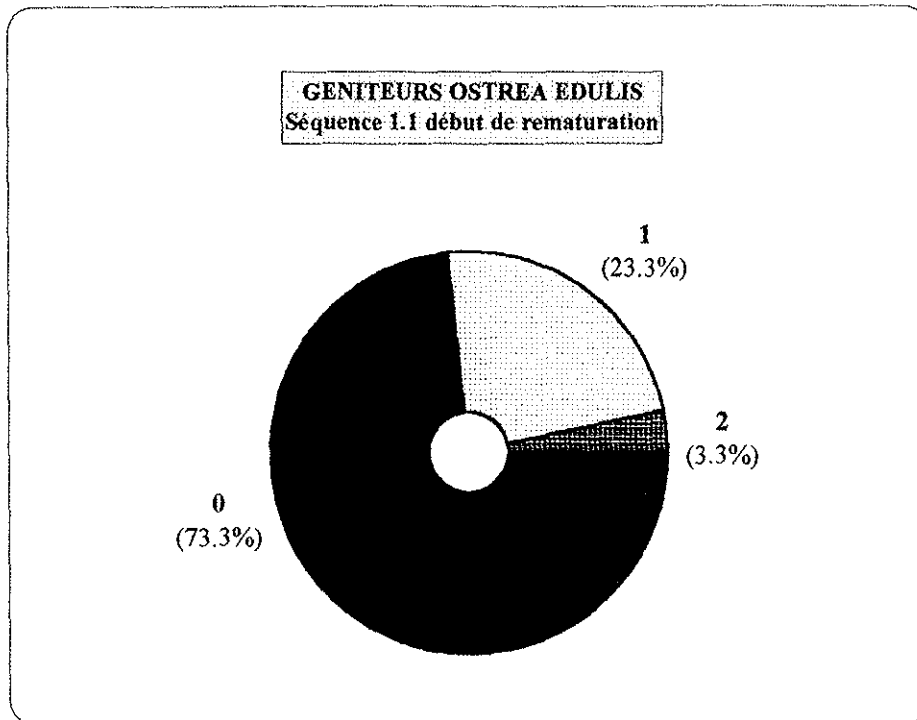


FIGURE 95.12 - Evolution des stades de maturation des géniteurs *Ostrea edulis* au cours de la séquence de rematuration 1.1 (*observations macroscopiques*)

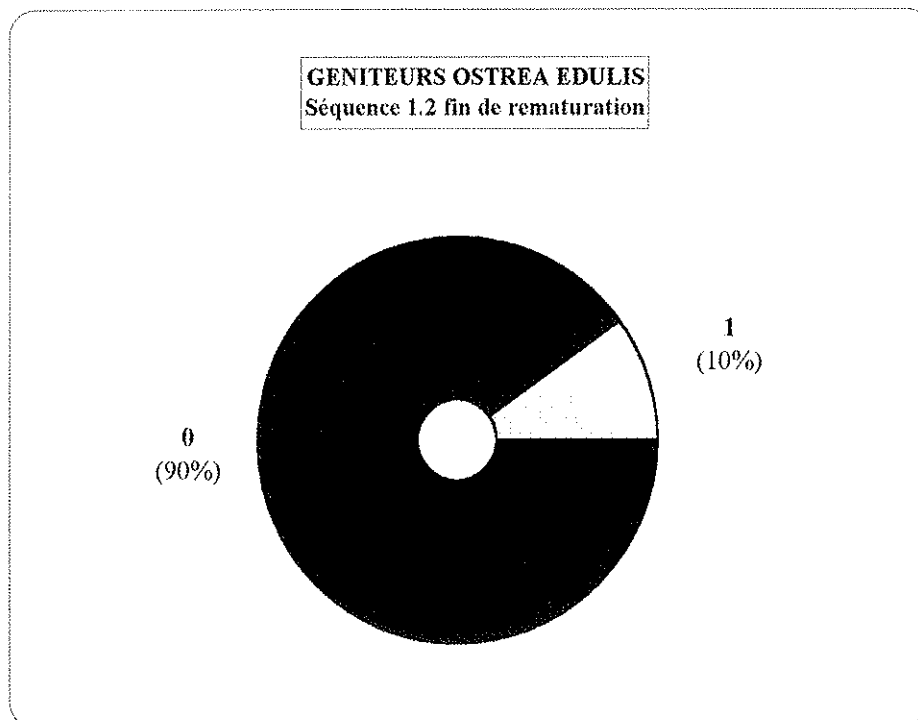
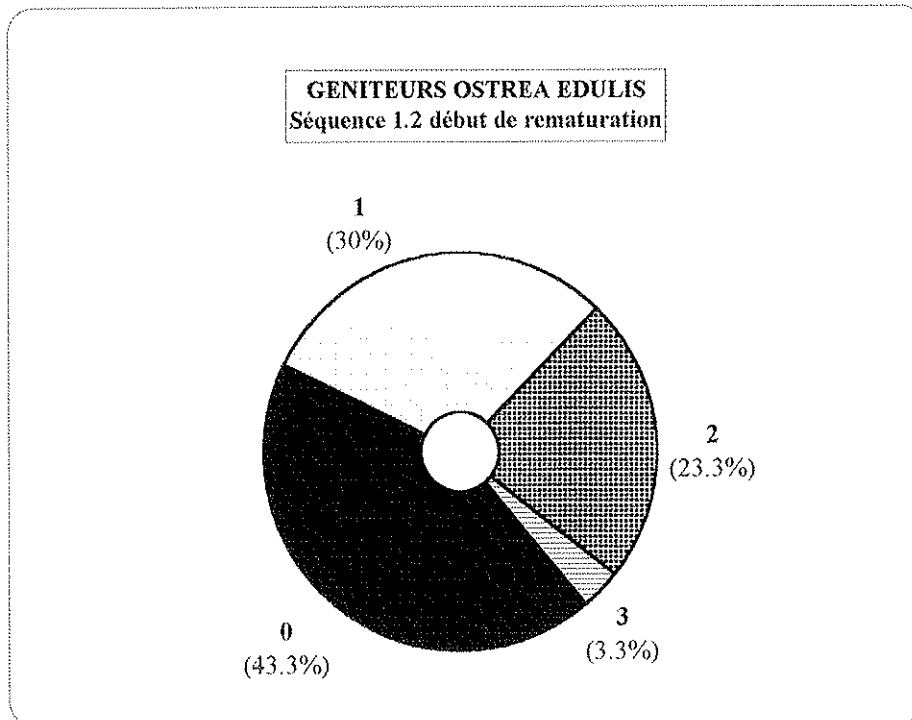
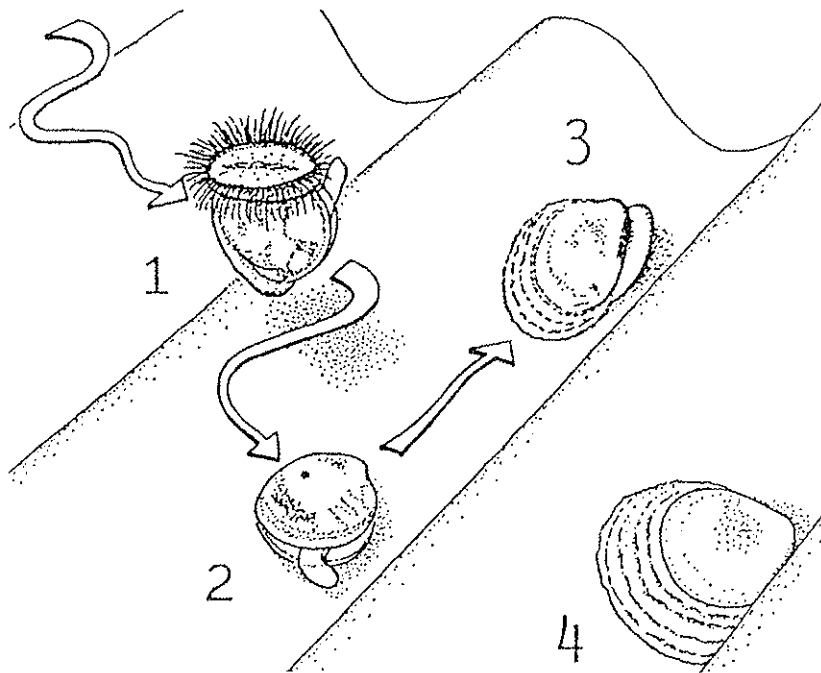


