URGE

H742h201-DIV-D

Rapport interne de la Direction des Ressources Vivantes de l'IFREMER

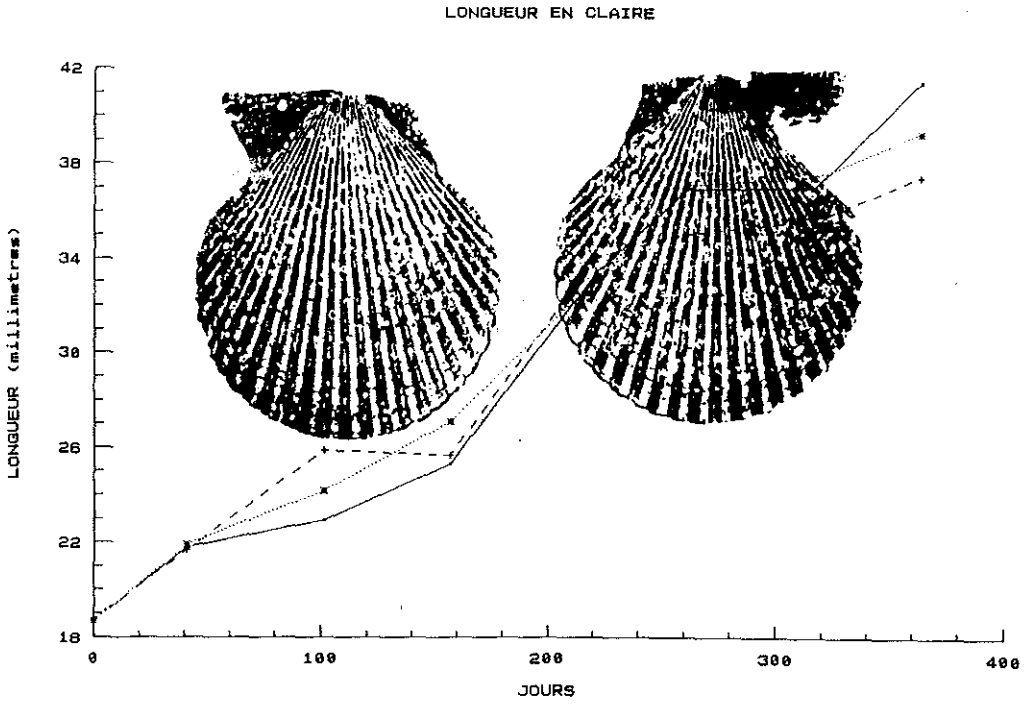
46238
H742R201
DIV-D
ouv1463

DIVERSIFICATION DES PRODUCTIONS CONCHYLICOLES EN POITOU-CHARENTES. L'ELEVAGE DU PETONCLE NOIR *CHLAMYS VARIA*.

A. BODOY, J. GARNIER, S. HEURTEBISE, V. NOLLET et D. CHAGOT.

Laboratoire de Biologie Ecologie des Invertébrés Marins
Unité de Recherche Régionale Aquacole

IFREMER
BIBLIOTHEQUE
LA TREMBLADE



RIDRV-91-11-RA/LA TREMBLADE

IFREMER

INSTITUT FRANCAIS DE RECHERCHE POUR L'EXPLOITATION DE LA MER

Adresse : IREMER
URRA
B.P. 133
Mus de loup
17390 LA TREMBLADE

DIRECTION DES RESSOURCES VIVANTES

DEPARTEMENT RESSOURCES AQUACOLES

STATION/LABORATOIRE DE LA TREMBLADE

AUTEURS (S) : Alain BODOY, Jacqueline GARNIER, Serge HEURTEBISE, Virginie NOLLET et Dominique CHAGOT	CODE : RIDRV-91-11-RA/LA TREMBLADE
TITRE : DIVERSIFICATION DES PRODUCTIONS CONCHYLICOLES EN POITOU-CHARENTES. L'ELEVAGE DU PETONCLE NOIR *CHLAMYS VARIA*.	Date : Juin 1991 Tirage en nombre : Nb pages : 65 Nb figures : Nb photos :
CONTRAT (intitulé) N° _____ Contrat : Etat-Région Poitou-Charentes-IFREMER	DIFFUSION libre ☒ restreinte ☐ confidentielle ☐

RESUME

La croissance et la reproduction du pétoncle noir, *Chlamys varia*, ont été suivies sur un cycle biologique complet, dans un marais maritime. Cette croissance s'est avérée être nettement plus rapide qu'en rade de Brest, puisque la taille commerciale de 35 mm a été atteinte en un an. Les individus se sont reproduits au bout de la même période. Ceci montre qu'il est possible d'obtenir un cycle biologique très rapide. Lors du cycle de production, des mortalités importantes ont été constatées entre le prégrossissement en nurserie et la mise en élevage. Ces mortalités ne se sont pas renouvelées sur le cycle en cours d'étude. Un agent parasite nouveau a été décrit sur cette espèce, sans que des certitudes puissent être établies quant à son rôle pathogène. L'analyse de l'évolution des composés biochimiques a montré, conjointement avec celle des paramètres biométriques, la présence d'une période de reproduction s'étendant de juin à septembre. L'énergie investie dans la reproduction des gamètes demeure faible. Le rôle et la nature des substances de réserve apparaissent différents de ce qui est généralement observé chez d'autres espèces de mollusques. L'évolution du milieu hydrologique dans les différents bassins a fait l'objet d'une analyse détaillée.

Mots-clés : croissance, composition biochimique, élevage, pétoncle, marais maritime.

IFREMER © IFREMER - Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer, 1991

SOMMAIRE

Pages

REMERCIEMENTS

1ERE PARTIE : CYCLE D'ELEVAGE DU PETONCLE EN MARAIS MARITIME

I. INTRODUCTION 1

II. MATERIELS ET METHODES 2

2.1. Production d'individus en écloserie et phase de nourricerie 2
2.2. Sites d'élevage 3
2.3. Evolution du milieu 4
2.4. Suivi des lots de pétoncles 4

III. RESULTATS 4

3.1. Conduite des expérimentations 4
3.2. Evolution du milieu d'élevage 5
3.3. Evolution des individus 11

3.3.1. Performances de croissance 11
3.3.2. Evolution des composés biochimiques 15

3.4. Variabilité entre les bassins d'élevage 18

IV. DISCUSSION 18

V. CONCLUSIONS 22

VI. BIBLIOGRAPHIE 24

2EME PARTIE : ETUDE HISTOLOGIQUE ET ULSTRASTRUCTURALE D'UNE MICROSPORIDIE PARASITE DU PETONCLE *CHLAMYS VARIA*

I. INTRODUCTION 28

1. Les virus 29
2. Les procaryotes 30
3. Les bactéries 31
4. Les protozoaires 32

II. MATERIEL ET METHODES 36

1. Provenance des animaux 36
2. Technique de microscopie photonique 36
3. Technique de microscopie électronique 38

III. RESULTATS 42

1. Anatomie interne générale du pétoncle *Chlamys varia* 42
2. La glande digestive ou hépatopancréas 42
3. Mise en évidence du parasite 43

   3.1. Microscopie photonique 43
   3.2. Microscopie électronique 44

4. Epidémiologie 45
5. Pathologie générale des pétoncles 45

DISCUSSION-CONCLUSION 46

ANNEXES 49

BIBLIOGRAPHIE 61

REMERCIEMENTS

La réalisation de ce travail n'aurait pu être menée à bien sans la collaboration efficace de plusieurs personnes, parmi lesquelles Dominique CHAGOT pour la deuxième partie.

La dactylographie et la mise en page de ce travail ont été assurées avec compétence et disponibilité par Sylvie TAILLADE, que les auteurs remercient.

Le concours financier de la Région Poitou-Charentes, dans le cadre du contrat de plan Etat-Région-Poitou-Charentes-IFREMER est particulièrement apprécié.

1ERE PARTIE

CYCLE D'ELEVAGE DU PETONCLE EN MARAIS MARITIME

A. BODOY, J. GARNIER, S. HEURTEBISE

I. INTRODUCTION

L'utilité d'une diversification des productions conchylicoles n'est pas à rappeler. En effet, le développement qu'ont connu l'ostréiculture et la mytiliculture s'est effectué, dans certains bassins, au-delà même des conditions biologiques optimales. La capacité nutritive du milieu étant alors dépassée, les performances de croissance et les taux de survie se dégradent, entraînant du même coup une diminution des rendements. D'autre part, et ce pour toutes les espèces, les maladies dans le domaine marin sont par nature très difficile à contrôler. La disparition de l'huître creuse portugaise, à la suite d'une épizootie d'origine virale et le syndrome du *Bonamia* pour l'huître plate sont des phénomènes très présents dans les pratiques des conchyliculteurs. Enfin pour l'huître creuse, les problèmes économiques et notamment l'évolution négative des prix en francs constants, entraînent une diminution de la rentabilité des entreprises de ce secteur.

Si quelques espèces de remplacement peuvent être envisagées, les espèces nouvelles de mollusques pouvant faire l'objet d'un élevage commercial ne sont pas légions. La production de palourde a passé depuis plusieurs années le cap de la faisabilité technique et économique, mais elle se trouve elle-même concurrencée par la production étrangère provenant de gisements naturels, sur les marchés prospectés jusqu'à présent.

Les pectinidés présentent un certain nombre d'avantages, exposés plus largement dans le rapport précédent (Bodoy et al., 1990). Rappelons seulement que l'élevage du pétoncle japonais représente maintenant 300 000 tonnes par an dans ce pays. La valeur commerciale de ces pectinidés (coquille St Jacques, pétoncles) demeure élevée, dans notre pays, ce qui explique leur place prépondérante dans les programmes de diversification. Si la relance de l'huître plate a la faveur des professionnels, cet aspect est traité par un programme national de recherche. Par contre, le pétoncle noir demeure très intéressant sur le plan régional. Un seul chiffre le montrera : 70 % du marché national du pétoncle noir (Avia, 1986) se situe actuellement dans les département 16, 17 et 33. Le niveau national de production est de 300 tonnes au total, alors que ces régions ont absorbé jusqu'à 2 000 tonnes par an, au début des années 60.

Le pétoncle noir étant originaire de nos latitudes, y est bien adapté sur le plan de la croissance et de la reproduction. Cependant deux remarques s'avèrent

nécessaires. L'une concerne son écologie : par nature, l'espèce se rencontre dans les zones constamment immergées, où ne découvrant que très peu. Les sites d'élevage, les techniques de production et le mode de distribution doivent tenir compte de cette caractéristique commune à tous les pectinidés. La deuxième remarque a trait à l'aspect épidémiologique. Les fortes mortalités survenues au cours de l'automne 89 et reportées dans le précédent rapport, ont présenté des caractéristiques qui ne permettent pas d'éliminer l'hypothèse d'un agent pathogène.

Dans d'autres conditions, l'aspect zoosanitaire a été examiné plus profondément, et un agent parasite a été identifié. Ceci constitue la seconde partie du présent rapport (annexe). Quant à la première, elle présente les résultats annuels du programme de faisabilité technique, engagé en 1989, et dans le cadre duquel trois cycles de production étaient prévus, en mer ouverte et en marais maritime.