FIGURE 95.13 - Evolution des stades de maturation des géniteurs *Ostrea edulis* au cours de la séquence de rematuration 1.2 (*observations macroscopiques*)

VALIDATIONS LARVAIRES

1995



d'après JOLY 1989

4.7. VALIDATIONS LARVAIRES

Remarque : durant l'année 1995, peu de validations larvaires ont été réalisées, essentiellement en raison de la réservation prioritaire des installations pour des expérimentations sur la faisabilité d'élevage de larves d'huîtres creuses à partir d'une eau de forage, dans le cadre d'une convention passée par la Région (CEPRALMAR) à l'IFREMER.

4.7.1. Matériel biologique

Les larves mises en élevage proviennent uniquement des pontes émises durant les séquences 1 et 3 (maturations-retard) et sont traitées selon le plan expérimental présenté sur la figure 95.14.

4.7.2. Protocole d'élevage larvaire

Le protocole habituellement pratiqué à Palavas est mis en oeuvre (cf. paragraphe 3.3.2.). Au cours de la séquence 1, les 6 élevages de validation sont effectués en bacs cylindroconiques de 500, 1100 ou 2000 litres d'eau de mer naturelle recirculée sur filtre biologique. Pour la séquence 3, deux élevages sont menés respectivement dans des bacs de 50 et 400 litres.

L'alimentation algale est apportée sous la forme du mélange habituellement utilisé à Palavas (*Isochrysis galbana* souche *T. Iso* et *Chaetoceros calcitrans*, 40 cellules/ml chacune). L'année 1995 a été marquée par des problèmes répétitifs (cf. 4.3.2. 2ème alinéa) rencontrés dans la salle de production d'algues, et l'élevage 9527 démarré le 22 mai (Tableau 95.15) a dû être nourri avec des algues produites à l'extérieur (Ecloserie SATMAR).

1995

Mai s

Avr i l

Mai

Juin

Juil

Ao t

Se t

O t

Nov

D c

MATURATION 1

Volume: 500 l et 2000
1100 l

Biochimie

Algues Satmar

MATURATION 3

50 l

Volume: 400 l

4.7.3. Résultats des validations larvaires

4.7.3.1. Séquence de maturation 1

Tableau 95.15 - Résultats des élevages larvaires de validation de la séquence 1.

N° Elevages	9508	9509	9510	9511	9512	9527
Date début	9/04	13/04	14/04	19/04	20/04	22/05
Durée maturation (j)	27	31	32	37	38	70
Volume d'élevage (l)	500	2000	500	500	2000	1100
Age fin (j)	5	6	6	16	8	11
Alimentation algale	Palavas	Palavas	Palavas	Palavas	Palavas	Satmar
Taille début (μm)	169	165	167	163	171	163
Taille fin (μm)	181	185	193	264	202	288
Croissance moyenne ($\mu\text{m}/\text{j}$)	2.4	3.3	4.33	6.31	3.9	11.36
T°C (moyenne)	24.5	24.2	24.3	23	23.1	23.5
Lipides (% poids sec)	1.93	2.49	1.18			
Glucides totaux (% poids sec)	0.09	0.08	0.04			
Survie (%)	58	40*	38*	4*	7*	20*

* Fortes mortalités

Les résultats de croissance journalière des élevages 9511 et surtout 9527 sont satisfaisants, ce dernier ayant été nourri avec du phytoplancton d'origine extérieure à la Station de Palavas. Ces validations se caractérisent par de fortes mortalités (50 %), excepté pour le premier élevage.

Les teneurs en lipides au bout de 5 à 6 jours d'élevage larvaire sont comprises entre 1,18 et 2,50 % du poids sec total.

Pas de validations larvaires en séquence 2.

4.7.3.2. Séquence de maturation 3

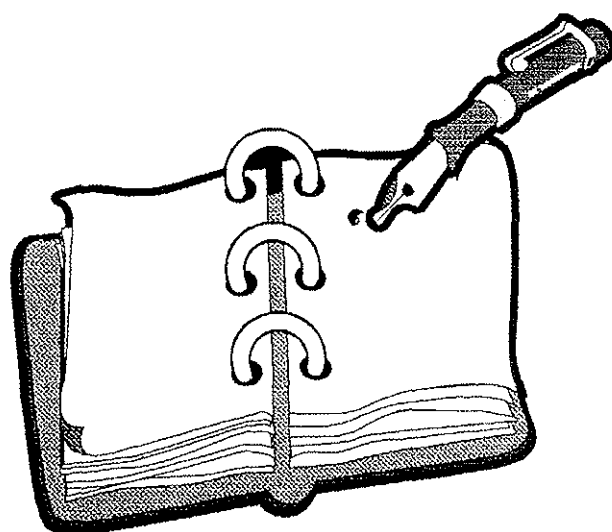
Tableau 95.16 - Résultats des élevages larvaires de validation de la séquence 3.

N° Elevages	9541	9542
Date début	30/10	4/11
Volume d'élevage (l)	50	400
Durée maturation (j)	15	20
Age fin (j)	9	9
Alimentation algale	Palavas	Palavas
Taille début (μm)	186	190
Taille fin (μm)	262	232
Croissance moyenne ($\mu\text{m}/\text{j}$)	8.4	4.7
T°C (moyenne)	21	19.6
Survie (%)	18	6

Les résultats de ces deux élevages larvaires sont mauvais, tant en terme de croissance qu'en terme de survie au bout de 9 jours.

LES COMMENTAIRES

1995



4.8. COMMENTAIRES SUR LES EXPERIMENTATIONS 1995

4.8.1. Généralités

Bien que tous les géniteurs soient de **même origine biologique** (production de l'écloserie expérimentale de la Station IFREMER de Palavas, à partir de géniteurs issus du milieu naturel méditerranéen) et **géographique** (grossissement dans l'étang de Thau), il est probable que le mélange de deux classes : "Télécaptage 1992" et "Télécaptage 1993" ait introduit un biais dans notre expérimentation.

Ceci posé, les géniteurs utilisés pour les expérimentations 1995 avaient pour caractéristiques initiales principales :

- une constante thermique basse pour la saison (82 degrés jours) (Wilson et Simons, 1985),
- un faible indice de condition : 78,5 pour la moyenne des deux classes, le meilleur indice (84,3) étant relevé sur le lot "Télécaptage 1992".

En outre, les problèmes rencontrés en production de microalgues en termes de qualité et de quantité ont constitué un souci quasi-permanent quant à la distribution de la ration alimentaire et peuvent être soupçonnés d'avoir perturbé la capacité physiologique des animaux à se reproduire, ainsi que la qualité des larves émises.

4.8.2. Le stock froid

Au bout de 10 mois de stabulation au froid, la **survie** est de 96 %. Ceci est sans doute à mettre en relation avec le relatif bon fonctionnement des groupes de refroidissement : bien que la température ait été difficile à maintenir à 7-8°C durant l'été, les animaux n'ont cependant subi ni chocs thermiques, ni température supérieure à 10,8 avec une moyenne de 10,1°C du 8 juillet au 9 août, période la plus critique sur le plan thermique.

La recherche du parasite *Bonamia* ne montre pas d'évolution importante, excepté pour le prélèvement d'octobre qui révèle une infestation de 14 % non confirmée par la suite.

L'observation **macroscopique** des stades de maturation montre que, comme lors des expérimentations 1994, la température basse n'a pas empêché une évolution de la maturation se traduisant par une disponibilité permanente et croissante de géniteurs en stade 2 (26,7 à 72 %) et 3 (36 à 60 %).

L'évolution de la **sex-ratio des géniteurs du stock froid** (Figure 95.15) confirme que la majorité des animaux reste sexuée durant toute la période d'expérimentation, sans amorce de repos sexuel hivernal, avec une augmentation notable de la population hermaphrodite entre les observations de juin et d'octobre. La comparaison avec l'année précédente s'avère cependant délicate, car si le protocole prévoyait bien, comme en 1994, un échantillonnage préalable à chaque mise en maturation, la fréquence de celles-ci était plus espacée en 1995 : 3 points (5 en 1994). D'autre part, la période d'observation du stockage au froid est légèrement plus courte en 1995. Ainsi, ces différences empêchent de confirmer, ou infirmer, la chute accusée d'éléments femelles au profit des mâles en fin d'expérimentation 1994.

Bien qu'il n'ait eu aucune influence sur la survie, le faible **indice de condition des géniteurs** (78,5 décroissant jusqu'à 49), à mettre en relation avec les problèmes de qualité de l'alimentation déjà évoqués, a probablement été un des facteurs limitants tout au long de l'expérimentation 1995. Par contre, les **teneurs en glucides totaux et glycogène sont plus élevées qu'en 1994** (respectivement 21,4 et 19,4 %) en début de stockage et chutent de moitié entre mars et octobre, indiquant une consommation au bénéfice de la gamétogenèse ; les valeurs de décembre marquent un début de reconstitution des réserves glucidiques. Les **lipides**, légèrement plus élevés que l'année précédente, restent également plus stables autour de 7-8 %).

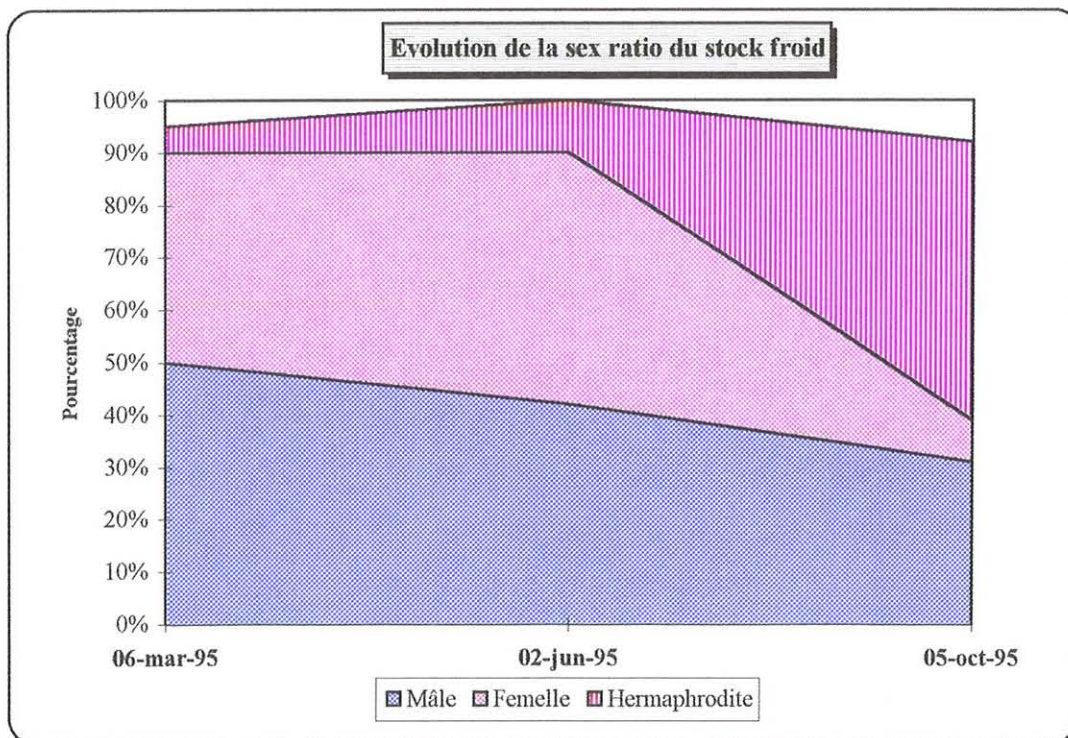
4.8.3. Les maturations contrôlées-retardées

La première séquence de maturation contrôlée a consisté en un conditionnement direct (19°C) sur des animaux issus du milieu d'élevage naturel. Seules les séquences 2 et 3 ont fait l'objet d'un "décalage retard" après un stockage à basse température.

Comme en mars 1994, la fin de la gamétogenèse et le déclenchement des émissions larvaires ont été obtenus pour les 3 séquences, avec des **temps de réponse** généralement supérieurs à ceux obtenus l'année précédente, compris entre 27 à 15 jours. Les 4 bacs de la Séquence 1, notamment, ont commencé leurs émissions de larves après une période de conditionnement supérieure à 23 jours, ce qui est à mettre en relation avec la faible valeur de constante thermique constatée lors de la constitution du stock de géniteurs.

L'allure de la courbe du **cumul des pontes** (Figure 95.16) pour les 3 séquences de maturation-retard 1995, suggère les remarques suivantes :

- l'effort de ponte de la séquence 1 n'est pas terminé (ceci est confirmé lors de la Rematuration 1.0),
- les émissions de larves de la séquence 2 sont probablement finies (l'observation de l'état des gonades semble effectivement indiquer une régression),
- la séquence 3, très brève, est manifestement achevée.