Les points acquis précédemment montraient que les densités choisies à l'intérieur des casiers ne se traduisaient pas par des différences significatives. La croissance en prégrossissement et au cours de l'hiver s'avérait bonne, mais de fortes mortalités ont été observées juste après le transfert d'une phase à l'autre. Enfin, des problèmes techniques ont compromis le déroulement des opérations en mer ouverte.

Les objectifs du programme pour cette année étaient les suivants :

- Réaliser et interpréter un cycle complet de production,
- Lancer un deuxième cycle de production,
- Analyser l'état zoosanitaire des populations naturelles et des individus lors des différentes phases d'élevage. Cet aspect constitue la deuxième partie de ce rapport.

II. MATERIELS ET METHODES

2.1. Production d'individus en écloserie et phase de nourricerie

Comme par le passé, des géniteurs ont été pêchés en rade de Brest, puis conditionnés pour accélérer la maturation des produits génitaux. Après la fécondation, l'élevage larvaire et la métamorphose, un prégrossissement intensif

a été réalisé à la station IFREMER de Bouin. En effet, il est possible, dans cette région de produire une nourriture phytoplanctonique abondante à partir d'eau salée souterraine riche en sels nutritifs (Baud et Bacher, 1990), qui permet de créer des conditions d'élevage particulièrement favorables.

2.2. Sites d'élevage

Par rapport à l'an passé, les structures de mer ouverte (filières) se sont révélées délicates à expérimenter, en l'absence de moyens de relevage propre. La faible disponibilité des bateaux professionnels équipés de grues hydrauliques n'a pas permis d'assurer l'entretien suffisant des suspentes qui ont fini par se rompre, avec la perte totale des structures. Les actions concernant ce site sont temporairement suspendues. En marais maritime (fig. 1), le plan expérimental initial a été poursuivi, jusqu'en novembre 1990, c'est-à-dire au-delà de la taille de commercialisation et en début de la période de vente des pétoncles de pêche. Les individus prégrossis en été 1990, ont été installés en élevage à l'automne, dans des conditions satisfaisantes de survie, qui ne permettront pas d'envisager l'action des densités d'élevage, par suite du biais causé par une mortalité de départ très élevée.

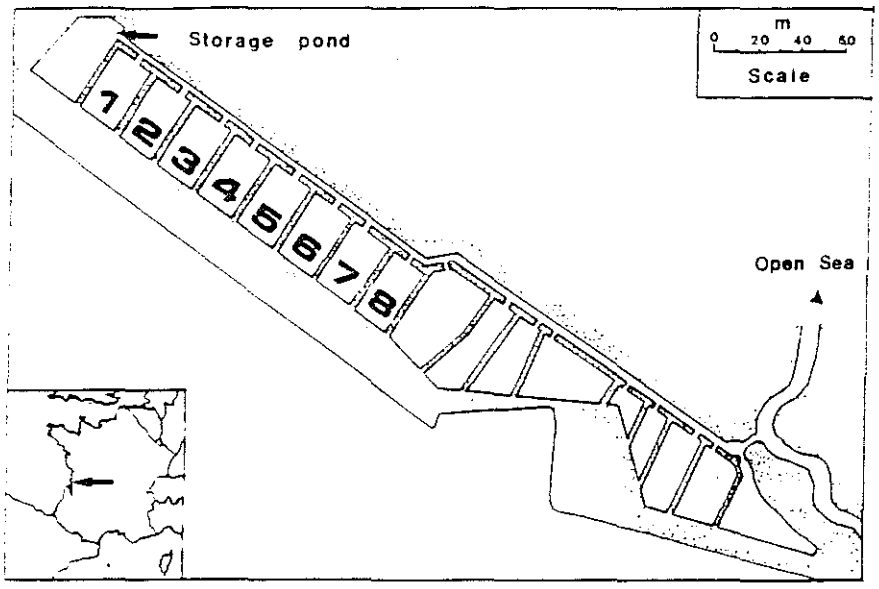


Figure 1 : Emplacement et schéma hydraulique du marais expérimental.

2.3. Evolution du milieu

Des prélèvements d'eau hebdomadaires effectués dans les 3 différents bassins (6, 7 et 8), ont permis d'envisager l'évolution annuelle des caractéristiques. Les paramètres suivants ont été mesurés selon les méthodes classiques : température, salinité (ces 2 paramètres n'ayant pas montré de différences entre plusieurs bassins au cours d'expériences précédentes, une seule claire a fait l'objet d'un suivi), matières particulaires totales (Parsons et al., 1984), minérales et organiques, teneurs en protéines, lipides et glucides du matériel organique, pigments chlorophylliens et phéopigments (Deslous-Paoli, 1980). Les données recueillies ont fait l'objet d'analyse en composantes principales grâce au logiciel STAT.ITCF.

2.4. Suivi des lots de pétoncles

Après la période hivernale, où les prélèvements étaient effectués tous les deux mois, ces derniers ont ensuite été réalisés sur une base mensuelle. La croissance a fait l'objet des mesures suivantes : hauteur de la coquille, poids total, poids frais et poids sec lyophilisé de la chair, poids des valves, indice de condition (Bodoy et al., 1986). La composition biochimique a également été suivie, en raison des informations qu'elle apporte sur l'adaptation des animaux en conditions d'élevage et sur certains aspects du cycle vital, liés au fonctionnement énergétique et à la reproduction. Les méthodes employées pour l'analyse des protéines, des lipides, des glucides et du glycogène sont présentées en détail par Deslous-Paoli (1980). Tous ces paramètres ont été mesurés sur chacun des 10 individus de chaque lot, de façon à ce que la variabilité individuelle puisse être prise en compte lors de l'analyse statistique.

III. RESULTATS

3.1. Conduite des expérimentations

Les problèmes rencontrés en mer ouverte ayant été rappelés par ailleurs, on observera que cet élevage ne pose pas de problèmes particuliers en marais, autres que ceux ayant trait à la protection contre les prédateurs (crevettes sur les plus petits stades, crabes verts). Les filets de protection à maille fine, placés à l'intérieur des casiers, se sont avérés efficaces à la condition élémentaire d'être nettoyés régulièrement. Le maintien d'un niveau d'eau

constant s'est avéré délicat, le système hydraulique ayant révélé des points de faiblesse, en raison d'un entretien défectueux.

Cependant les mortalités observées depuis l'automne 1990, sur les juvéniles mis à l'eau à cette époque, ainsi que sur les adultes, sont demeurées inférieures à 1 % par mois, ce qui est considéré comme satisfaisant.

3.2. Evolution du milieu d'élevage

Les différents paramètres suivis traduisent le caractère particulier de l'année 1990. La température de l'eau est descendue en hiver jusqu'à 2°C et l'on n'a pas observé de prise en glace de la surface. La plus forte température observée n'a été que de 25°C, ce qui est inférieur aux maximas couramment observés (fig. 2).

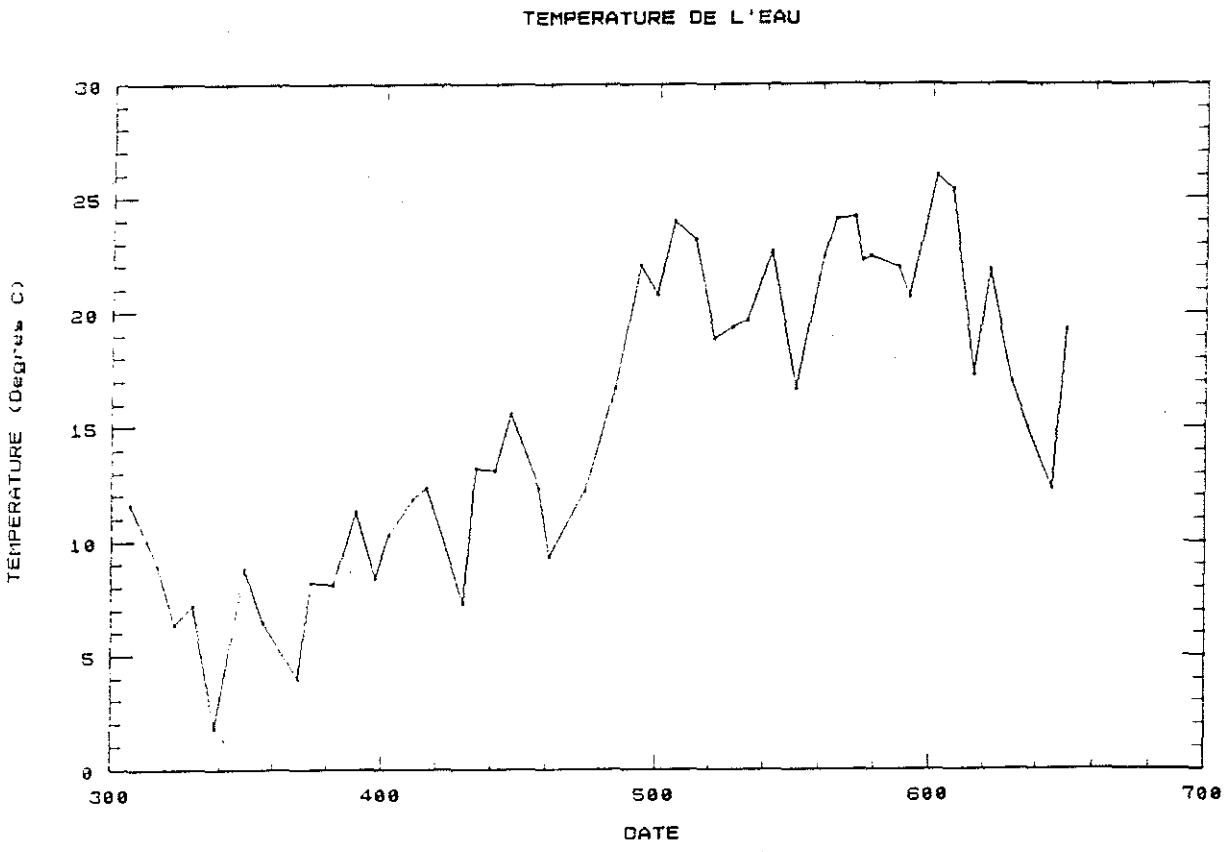


Figure 2 : Evolution de la température de l'eau pendant la durée du cycle d'élevage.

La salinité, sur une année entière (fig. 3), n'est jamais descendue en dessous de 25 ‰ alors qu'elle peut fréquemment descendre sous les 20 ‰. Par contre, elle a atteint 40 ‰ à deux reprises, ce qui est une valeur anormalement élevée. Ces chiffres traduisent, au niveau du marais maritime, la grande sécheresse constatée cette année (Anonyme, 1989, 1990).