**FIGURE 95.15 - Evolution de la sex ratio des géniteurs
Ostrea edulis stockés au froid.**

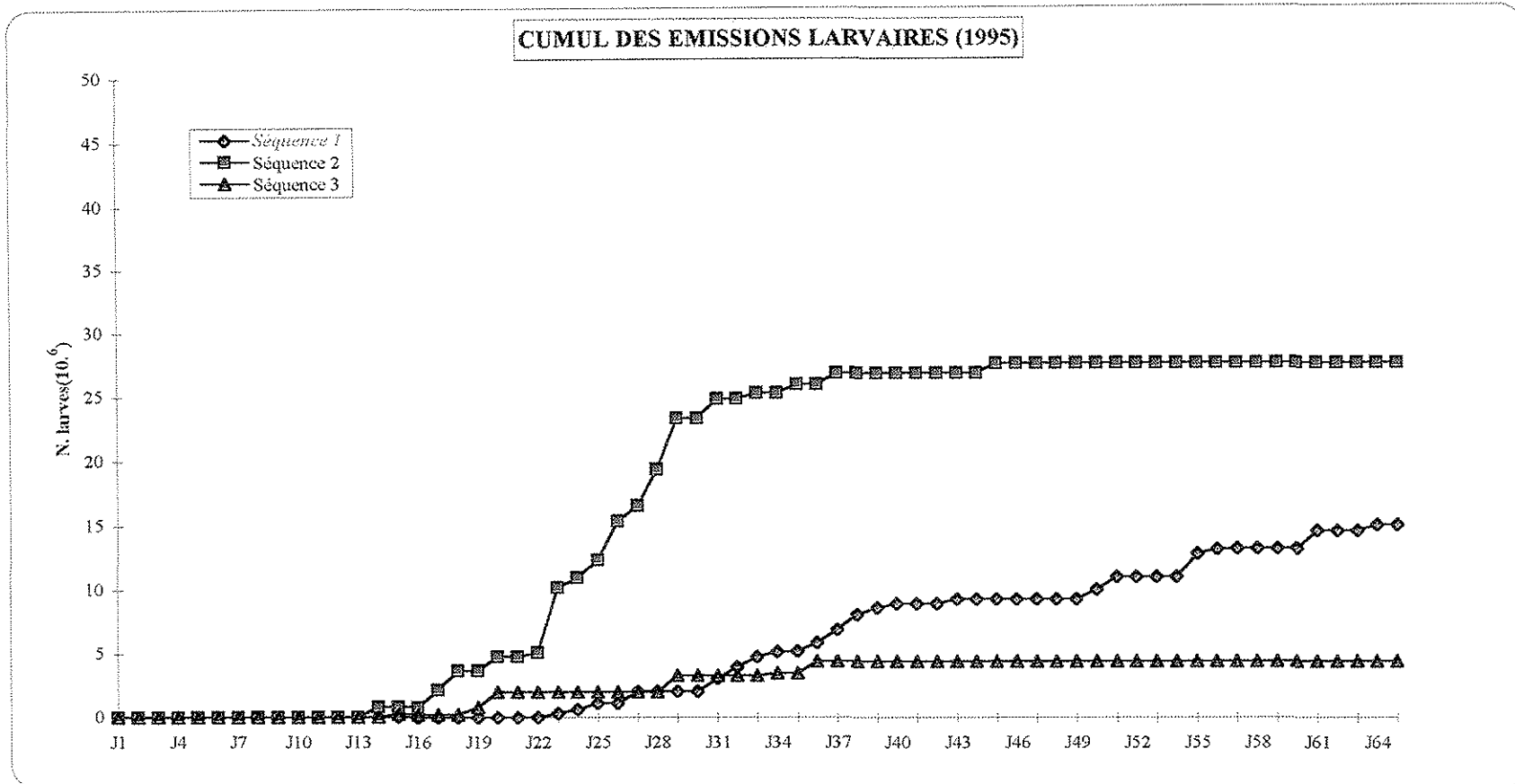


FIGURE 95.16: Cumul des pontes des 3 séquences de maturation - retard 1995
(séquence. 1 : moyenne des 4 bass)

Le rendement des géniteurs en termes de nombre de larves émises n'est pas corrélé à la durée du stockage au froid comme lors de l'expérimentation 1994 : c'est la séquence intermédiaire qui présente le moins mauvais chiffre : $0,31 \cdot 10^6$ larves/géniteur.

Walne (1974) estime que la fertilité de l'huître plate est fonction de l'âge et de la taille des géniteurs. Selon cet auteur, le nombre de larves émises par un individu de 2 ans et de 57 mm de diamètre se situerait à la moitié des performances observées à 4 ans et 79 mm de diamètre : de 540.000 à 1.10^6 larves/individu. D'autres auteurs (Marteil, 1979 ; Cole, 1941) notent que les variations observées dépendent moins de l'âge que de la taille de l'huître.

En tout état de cause, les géniteurs 1995 n'étaient âgés que de 3 ans (TC 1992) et de 2 ans (TC 1993) et, bien que nous ayons éliminé la fraction < 60 mm du lot 1993, il n'en restait pas moins un nombre indéterminé de géniteurs de petite taille ; le stock ainsi constitué ne présentait pas les caractéristiques optimales pour la reproduction.

Pour ce qui concerne la **taille des larves émises**, inférieure aux résultats 1995, on constate que celle-ci est homogène (fourchette de 162 à 164 μm pour les 6 bacs des deux premières séquences) excepté pour la séquence 3 qui présente aussi la taille la plus élevée (181 μm).

4.8.4. Le stock vernalisé

Durant les 6 mois de vernalisation, aucun incident n'a été noté et la **survie de 92 %** atteste que la remise au froid après 2 mois de conditionnement à la ponte ne semble pas avoir particulièrement fragilisé les géniteurs.

L'indice de condition Lawrence Scott, déjà affaibli durant les émissions larvaires (50) chute jusqu'à 30, indiquant un état physiologique alarmant.

L'observation **macroscopique** des stades de maturation des géniteurs vernalisés confirme que la remise au froid est effectuée en pleine activité de gamétogenèse (nombreux animaux en stades 3, voire 4 et 5). Durant le stockage de vernalisation, la régression est marquée par la disparition des stades 3 dès juillet. L'évolution de la **sex-ratio** (Figure 95.17) précise cependant la présence, en juillet et octobre, d'animaux mâles et femelles en stade 3, ainsi que des hermaphrodites (40 et 50 %).

Les réserves en glucides totaux et glycogène, déjà affaiblies par les émissions larvaires en début de vernalisation, continuent de diminuer respectivement de 10 à 4 % et de 6 à 2 %. Les teneurs **lipidiques** restent stables autour de 6-7 %, proches des 7-8 % du stock froid.

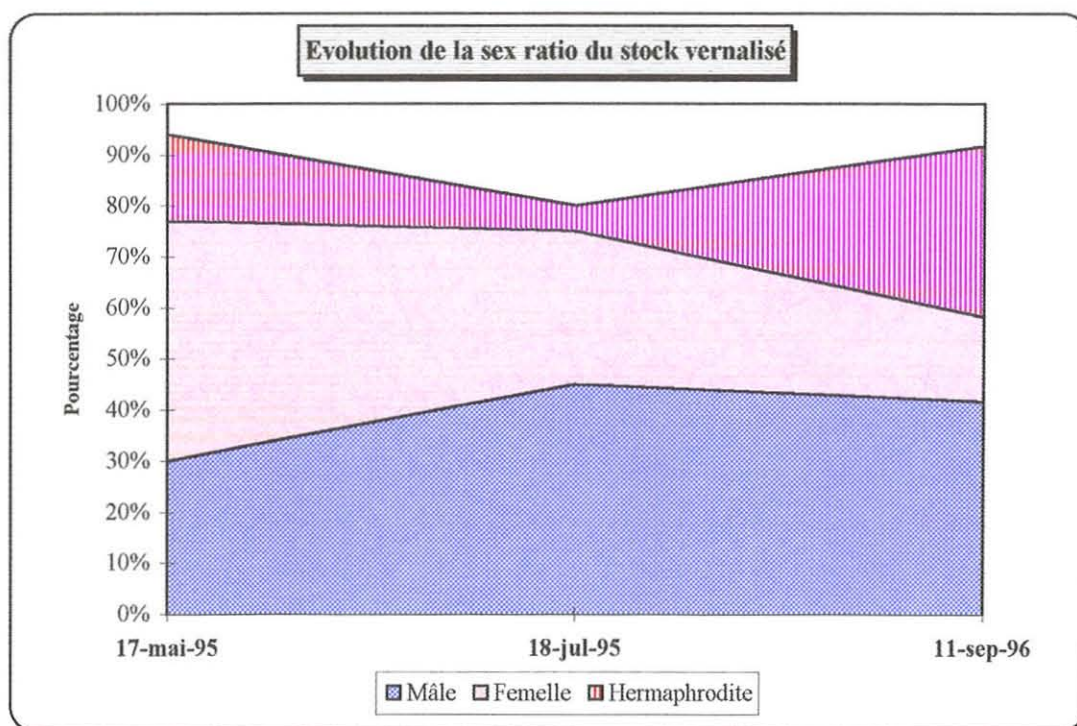


FIGURE 95.17 - Evolution de la sex ratio des géniteurs *Ostrea edulis* vernalisés.

4.8.5. Les re-maturations après vernalisation

La première séquence de ces 3 séquences "re-maturation" est, plus exactement, le prolongement de la séquence de maturation 1 du début de l'année et servant de témoin aux expérimentations de maturation après vernalisation. Cette séquence se traduit par une dégradation générale de l'état des animaux, traduite par une **faible survie (30 %)** et un **indice de condition final** le plus bas enregistré au cours de ces deux années d'expérimentation : 25.

La séquence 2 de re-maturation présente des résultats comparables en termes de survie (29 %) et indice de condition (29), tandis que la séquence 3 se caractérise par une survie supérieure : 62 %, malgré un indice de condition initial plus mauvais que lors des deux autres séquences : 37, chutant à 30 en final.

Pour l'ensemble de ces séquences de re-maturation, on constate un fort taux d'infestation par *Bonamia*, situé entre 14 (séquence 3) et 75 % (séquence 2). L'observation macroscopique de l'état des gonades montre que celles-ci sont en régression (stades 0 et 1).

L'ensemble de ces résultats est confirmé par des émissions larvaires négligeables, voire nulles pour la dernière séquence, ainsi que par les très faibles valeurs de lipides mesurées dans les larves.

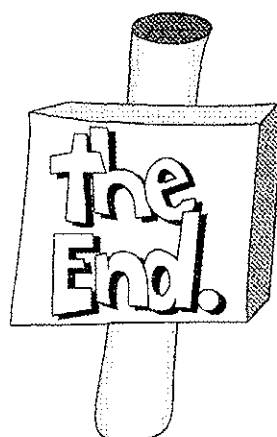
4.8.6. Les validations larvaires 1995

Rappel : durant l'année 1995, la disponibilité des structures d'élevage larvaire a été prioritairement réservée à des tests de faisabilité sur des larves d'hûtres creuses. Cet impératif, joint au faible rendement en émissions larvaires, explique le petit nombre d'élevages larvaires de validation.

Le protocole prévoyait des élevages larvaires de validation faisant suite, soit à des maturations-retardées à partir du stock froid, soit à des re-maturations depuis le stock vernalisé ; pour ces dernières, aucune validation n'a été réalisée.

En ce qui concerne les maturations-retards, les validations larvaires sont caractérisées par des croissances journalières, des taux de survie faibles et l'impossibilité d'atteindre le stade de la métamorphose. Ces mauvais résultats sont à rapprocher essentiellement des problèmes de qualité d'alimentation algale.

CONCLUSION



5 - CONCLUSIONS

Sur le plan technique, l'installation de régulation du froid a bien fonctionné dans l'ensemble, une puissance de 1 kW suffisant en général à maintenir un bac de 1,2 m² dans la gamme de température désirée. Le système de régulation de la température des bacs de stockage de géniteurs au moyen des pompes de recirculation dans les échangeurs s'est avéré simple et efficace. La puissance installée a cependant été limitée au moment des fortes chaleurs estivales (de 30 à 45°C dans le hall contenant les installations de maturation), particulièrement en 1994, où plusieurs montées de température accidentelles de 4 à 6°C en 24 heures ont été suivies de mortalités.

Peu d'informations étaient disponibles en ce qui concerne le **fonctionnement des filtres biologiques** sur une longue durée à des températures aussi basses (7 à 10°C). Malgré une approche pragmatique, les résultats des concentrations en N sous ses formes NH₄, NO₂ et NO₃ mesurées en 1994 (Tableau 94.6) montrent que leur dimensionnement et leur fonctionnement ont été satisfaisants. La teneur en N-NH₄, de 0,37 mg/l en moyenne, n'a jamais dépassé 0,85 mg/l, valeur éphémère correspondant en général à la présence de quelques animaux morts, et rapidement corrigée au moment des contrôles de mortalité et des changements d'eau. L'ensemble de l'infrastructure de stockage, incluant réfrigération et recirculation sur filtres biologiques, a ainsi permis de maintenir 550 géniteurs (effectif initial 1994) par bac de 1,2 m².

Pour la première fois depuis le début des expérimentations sur l'huître plate à Palavas (1991), le **recherche du parasite *Bonamia*** a été une préoccupation permanente. En effet, on a pu assister en quelques années à un renforcement des taux d'infestation dans le Golfe du Lion, aussi bien en mer qu'en étang (1,4 % ; Pichot, 1995) au point qu'il est devenu impossible de constituer un stock expérimental totalement indemne de *Bonamia*. La recherche de ce parasite a donc été systématique pendant toute la durée des expérimentations 1994 et 1995.

Le premier objectif de ces deux années d'étude était de vérifier que les géniteurs stockés à basse température durant une longue période restaient capables de produire des larves "à la demande", c'est à dire selon un calendrier réparti sur toute l'année. L'évolution des maturations au froid s'est caractérisée par une progression de la gamétogenèse jusqu'au stade 3 de l'échelle de Marteil (1979), puis un blocage à ce stade. Les géniteurs ont supporté ce régime prolongé à basse température et, malgré une diminution de l'indice de condition, n'ont pas épuisé leurs réserves lipidiques et glucidiques. Une élévation progressive de la température jusqu'à 18-19°C a suffi à déclencher la fin de la gamétogenèse et les émissions larvaires, dans un délai de 7 à 17 jours en 1994, de 15 à 27 jours en 1995.

En ce qui concerne la taille des larves obtenues, les résultats de l'année 1994 (171-180 µm) sont supérieurs à ceux de l'année suivante (162-181 µm), de même leur niveau de réserves lipidiques est resté stable autour de 5-6 % du poids sec de chair pour 1994, et 4-5 % en 1995. Du point de vue du contrôle de la maturation et la programmation des émissions larvaires, le premier objectif a donc été rempli et permet d'envisager le principe du décalage-retard froid comme outil de gestion d'un stock de géniteurs.

Le deuxième objectif des travaux était de vérifier que les larves produites, à des dates éventuellement très éloignées du calendrier de production dans le milieu naturel, conservaient leur compétence biologique pour accéder à la métamorphose et à la fixation. Ce point a été traité essentiellement durant 1994, pour des raisons de disponibilité des structures d'élevage larvaire, et une réponse positive a été apportée, notamment un menant un élevage tardif (début novembre), sanctionné par une fixation selon les normes habituelles pratiquées à la Station de Palavas.