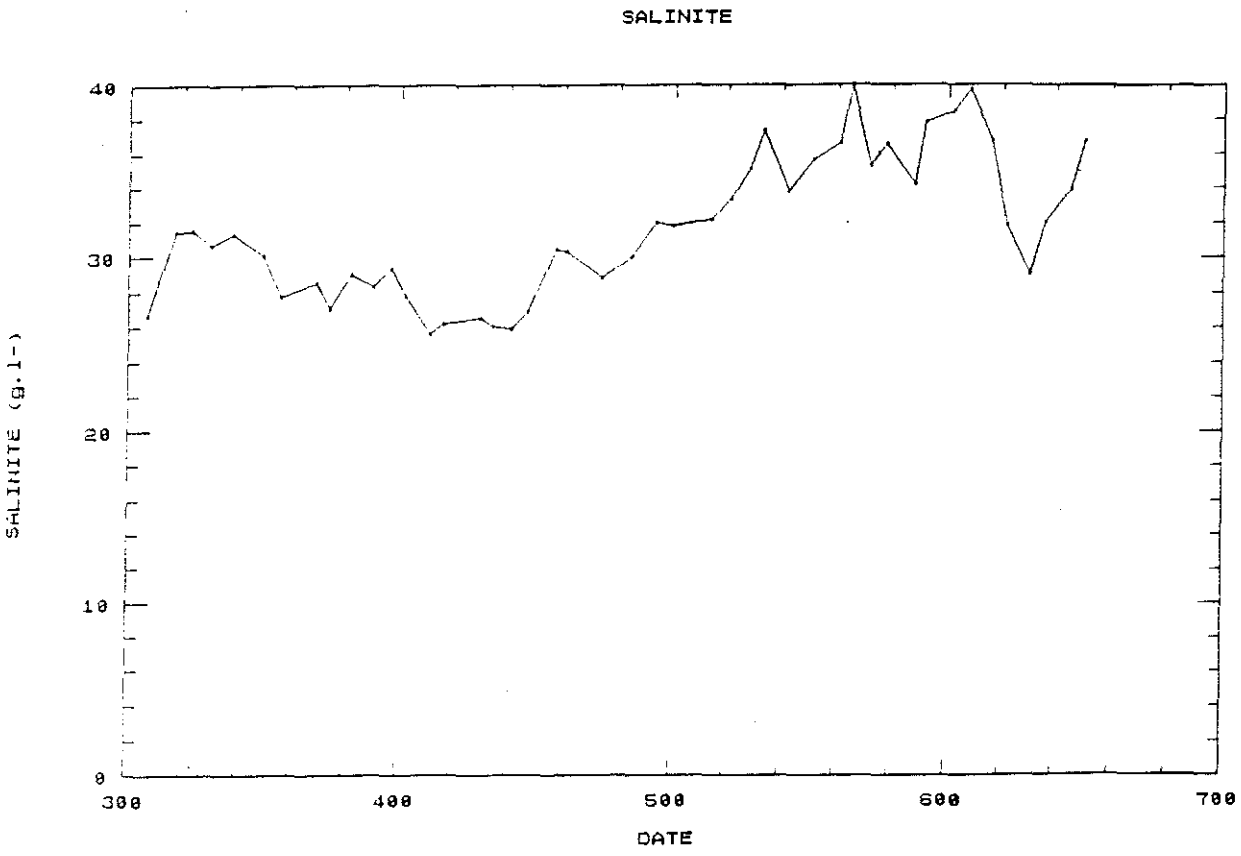


Figure 3 : Evolution de la salinité pendant la durée du cycle d'élevage.

Le matériel particulaire, ou seston, présente des variations temporelles considérables (fig. 4). Si des valeurs autour de 20 mg/l sont rencontrées de manière habituelle, de nombreux prélèvements traduisent des valeurs bien supérieures, parfois supérieures à 250 mg/l. Ces valeurs sont dues à l'effet ponctuel du vent, qui provoque un clapot et une remise en suspension du sédiment. Ce matériel particulaire est constitué essentiellement par la fraction minérale (fig. 4b), avec en moyenne 21 mg/l. On notera, au cours du temps, une tendance à l'augmentation, qui est à mettre en relation avec l'état du sol des bassins. Le pétoncle ne pouvant être maintenu émergé, aucun assec favorisant le raffermissement de ce sol n'a pu être réalisé, d'où l'apparition d'une couche de

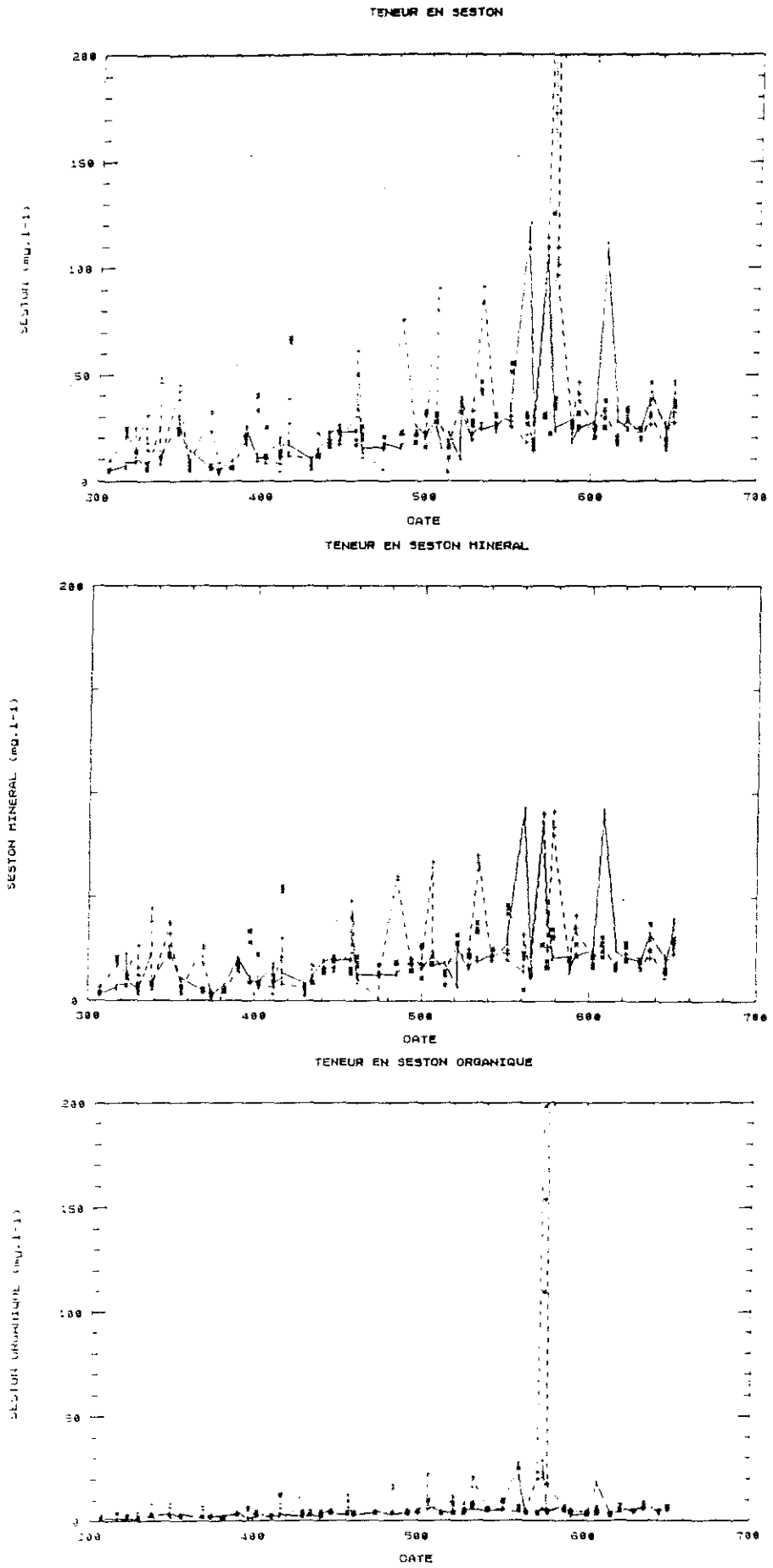


Figure 4 : Teneurs en matériel particulaire mesurés dans les 3 bassins expérimentaux. a : seston total, b : fraction minérale, c : fraction organique.

vase molle, facilement remise en suspension. La fraction organique du seston (fig. 4c) demeure très inférieure à la fraction minérale, avec une teneur moyenne de 5 mg/l. La valeur exceptionnelle observée le 26 juillet 1990 est survenue à une période où des macrophytes se développaient. La valeur énergétique du seston (fig. 5) est extrêmement fluctuante, bien qu'homogène d'une claire à l'autre. La moyenne annuelle est de 1,6 J/l avec une saisonnalité marquée : les teneurs énergétiques sont plus fortes en été (2,5 J/l) qu'en hiver (0,9 J/l). La succession des pics et des creux de la courbe est en rapport étroit avec le fonctionnement hydraulique du marais, les fortes valeurs étant observées juste après que le marais ait été alimenté en eau de mer.

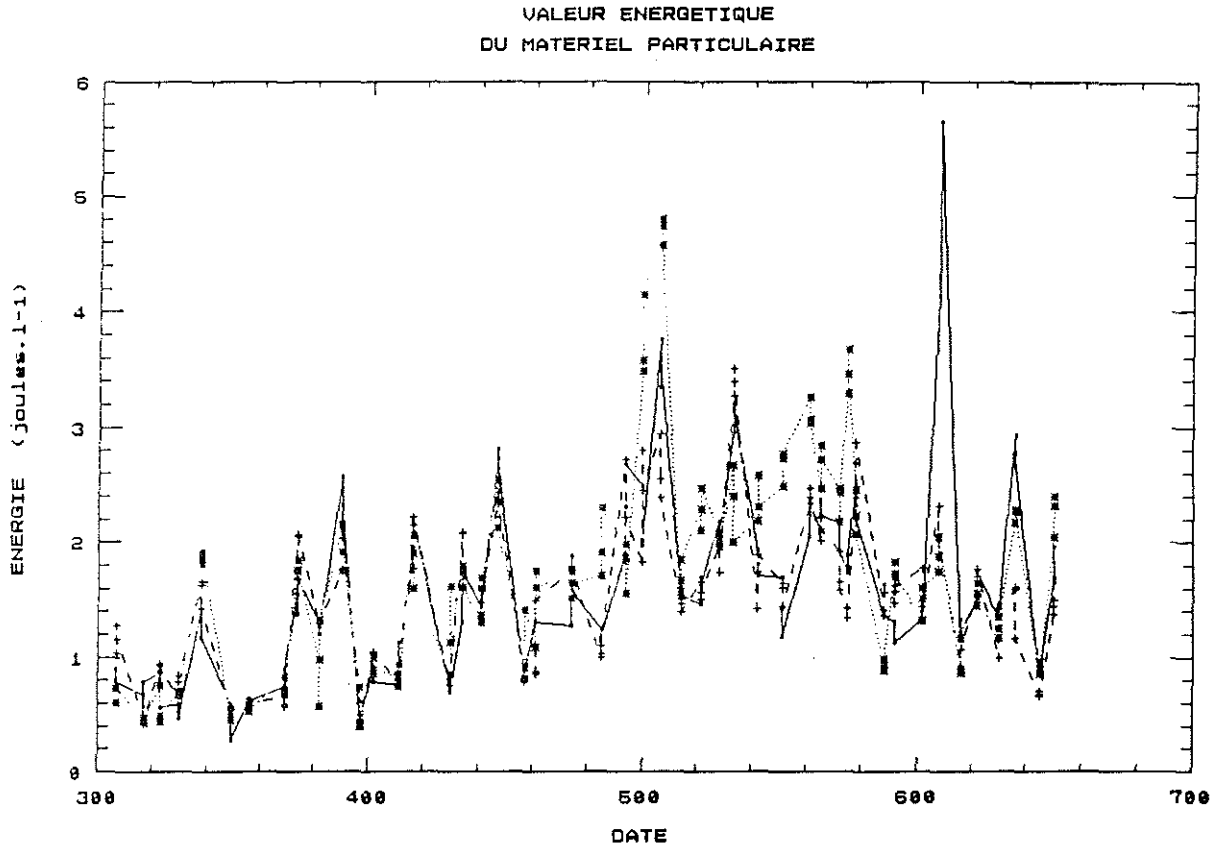


Figure 5 : Valeur énergétique du matériel particulaire mesuré à partir de facteurs de conversion énergétique appliqués aux teneurs en protéines, lipides et glucides.

Les pigments chlorophylliens (fig. 6) présentent la même variabilité avec cependant un signal d'apparence plus aléatoire. La dispersion est très forte autour de la moyenne annuelle de 2,4 mg/m^3, puisque des concentrations atteignant 16 mg/m^3 ont été relevés. Si les moyennes annuelles de chaque claire

ne diffèrent pas significativement, on peut observer ponctuellement de grandes différences d'une claire à l'autre. La corrélation entre teneur en chlorophylle et régime hydraulique n'a pas été étudiée. Cependant, l'allure des courbes montre qu'il ne semble pas y avoir de fluctuations répétitives, comme c'était le cas pour la valeur énergétique.

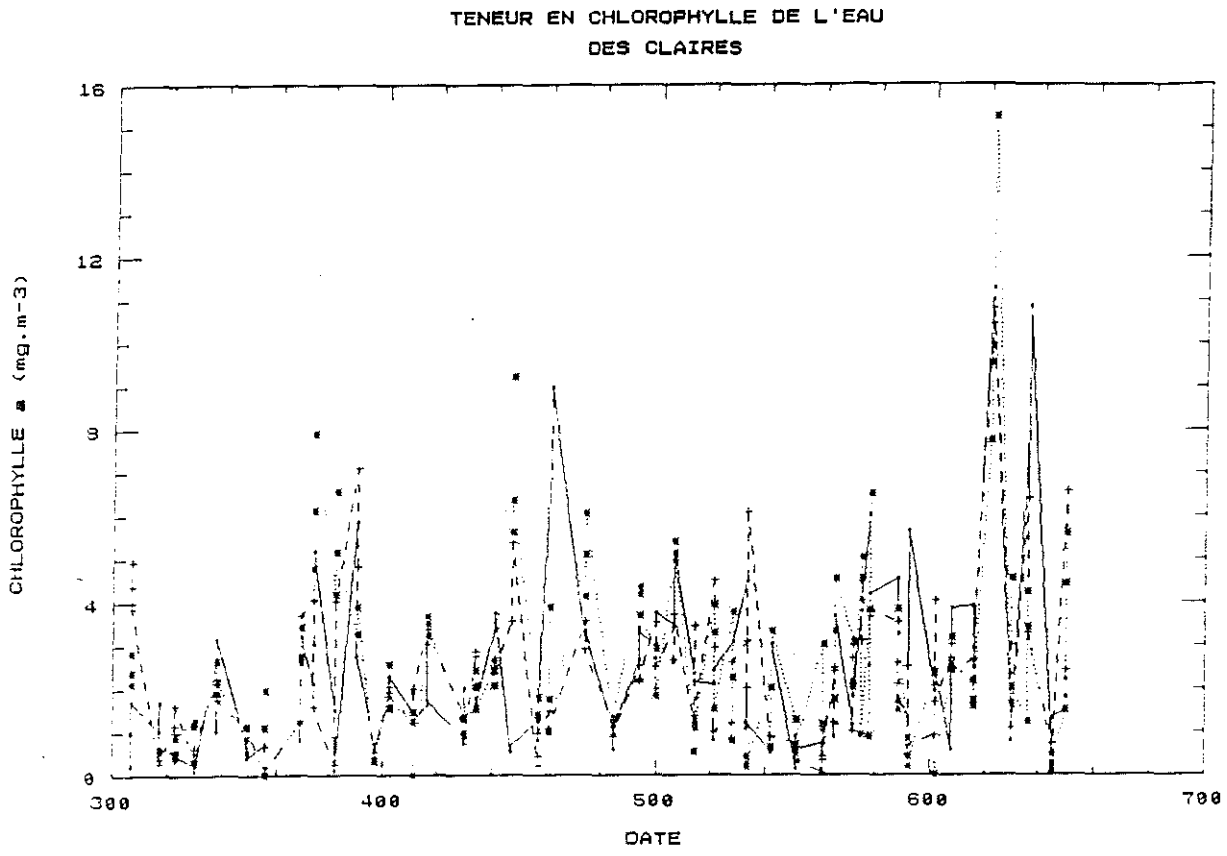


Figure 6 : Evolution des teneurs en chlorophylle a de l'eau des 3 bassins expérimentaux.

Les phéopigments (fig. 7), avec une moyenne annuelle de 3,1 mg/m3 sont significativement plus abondants que la chlorophylle et la même observation se vérifie pour les 3 claires. La variabilité est encore plus prononcée que pour la chlorophylle. Il semble qu'il existe une saisonnalité, cependant les moyennes trimestrielles successives ne diffèrent pas significativement, par suite de cette variabilité très importante.

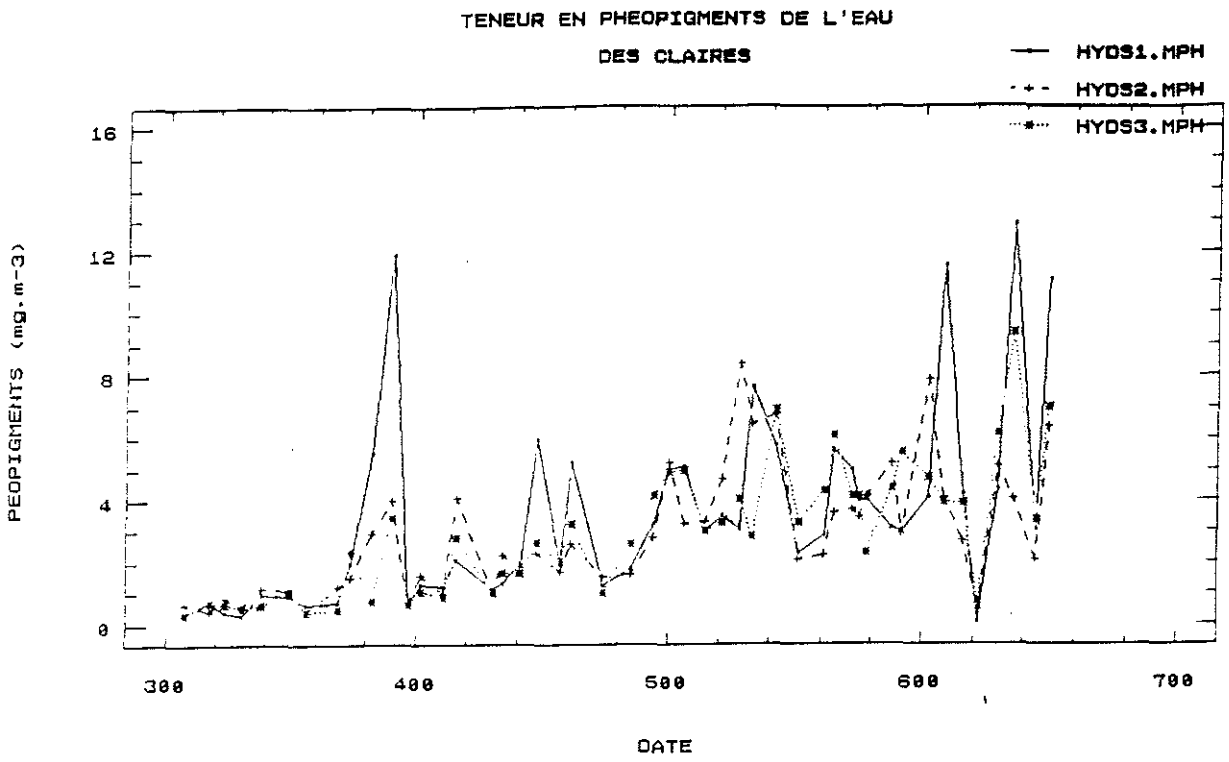


Figure 7 : Evolution des teneurs en pigments dégradés (phéopigments) de l'eau des 3 bassins expérimentaux.

L'analyse de ces données par la méthode des composantes principales permet d'obtenir des informations synthétiques sur les relations existants entre les différentes variables étudiées. Une analyse globale portant sur les trois claires montre que les trois premiers axes expliquent 72,9 % de la variation totale et le quatrième axe 7,6 %. L'étude des variables montre que la température, le temps, la salinité et les phéopigments sont fortement corrélés avec l'axe 1 (fig. 8). Cet axe est une image de la variance associée dans l'ordre décroissant à la teneur énergétique, à la température, aux composés biochimiques, puis aux phéopigments et à la salinité. A l'axe 2 sont associées les différentes fractions du seston, puis la valeur énergétique. On remarquera surtout la très forte corrélation de la chlorophylle avec l'axe 4 (65 % de la variance associée). Cependant, cette variable ne contribue que très faiblement aux trois premiers axes (7,6 %, puis 13,6 % et 9,3 %). La chlorophylle se distingue donc très nettement des autres variables, y compris des phéopigments, ce qui indique qu'il existe des différences de comportement entre les populations phytoplanctoniques à forte teneur en chlorophylle a, supposées en bon état physiologique et la présence de fortes teneurs en phéopigments, formes dégradées des pigments photosynthétiques.

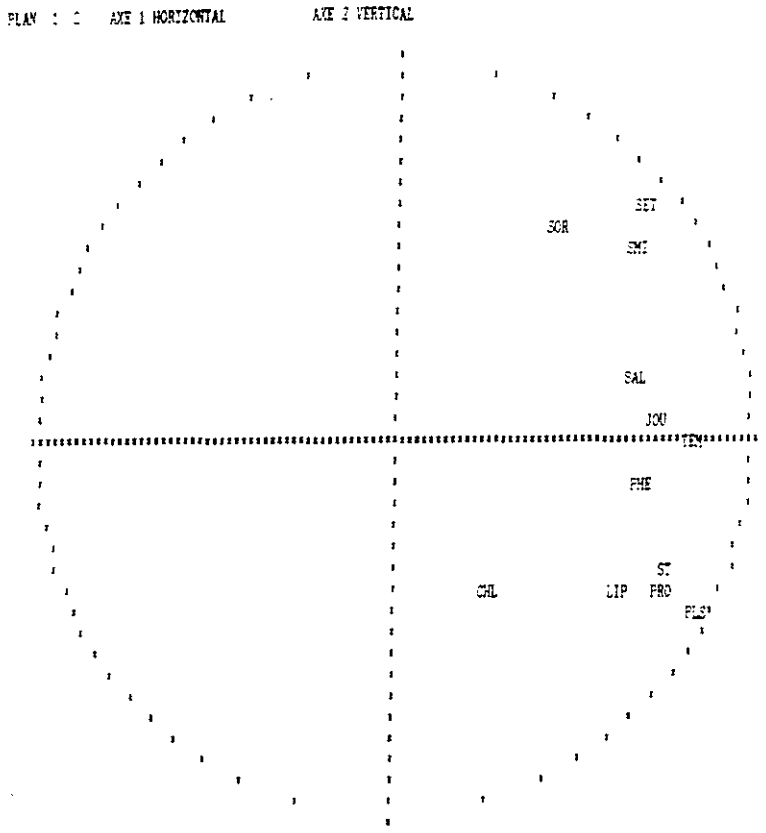


Figure 8 : Représentation des variables sur les 2 premières composantes principales, calculées sur les 3 bassins expérimentaux. TEM = Température, SAL = Salinité, SET = Seston total, SOR = Seston organique, SMI = Seston minéral, PRO = Teneur en protéines du seston, LIP = Teneurs en lipides du seston, SP = Teneurs en sucres totaux du seston, PLS = Valeur énergétique du seston, CHL = Teneur en chlorophylle a, PHE = Teneur en phéopigments.