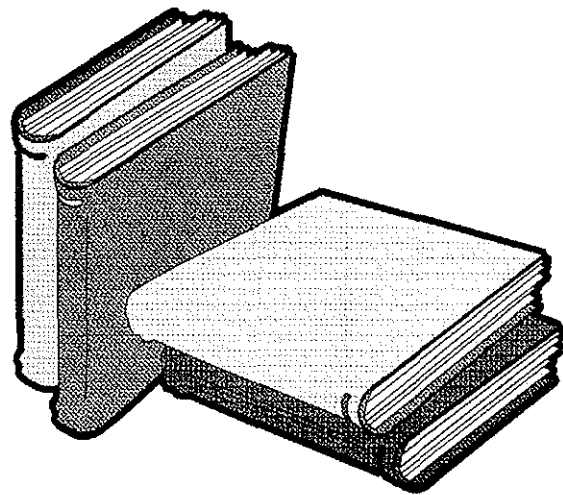
Cependant, les nombreuses difficultés rencontrées au cours des élevages expérimentaux démontrent que, malgré l'effort d'amélioration important apporté aux installations techniques en 1994, l'écloserie et les élevages larvaires en particulier, sont restés extrêmement dépendants des conditions extérieures. La qualité de l'eau d'élevage et du phytoplancton, distribué aux géniteurs comme aux larves, ont été soupçonnés dès le mois de juin 1994, c'est à dire après une malaïgue remarquable (cf. 3.3.3.1.), d'induire des perturbations dans l'évolution des élevages larvaires. Cette suspicion s'est trouvée confortée durant l'année 1995 au cours de laquelle nous avons eu pour mission de mener, simultanément à ces expérimentations, d'autres élevages larvaires dans une eau d'origine extérieure à la Station de Palavas et avec un apport de nourriture algale également extérieur. La comparaison a été nettement à l'avantage des conditions extérieures, c'est d'ailleurs la raison qui nous a conduits à réserver les structures expérimentales à ces tests au détriment de notre deuxième année de validations de la présente étude.

De même, les moins bons rendements en termes de nombre de larves émises observés l'année 1995 peuvent être mis en relation avec ce problème de qualité de phytoplancton qui a pu affecter les capacités biologiques des géniteurs à se reproduire. Il ne faut pas non plus écarter les facteurs "âge-taille" des huîtres, ni leur origine "télécapture" : les géniteurs issus d'écloserie subissent-ils une baisse de fécondité par rapport à des animaux issus du milieu naturel ? Pour répondre aux questions soulevées par ces résultats contrastés, il serait intéressant de disposer de critères permettant d'apprécier la qualité des oeufs ou des larves, voire des gamètes, s'affranchissant dans le même temps des élevages menés dans ce seul but, consommateurs de temps et d'installations et toujours tributaires de la qualité du milieu d'élevage et de la nourriture.

Le troisième objectif, concernant uniquement l'année 1995, consistait à tenter de comprimer le cycle de reproduction en utilisant la technique de "vernalisation" ; il s'agissait, à partir d'un conditionnement à 19°C dès la sortie du milieu naturel, induisant une ponte précoce, de provoquer un repos sexuel par remise au froid à 7°C. Les animaux ainsi manipulés ont constitué un nouveau stock de géniteurs disponibles pour des séquences de "re-maturation" qui s'est comporté de façon intéressante sur le plan de la survie (92 %). Par contre, le stockage au froid n'a pas permis une reconstitution des réserves et la remontée en température a accentué la dégradation de l'état physiologique ainsi que l'augmentation de l'infestation par *Bonamia*. Sur ce plan, les résultats n'ont donc pas été probants. Cependant, là encore, la qualité du phytoplancton a probablement une influence que nous ne pouvons quantifier.

En conclusion, nous pouvons dire que les géniteurs d'huîtres plates supportent parfaitement le stockage au froid, que celui-ci soit pratiqué dès la sortie du milieu naturel ou selon le principe de la vernalisation. Dans le premier cas, nous avons mis en évidence la faisabilité de l'obtention de larves viables selon un calendrier réparti sur l'année ; dans le second cas, bien que les résultats demandent à être confirmés dans de bonnes conditions d'alimentation, il n'a pas été possible d'obtenir de larves.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- CATHERINE M., BLATEAU D., MAZURIE J. et C. LE BEC, 1990. Anomalie des coquilles d'huîtres creuses *Crassostrea gigas* observées sur le littoral français en mai-juin 1989, dues au ver *Polydora* et aux peintures antisalissures. *Equinoxe*, **31** : 24-32.
- COATANEA D., OHEIX J. MAZZARA L. et P.Y. HAMON, 1992. Essais de télécapage de l'huître plate *Ostrea edulis* en Méditerranée. Bilan 1991. Rapport Interne IFREMER RIDRV 92.021 RA PALAVAS : 62 p.
- COATANEA D., OHEIX J., MAZZARA L. et C. VERCELLI, 1994. Elevage de l'huître plate en Languedoc-Roussillon. Bilan des travaux 1990-1992. Rapport Interne IFREMER RIDRV 94.07 RA PALAVAS : 72 p.
- COLE H.A., 1941. The fecundity of *Ostrea edulis*. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.*, **25** : 243-260.
- DUBOIS M., GILLES K.H., HAMILTON J.K., REBECS P.A. et F. SIMTH, 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, **28** (3) : 350-356.
- GALLAGER M.S. and R. MANN, 1981. Use of the Lipid-specific stained techniques for assaying condition in cultured bivalve larvae. *Journ. of Shellfish Res.*, **1** (1) : 69-73.
- HOLLAND D.L., 1978. Lipid reserves and energy metabolism in the larvae of benthic marine invertebrates. *In* : Biochemical and biophysical perspectives in marine biology. (4). D.C. Malins and J.R. Sargent Eds. London ; New-York : *Academic Press* : 85-123.
- HOLLAND D.L. and B.E. SPENCER, 1973. Biochemical changes in fed and starved oysters *Ostrea edulis* growth. *Journ. of Mar. Biol. Assess. of U.K.*, **53** : 287-298.
- LAWRENCE D.R. and G.I. SCOTT, 1982. The determination and use of condition index of oysters. *Estuaries*, **5** (1) : 23-27.
- MARTEIL L., 1979. La conchyliculture française. Troisième partie : L'ostréiculture et la mytiliculture. *Rev. des Trav. Inst. Sci. et Techn. des Pêches marit.*, : 207-230.
- MARSH J.B. and D.B. WEINSTEIN, 1966. Sample charring method for determination of lipids. *J. Lip. Res.*, **7** : 574-576.
- MELARD J. et J.P. BLANCHETON, 1990. Effluents aquacoles marins. Contribution à l'étude du recyclage. Activation des filtres biologiques. *Aqua Revue*, **28** : 37-40.

- MILLAR R.H. and J.M. SCOTT, 1967. The larva of the oyster *Ostrea edulis* during starvation. *Journ. of Mar. Biol. Assess. of U.K.*, **47** : 475-484.
- PICHOT Y., 1995. REPAMO (Réseau Pathologie Mollusques). Bilan des examens zoosanitaires réalisés en 1995. Méditerranée. Rapport IFREMER/Laboratoire Méditerranéen de Conchyliculture, Palavas : 16 p.
- RUIZ C., MARTINEZ D., MOSQUERA G., ABAD M. et J.L. SANCHEZ, 1992. Seasonal variations in condition, reproductive activity and biochemical composition of the flat oyster *Ostrea edulis*, from San Cibran (Galicia, Spain). *Mar. Biol.*, **112** : 67-74.
- VERCELLI C., COATANEA D., OHEIX J. et J.M. CHABIRAND, 1995. Observations sur la reproduction naturelle de l'huître plate *Ostrea edulis* dans un site méditerranéen. (à paraître).
- WALNE P.R., 1979. Culture of bivalves molluscs. 50 years experience at conwy. *Buckland Foundation* : 190.
- WALNE P.R. and R. MANN, 1975. Growth and biochemical composition in *Ostrea edulis* and *Crassostrea gigas*. In : Proc. 9th Europ. mar. biol. Symp. Harold Barnes Editor. *Aberdeen Univ. Press* : 587-607.
- WILSON J.H. and J. SIMONS, 1985. Gametogenesis and breeding of *Ostrea edulis* on the West coast of Ireland. *Aquaculture*, **46** : 307-321.