3.3. Evolution des individus

3.3.1. Performances de croissance

Les courbes de croissance en longueur, reportées sur la figure 9. montrent que la taille de 35 mm (qui est actuellement la taille de commercialisation) a été atteinte en 220 jours d'élevage en claire, avec une bonne homogénéité entre les bassins. Si l'on tient compte de la période préalable d'élevage larvaire et de prégrossissement intensif, cette taille commerciale a donc été obtenue en 1 an. On observe par la suite, un ralentissement de croissance, qui correspond à la

période estivale, puis une reprise à l'automne, lors du dernier prélèvement. Les tailles moyennes sont alors comprises entre 38 et 42 mm à une période qui est celle du début de la commercialisation.

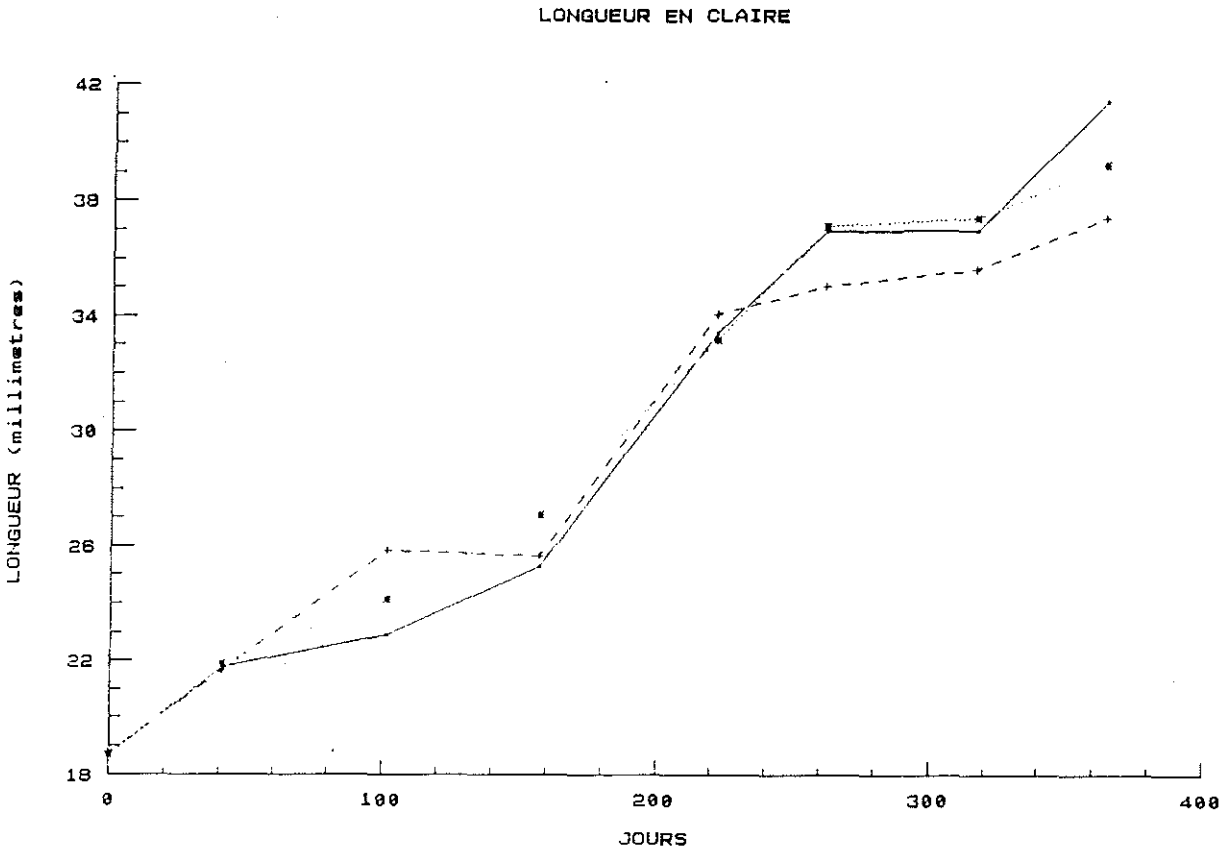


Figure 9 : Evolution de la longueur (hauteur) moyenne des individus dans les 3 bassins expérimentaux.

Le poids vivant individuel est de 6 g en fin de printemps, pour atteindre 8 à 11 g à l'automne. Le même arrêt estival de croissance est observé (fig. 10). La diminution du poids sec des chairs, qui s'effectue au même moment, révèle une période d'émission des produits sexuels survenant en fin de printemps (claires 1 et 2) ou en début d'été (claire 3). Des observations effectuées sur les échantillons ramenés au laboratoire confirment ces dates de maturation et de ponte. La diminution généralisée de l'indice de condition (fig. 11) est un autre élément qui démontre l'importance de ces émissions. Celles-ci se répartissent entre le 220ème et le 320ème jour pendant toutes la période estivale et même au-delà (claire n° 3).

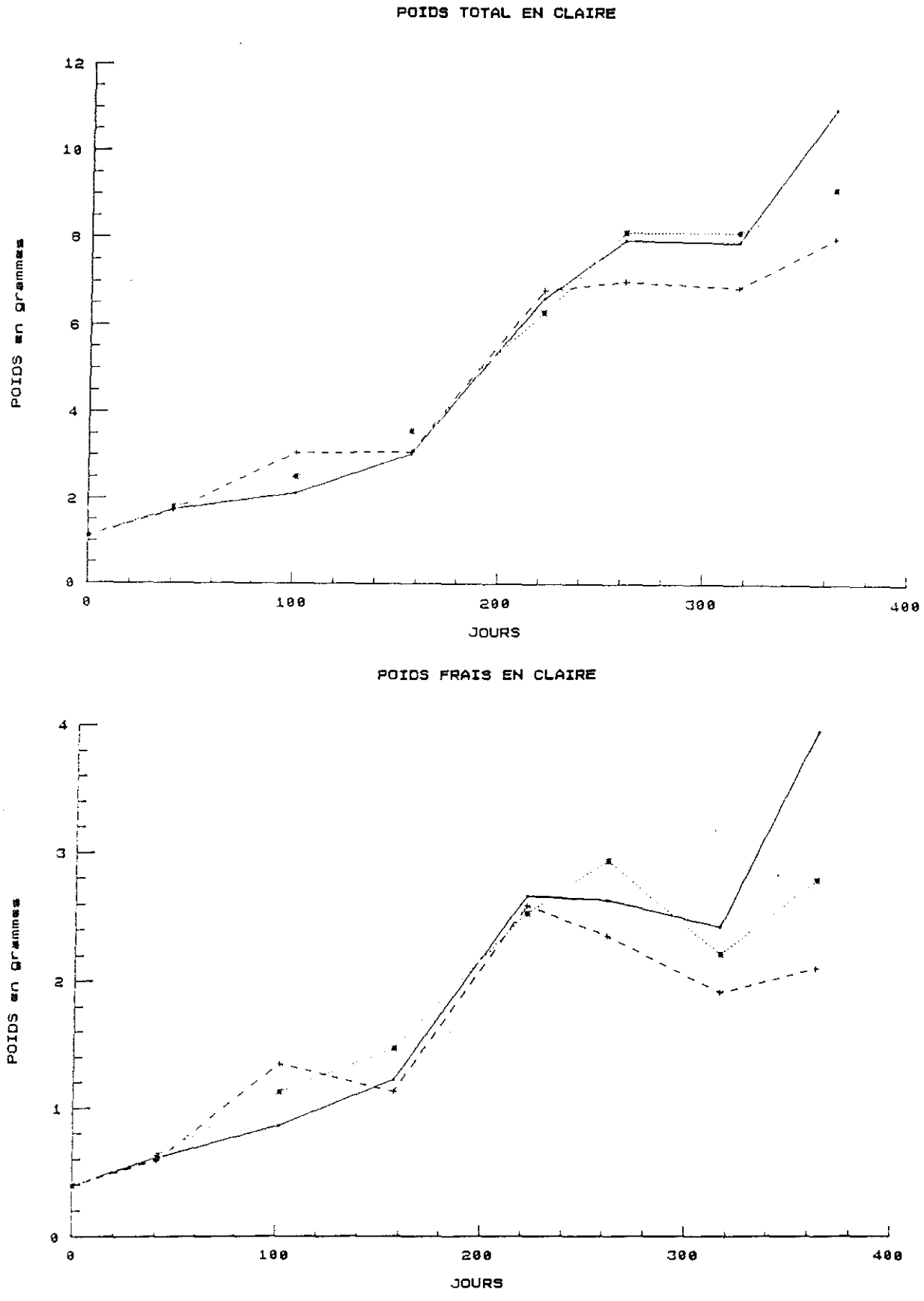
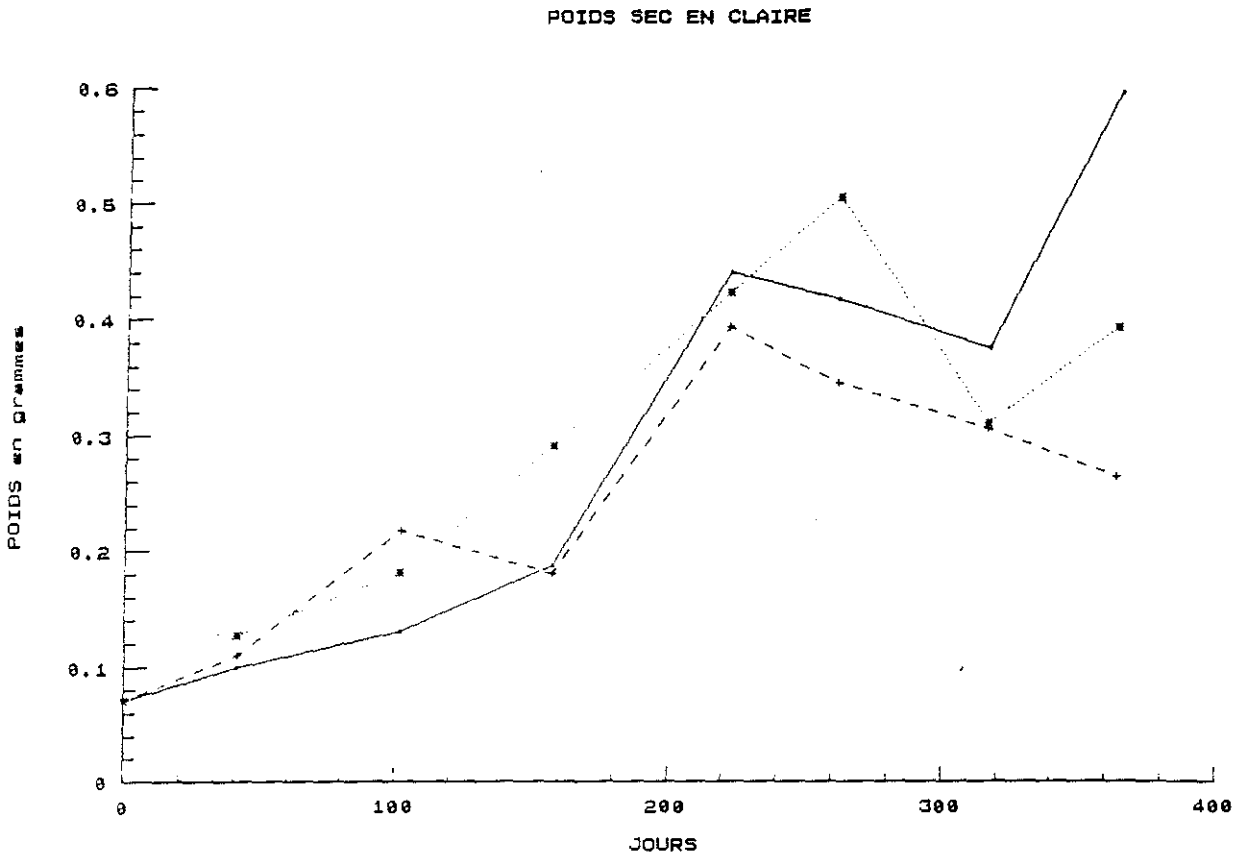


Figure 10 : Evolution des paramètres de croissance pondérale des individus dans les trois bassins expérimentaux. 10 a : poids total vivant, 10 b : poids des chairs.



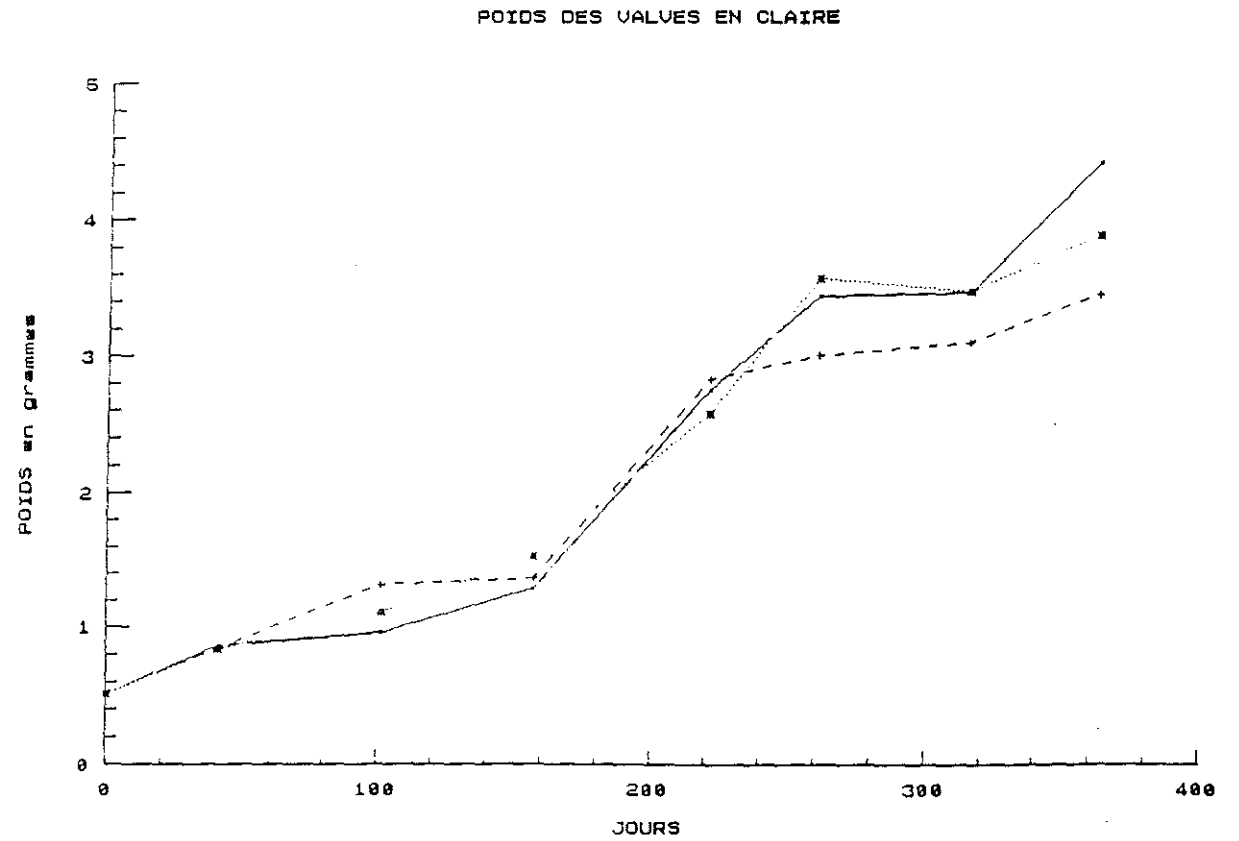


Figure 10 : Evolution des paramètres de croissance pondérale des individus dans les trois bassins expérimentaux. 10 c : poids des chairs desséchées par lyophilisation, 10 d : poids des valves.

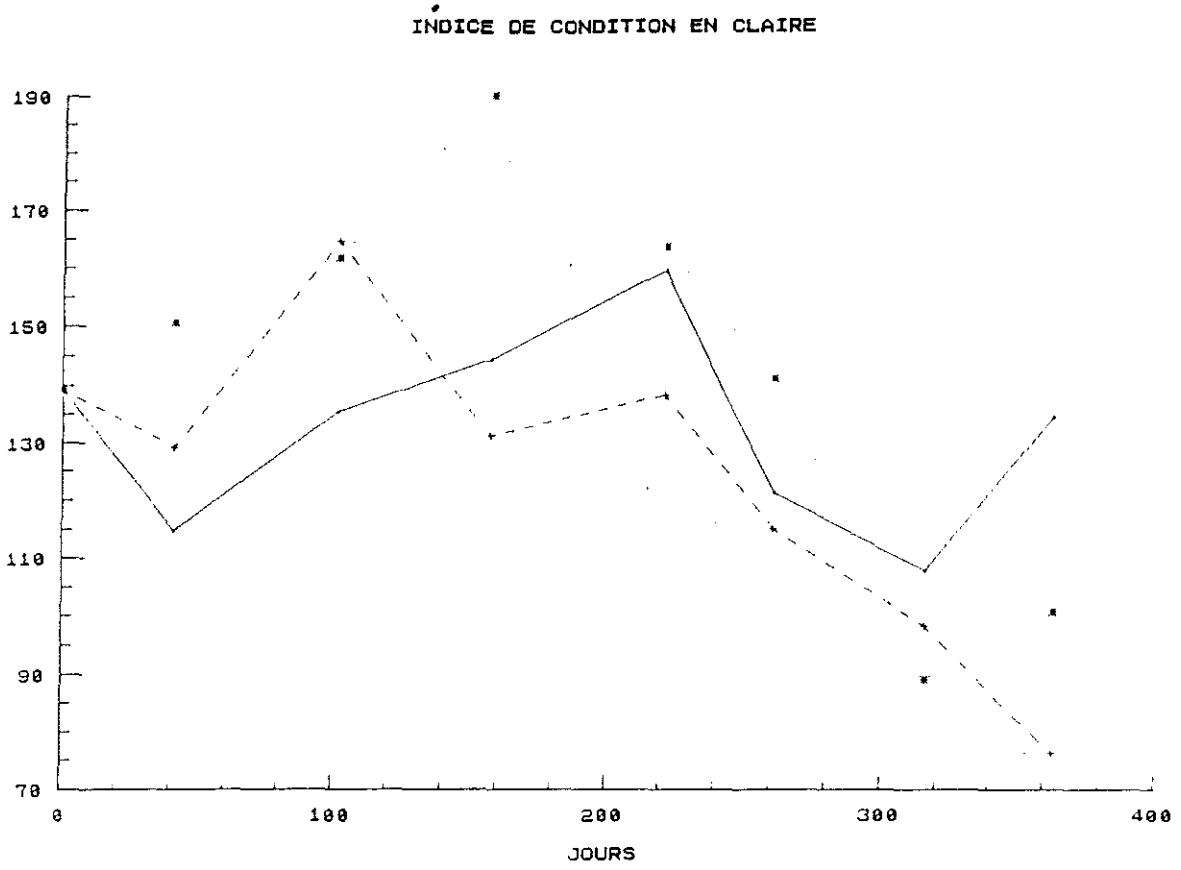
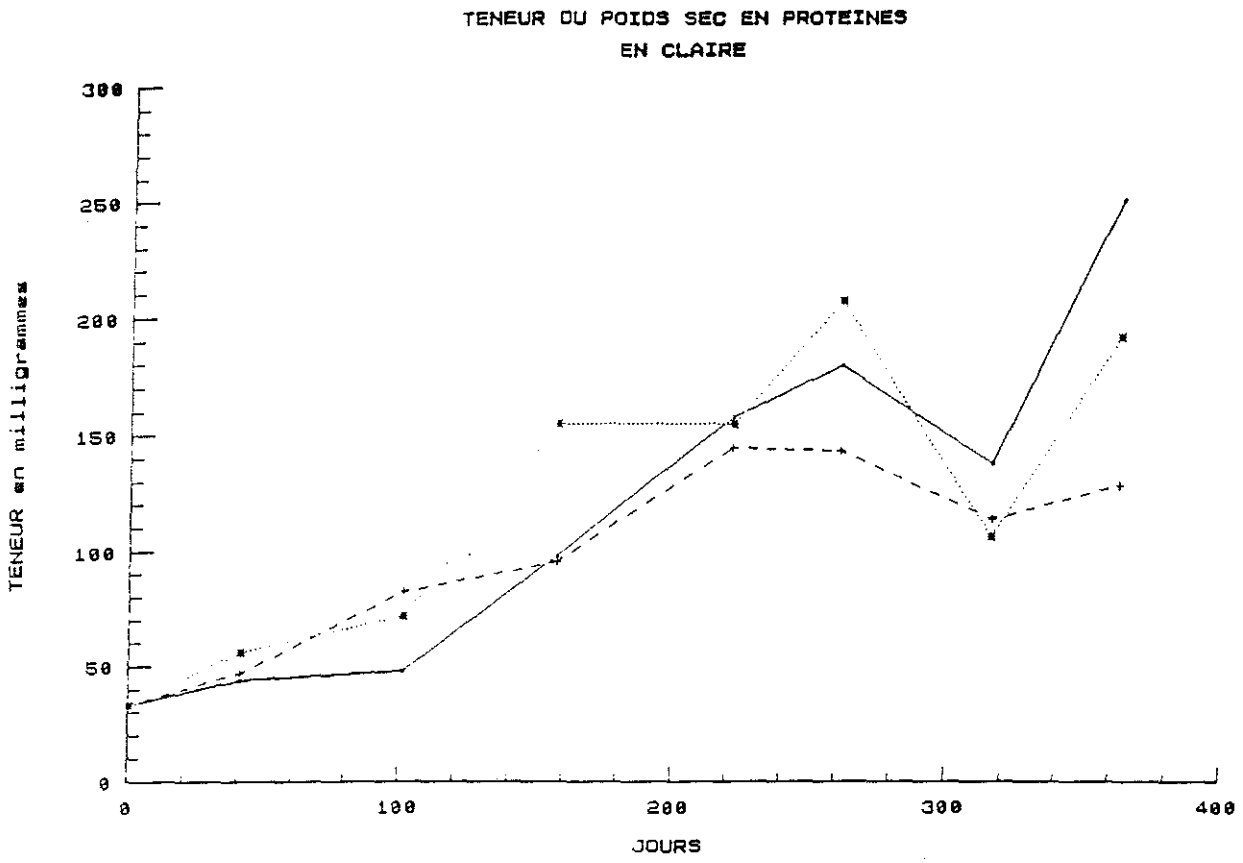


Figure 11 : Evolution de l'indice de condition des individus (100 x poids sec/des chairs/poids de la coquille) dans les 3 bassins expérimentaux.