ANNEXES

ANNEXE 1

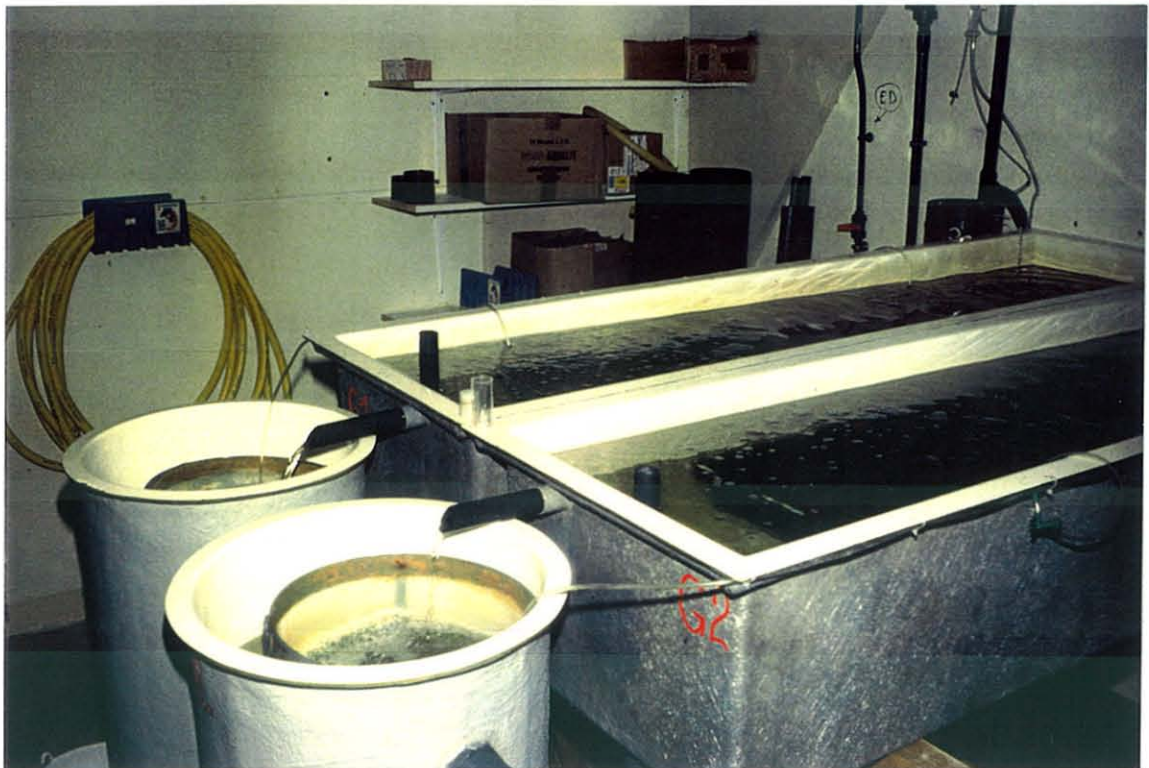
PLANCHE PHOTOGRAPHIQUE

1. Bac de stockage froid des géniteurs (S) et
bac de transition (T)
2. Raceways de maturation (G) et collecteurs de larves

①



②



ANNEXE 2

Eau de mer artificielle THALASEA

THALASEA®

Un concentré d'eau de mer
pour vos
aquariums



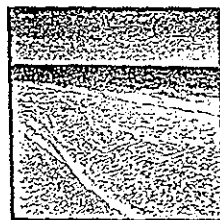
A seawater
concentrate
for your aquariums

THALASEA® 100 % Naturel

La Nature est le berceau de THALASEA®, véritable extrait d'eau de mer, préparation idéale pour reconstituer fidèlement le milieu marin en aquarium.

La Compagnie des Salins du Midi et des Salines de l'Est, forte d'un savoir-faire plus que centenaire, prélève chaque année THALASEA® dans les eaux de la Méditerranée. Celles-ci, une fois pompées en pleine mer, circulent de bassin en bassin sur plus de 70 kilomètres et déposent THALASEA® en s'évaporant sous l'effet du soleil et du vent.

Le secret de THALASEA® est donc d'être un produit entièrement naturel dont l'efficacité en aquarium a été prouvée à grande échelle. De nombreux essais, avec des poissons et des crustacés, ont été menés pendant plus de dix années de recherches par la Direction des Pêches de la Compagnie des Salins du Midi et des Salines de l'Est. Tous ont montré la qualité de THALASEA®.



THALASEA® comes from nature, a genuine seawater extract which is ideal for accurately recreating a marine environment in your aquarium.

La Compagnie des Salins du Midi et des Salines de l'Est uses its knowledge, gained from more than a century, to take THALASEA® from the waters of the Mediterranean. The water is pumped from the sea, passes through a network of basins which are more than forty miles long, and during this process it is evaporated by the sun and wind, leaving THALASEA®.

THALASEA®'s secret is therefore to consist in a completely natural product which has been proved to be effective in the best aquariums. The Fishery Research Department of the Compagnie des Salins du Midi et des Salines de l'Est has carried out trials in several aquariums over a ten year period which show beyond any doubt the quality of THALASEA® for fish and shellfish.

THALASEA®

THALASEA® pratique

Les composants

- Les deux composants de THALASEA® sont issus en totalité de la Méditerranée.
- La partie solide est essentiellement constituée de sel de mer séché produit naturellement sous l'action conjointe du soleil et du vent.
- La partie liquide est une saumure qui détient l'essentiel des éléments indispensables à l'équilibre minéral de l'eau de mer : les éléments majeurs (Magnésium, Potassium) et les oligo-éléments (Strontium, Bore, Zinc...) se trouvant dans la mer.

Les doses

- Pour un aquarium de 1000 litres, il convient d'incorporer 20 litres de saumure et 25 kg de sel à 980 litres d'eau.
- On peut plonger sans danger les poissons dans l'eau 48 heures seulement après le remplissage de l'aquarium. Le mélange est bien dosé quand la densité se trouve comprise entre 1020 et 1025 et que le pH oscille de 8,1 à 8,3. Un renouvellement régulier de l'eau est ensuite essentiel pour maintenir l'équilibre de votre aquarium.

Distribution

- L'approvisionnement est particulièrement aisé pour les grands aquariums publics grâce à une livraison vrac en camion citerne et sur palettes.

LES ATOUTS DE THALASEA®

PRODUIT NATUREL
EAU TRÈS CLAIRE
DISSOLUTION RAPIDE
TRÈS GRANDE QUALITÉ
PRODUIT DES SALINS DU MIDI
RÉSEAU DE COMMERCIALISATION EUROPÉEN

THALASEA® is convenient

Components

- The two components of THALASEA® come entirely from the Mediterranean sea.
- The solid part is mainly derived from dried sea salt which is produced naturally by evaporation from the sun and the wind.
- The liquid part is a brine which contains the essential elements necessary for the mineral balance of sea water: the main elements (Magnesium, Potassium), as well as trace elements (Strontium, Boron, Zinc) being in the sea.