L'accroissement des valves (fig. 12) subit un arrêt à la même période. Le poids des valves est, en moyenne, légèrement supérieur à celui de la chair non desséchée.

3.3.2. Evolution des composés biochimiques

Des particularités notables ont été observées pour les composants habituellement mesurés chez les bivalves (fig. 12). En effet, un rapport moyen de 1 à 8 est mesuré entre les quantités de lipides et les quantités de protéines, et de 1 à 36 entre les glucides et les protéines. D'autre part, le glycogène souvent abondant chez les mollusques en conditions nutritives favorables, ne représente ici que 15 à 20 % des teneurs en glucides totaux (fig. 12c). Les fluctuations larges observées durant le cycle ne sont peut-être que la conséquence du fait que la méthode de dosage employée est à la limite inférieure de sa sensibilité. Quoi qu'il en soit, ce composé est présent, tout au long du cycle, en quantités extrêmement faibles, jamais supérieures à 1 mg par individu.



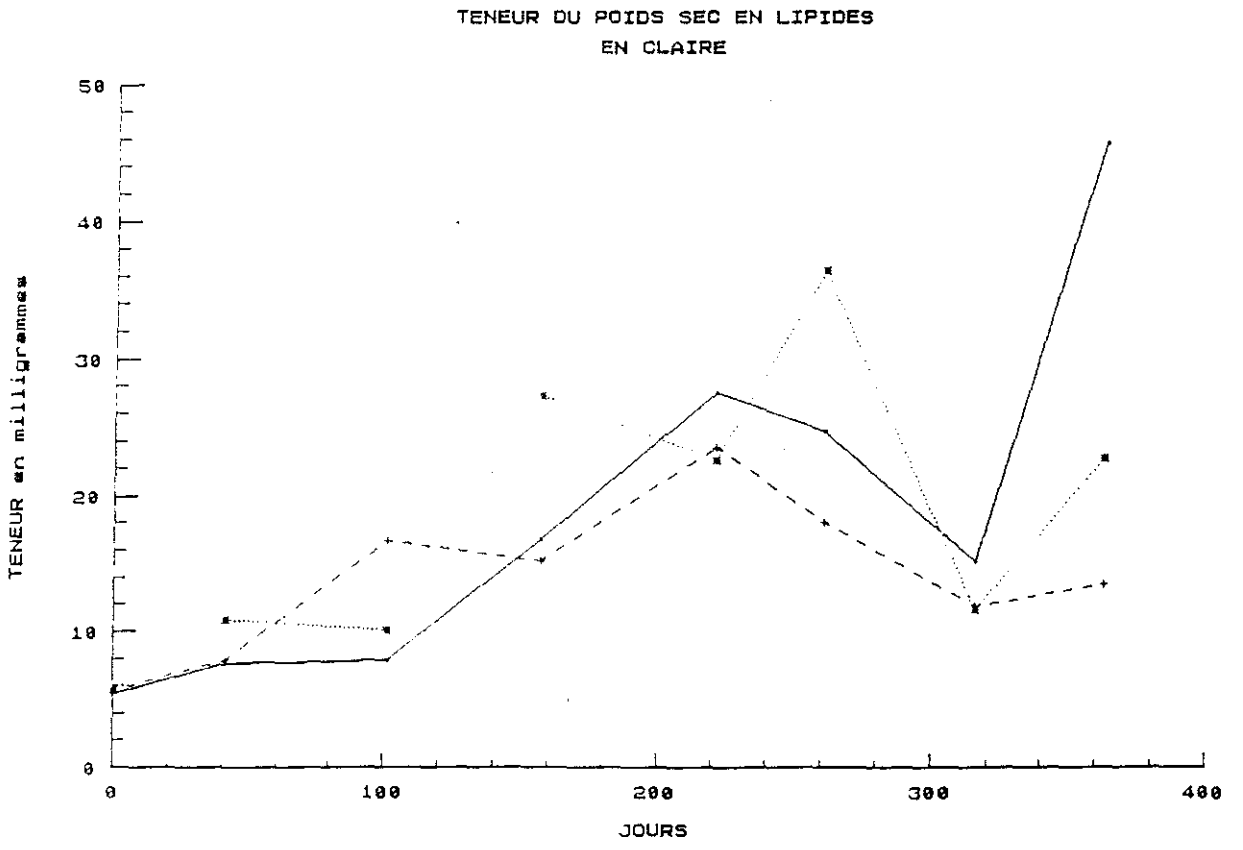
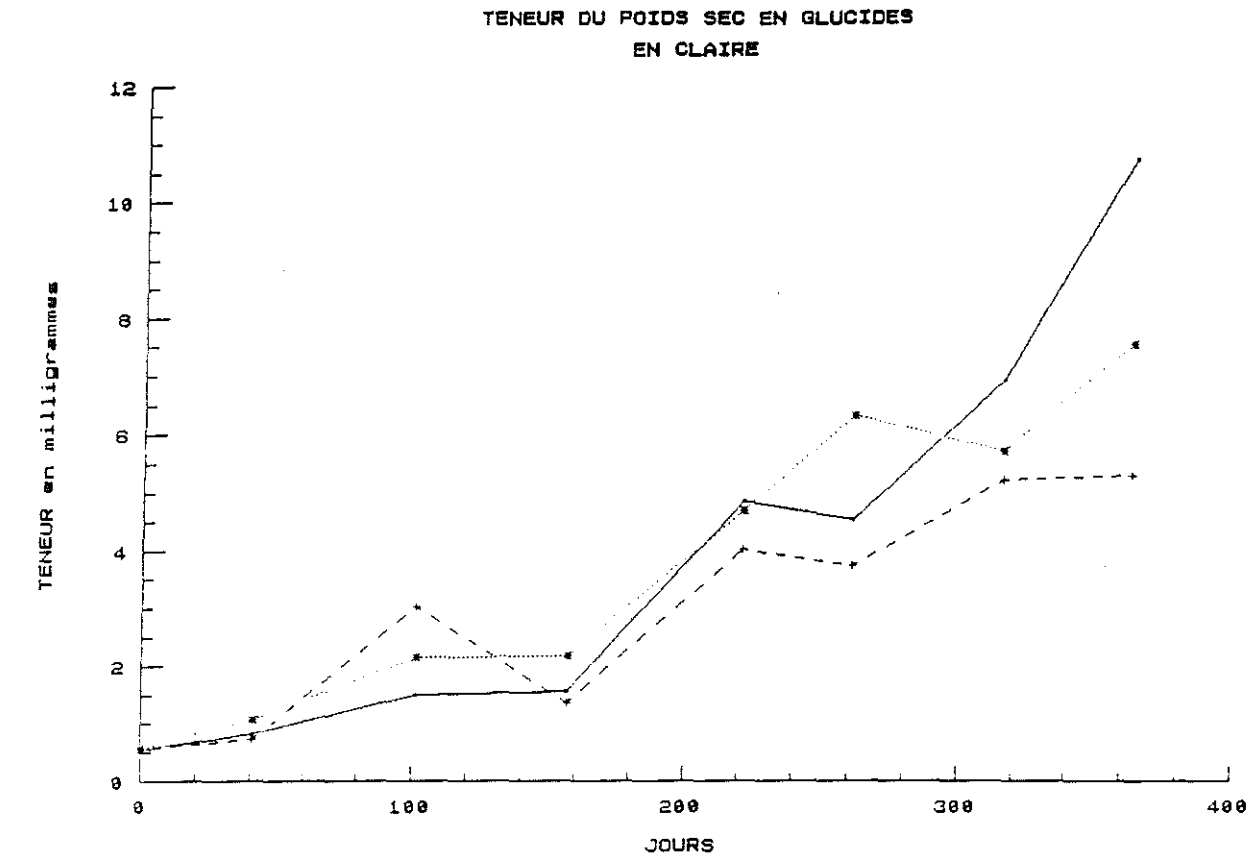


Figure 12 : Evolution des quantités des différents composés biochimiques accumulés par l'animal au cours des cycles d'élevage. 12 a : protéines, 12 b : lipides totaux.