Dosage

- For a 1000 litre aquarium, we recommend 20 litres of brine and 25 kg of salt to 980 litres of water.
- Fish can be introduced without danger into the treated water of your aquarium after 48 hours. The density should then measure between 1020 and 1025 with a pH value of between 8.1 and 8.3. The regular replacement of the water is essential to maintain correct balance within your aquarium.

Distribution

- Large public aquariums can easily be supplied by our bulk deliveries using pallets and tankers.

THALASEA®'S ADVANTAGES

NATURAL PRODUCT
CRYSTAL CLEAR WATER
RAPID DISSOLVING
GREAT QUALITY
PRODUCER'S KNOW-HOW
EUROPEAN DISTRIBUTION NETWORK

ANNEXE 3

1. Fiche synthétique d'élevage larvaire n° 9404
2. Fiche synthétique d'élevage larvaire n° 9422

FICHE D'ELEVAGE LARVAIRE

ESPECE: *Ostrea edulis*

REF: 9404

BAC N°: 3

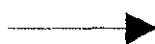
DATE D'EMMISSION DES LARVES:

24/06/1994

GENITEURS:

Nombre: 39 Poids moyen (g): 100.8 Origine: OER9404
 Origine: Thau + Mer

CONDITIONNEMENT:



Circuit fermé

Durée: 25j

Paramètres: (valeurs moyennes)

T: 18.2(+0.6) pH: 7.93(+0.05) NH4:

S: 35% Mortalité: 8% NO2:

ELEVAGE LARVAIRE:

Nombre Total (M) : 1.30 Taille: 169µ

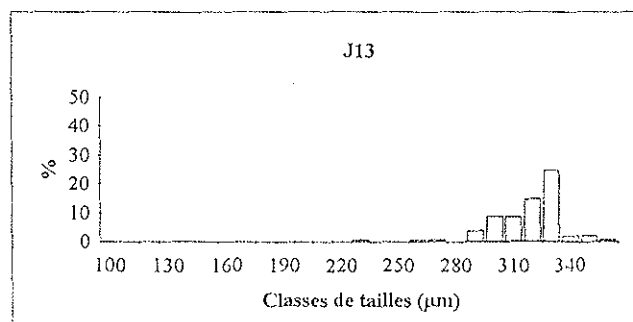
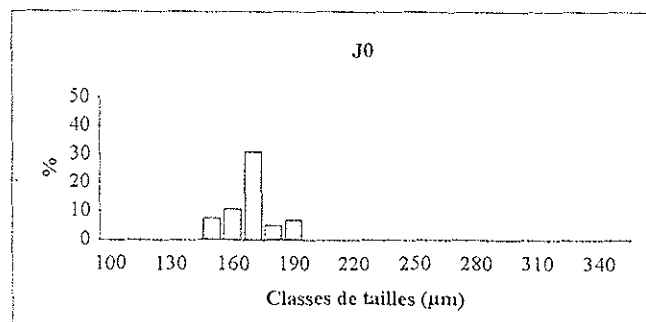
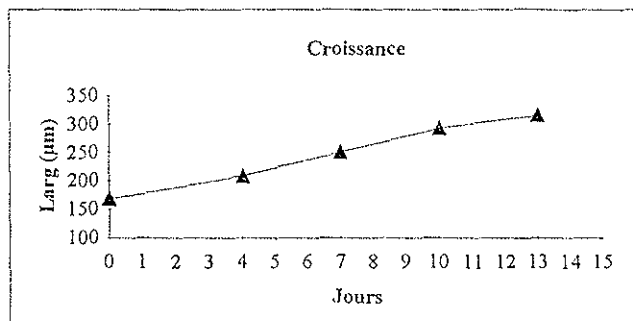
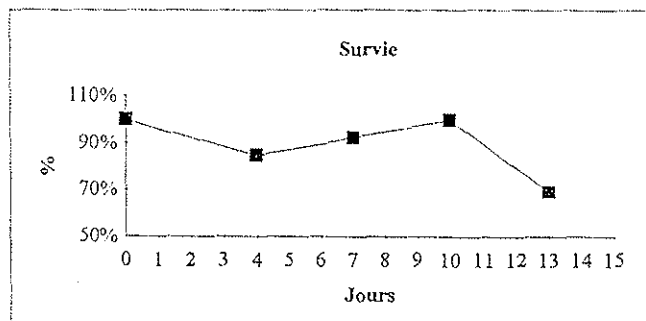
Jour	Nombre (million)	Survie %	Tamis (µm)	Long moy (µ)	Temp °c	Chgt eau	Iso d (M)	Chaeto d (M)
	1.30	100%	200	169	20.2		8.6	6
1					23		7	6.1
2					24		8	5.3
3					23.6			
4	1.10	85%	125	209	23.3	oui	11	8.7
5					23.1		9.2	6
6					23.4		9.4	5.9
7	1.20	92%	125	251	24.3	oui	12	5.3
8					24.5		12	6.5
9					24.4		8.6	9
10	1.30	100%	125	294	24.4	oui	7.1	7.8
11					24.5		7.7	4.6
12					24.9		7.2	4.5
13	0.90	69%	125	317	21.7	vid		
14								
15								
16								
17								
18								
MOY					23.5		9.0	6.3

FIXATION:

Surface captante:

Nombre de larves:

GRAPHIQUES:



FICHE D'ELEVAGE LARVAIRE

ESPECE: OSTREA EDULIS REF: 9422 BAC N°: B
 DATE D'EMMISSION DES LARVES: 19/10/1994 VOLUME BAC (litres): 2000

GENITEURS:

Nombre: 39 Poids moyen (g): 115 Origine: OER9408-b (G2)
 Origine: Thau+mer

CONDITIONNEMENT: ▶ Circuit fermé sur filtre biologique

Durée: 13j
 Paramètres: (valeurs moyennes)

T°c: 18.80 pH: 7.93 NH4:

ELEVAGE LARVAIRE:

Nombre Total (M) : 4.00 Taille µ: 183 Densité (l): 2000

Jour	Nombre (million)	Survie %	Tamis (µm)	Long moy (µ)	Temp °c	Chgt eau	Iso d(M)	Chaeto d(M)
1	4	100%	60	183	21		8	5
2					21.5		7.6	4.4
3					21.5		9.8	4.4
4					21.5		9.6	5.4
5	3.48	87%	125	195	21.6	oui	10	4.6
6					21.6		12.5	4.3
7	3.20	80%	150	205	21.5	oui	6.4	5
8					21.4		9.6	4.5
9	3.00	75%	170	215	21.4	oui	6.1	5.8
10					21		10.8	7.3
11					21.2		9.1	7.5
12	1.60	40%	200	248	21.5	oui	8.4	8
13					21.7		8	6.3
14					21.8		8.2	8
15	1.25	31%	224	270	21.8	oui	9.6	8.6
16					21.9		8.1	6.2
17	0.91	23%	224	286	21.8	oui	7.4	7.7
18					21.9		7	6.5
19	1.04	26%	224	299	21.7	oui	10	7
20					21.6		8	6.3
21	0.7	18%	236	292	21.5	oui	7	7.4
22					21.6	vid		
MOY					21.5		8.60	6.53

OBSERVATIONS: Production larvaire pour essai de télécapage puis nurserie en automne en étang.