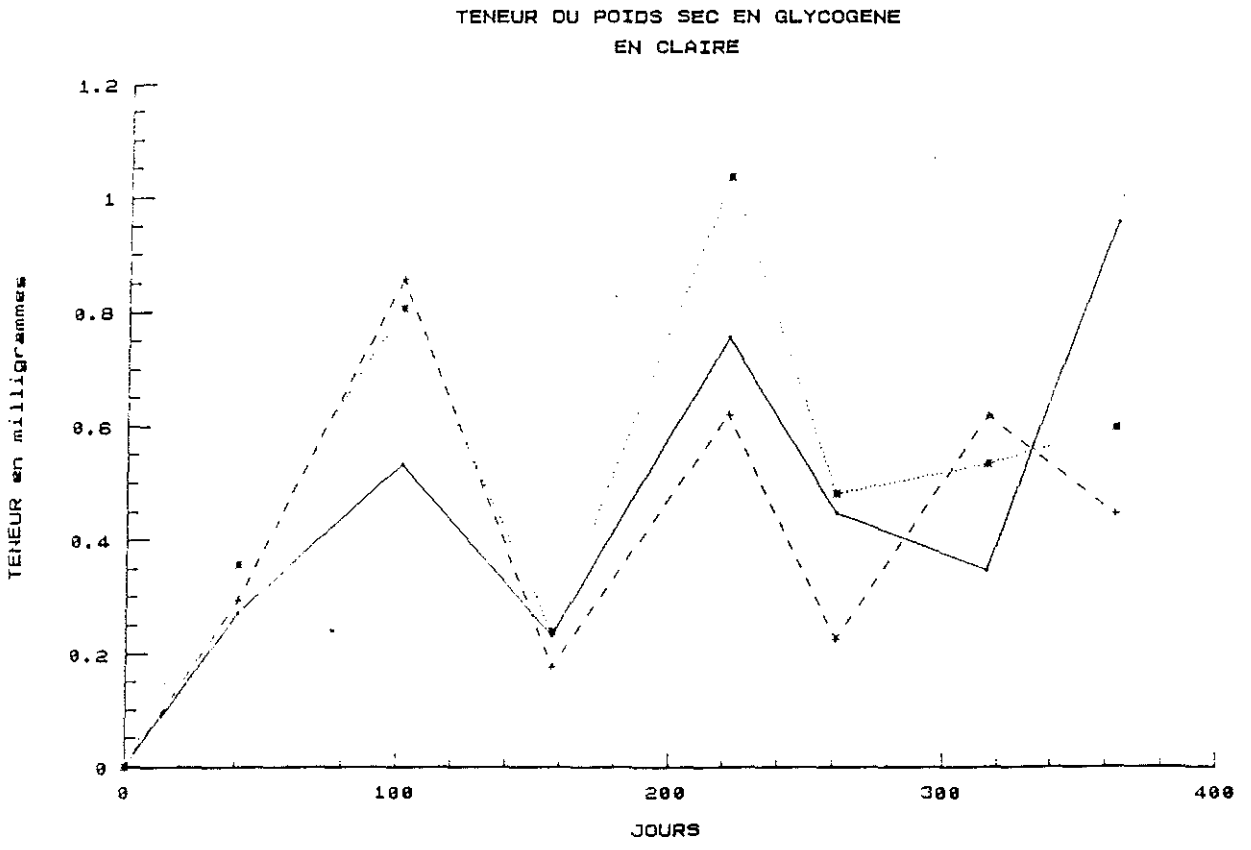


Figure 12 : Evolution des quantités des différents composés biochimiques accumulés par l'animal au cours des cycles d'élevage. 12c : glucides, 12d : glycogène.

L'accumulation de protéines (fig. 12a) suit d'assez prés l'évolution du poids sec dans les différentes claires. La part majeure que joue ce composé dans la composition biochimique globale, masque presque totalement les éventuels changements d'implication que celui-ci pourrait jouer dans les fonctions du cycle biologique.

Les quantités de lipides (fig. 12b) montrent des variations plus marquées. On observe notamment une accentuation des fluctuations au cours de la période de maturation sexuelle, où ceux-ci sont accumulés, puis leur chute brutale consécutive à l'émission des gamètes (plus de 50 % de diminution) et enfin une augmentation également brutale, quoique différente selon les claires.

On a vu plus haut que les quantités de glycogène (fig. 12d) étaient extrêmement faibles, ce qui ne permet pas de supposer qu'il existe une implication majeure de ce composant dans le cycle biologique, notamment comme substance de réserve énergétique, ou comme substrat métabolique permettant d'élaborer les composés lipidiques que l'on a observé en quantités bien supérieures à la fin de la marturation des gamètes.

3.4. Variabilité entre les bassins d'élevage

Si des analyses effectuées sur les valeurs des paramètres mesurées à la fin du cycle permettent de conclure à des différences significatives entre les bassins, une analyse des évolutions moyennes constatées tout au long du cycle montre que celles-ci ne diffèrent pas d'un bassin à l'autre et que donc la valeur finale ne correspond qu'à un moment particulier de cette évolution.

IV. DISCUSSION

La réalisation d'expériences en milieu naturel amène a être confronté à la signification que revètent des résultats biologioques obtenus sur une période particulière de temps, et à leur reproductibilité dans d'autres conditions.

Les résultats présentés sur l'hydrobiologie du milieu montrent que les traits climatiques propres à la période allant de l'automne 89 à l'automne 90 se retrouvent dans le milieu d'élevage. Cette période a été marquée par un hiver doux, avec un seul épisode de gel et des tempêtes extrêmement violentes, avec 6 coups de vents supérieurs à 100 km/h et un maximum à 137 km/h, le 3 février

1990 (Bodoy et al., 1990). Les évènements se retrouvent au niveau des paramètres mesurés, avec la chute de température à + 1°C alors que toutes les autres mesures étaient supérieures à 4°C et avec le caractère erratique des teneurs en seston. Les pics observés sont du même ordre de grandeur que les plus fortes valeurs observées dans le bassin de Marennes-Oléron. Ceci est dû à la remise en suspension du sédiment des bassins et à l'érosion des berges, sous l'action des forts clapots soulevés lors de ces coups de vents.

L'autre caractéristique de cette période réside plus dans la sécheresse printanière et estivale que dans les températures. Cette sécheresse s'est traduite par une forte évaporation notamment en été lorsque l'eau du marais est mal renouvelée par des marées de vives-eaux de relativement faible coefficient. Il en a donc résulté des salinités nettement supérieures à ce qui est habituellement observé dans ce type de milieu, sans qu'elles soient cependant exceptionnelles. L'espèce n'a pas paru incommodée par des salinités atteignant plusieurs fois 40 ‰. Il est vrai qu'il n'a pas été mesuré de variations brutales de ces paramètres, qui sont peut-être plus à craindre que des valeurs extrêmes, mais atteintes progressivement. C'est en tout cas les observations qui ont pu être faites sur la moule (Dardignac et al., 1990) soumis expérimentalement à de telles salinités extrêmes.

Le fonctionnement écologique du marais maritime commence a être mieux connu, notamment sur le plan de sa productivité biologique (Maestrini et al., 1990). Le cycle hydraulique très particulier qui le caractérise est à l'origine d'un fonctionnement périodique. En période de vives-eaux, ce marais est submergé, et les élevages profitent alors de la nourriture algale présente dans l'eau apportée. Mais, dés que la période de déchet (diminution des coefficients de marée) se produit, la nourriture apportée est épuisée très rapidement en 2 à 3 jours. Les teneurs en chlorophylle chutent brutalement, pour atteindre des niveaux inférieurs à 5 mg/m^3. La capacité de production primaire, qui est lié au recyclage des sels nutritifs importés, ne peut alors s'exprimer pleinement, car le broutage des herbivores est, en condition d'exploitation, supérieur à cette capacité de production. On rencontre alors, en période de confinement hydraulique des teneurs en pigments dégradés qui peuvent être supérieures aux teneurs en chlorophylle, mais qui restent du même ordre de grandeur. Dans le même temps, les particules minérales apportées par les marées se décantent, ce qui se traduit par un envasement progressif du milieu. Ces caractéristiques se traduisent par une capacité biotique réelle, mais cependant limitée. En l'absence d'intervention

visant à améliorer cette capacité biotique (stimulation de la production primaire, ou intensification par apport de nourriture fourrage) (Hussenot et Massé, 1989 ; Flamion et al., 1986) les biomasses de mollusques en élevage se trouvent limitées à des valeurs comprises entre 500 g et 1 kg/m^2 de bassin (Zanette et Garnier, 1981). Tout dépassement se traduit par une réduction des vitesses de croissance et des rendements.

Dans le cas présent, le fonctionnement des bassins tel qu'il a été observé, ne déroge pas à ces règles, sauf peut-être pour les teneurs en matériel particulaire qui sont anormalement élevées. Du fait du jeu des marées, les bassins ont été placés en situation de confinement à peu près les 2/3 du temps, ce qui résulte d'une gestion hydraulique classique du marais maritime. Le comportement très différent des chlorophylles et des phéopigments, tel qu'il a été révélé par l'analyse en composante principale, résulte pour beaucoup de cette gestion : les chlorophylles ne sont abondantes que pour les prélèvements effectués au tout début des périodes de confinement, alors que les phéopigments présentent une variabilité temporelle nettement plus réduite (fig. 6 et 7). Ceci explique l'apparente indépendance des chlorophylles, qui dans l'ACP ne sont bien représentées que par la quatrième composante principale, et qui sont sous la dépendance de l'alimentation périodique des bassins. Ceci, bien entendu, ne peut se vérifier que dans des conditions d'élevage, où les mollusques présents consomment rapidement les populations phytoplanctoniques.

On peut se poser la question de savoir si les conditions climatiques particulières à la période 1989-1990 ont pu avoir une incidence sur le fonctionnement écologique du marais; L'extrême variabilité des paramètres en question ne permet cependant pas de mettre en évidence des différences significatives avec les données existantes. Celles-ci sont par ailleurs un peu disparates, notamment en ce qui concerne les conditions extrêmes de milieu.

Si la croissance de certains pectinidés comme la coquille St Jacques a été relativement bien étudiée (Hodgson et al., 1988), celle du pétoncle noir n'a guère fait l'objet d'études qu'en rade de Brest (Conan et Shafee, 1978 ; Shafee, 1980), dans les pertuis charentais (Letaconnoux et Audouin, 1956) et plus récemment dans les rias espagnoles (Concela et al., 1991).

La comparaison des résultats obtenus en claires, par rapport aux gisements naturels de la rade de Brest montre que la croissance dans les conditions

expérimentales est 2 fois plus rapide que dans ce milieu naturel. Shafee (1980) mentionne, pour des individus âgés de 2 ans, un poids sec de 0,5 g, alors que le même poids a été obtenu en 1 an en claire. De même pour la taille, Conan et Shafee (1978) ont mesuré toujours au bout de 2 ans une taille de 30 mm environ, par différentes méthodes, alors qu'une taille de 35 mm a été obtenue en claire, en 1 an seulement.

Sur un site plus proche du lieu d'expérimentation, à savoir les gisements du pertuis breton, Letaconnoux et Audouin (1956) ont mesuré des tailles au deuxième anneau de 32 mm, qui correspondent à des individus âgés de 18 mois. Ceci indique également une croissance nettement plus longue que dans les claires. Seuls les résultats obtenus par Cancelo et al. (1991) dans les rias de Galice, à partir d'un élevage en filière, sont comparables aux notres. Les auteurs indiquent en effet qu'une taille de 40 mm était constatée au bout de quatorze mois d'élevage à partir d'individus mesurant initialement 6,5 mm. Les gisements naturels de pétoncles, constitués d'individus fixés sur le fond, ne semblent donc pas bénéficier de conditions particulièrement favorables à leur croissance. Il est vrai que les conditions thermiques mentionnées par ces auteurs semblent être plus froides que celles rencontrées dans les marais de Charente-Maritime ou dans les rias galiciennes, ce qui peut expliquer partiellement les différences de croissance entre ces milieux. Un autre facteur, de caractère nutritionnel, doit également être pris en compte. Pour peu que les conditions de biomasses en claire mentionnées plus haut soient remplies, le marais maritime représente un site optimal pour la croissance des mollusques filtreurs. Ceci se vérifie aussi bien pour l'huître (Zanette, 1980) que pour la palourde (Goulletquer et al., 1988). Les rias galiciennes sont également connues pour être des milieux très productifs, produisant notamment, dans les différents secteurs, en moyenne 200 000 tonnes de moules par an (Antona et Pacquotte, 1991). Les résultats partiels obtenus sur la filière de mer ouverte installée dans le pertuis breton, laissaient présager des résultats comparables à ceux mentionnés dans ces rias par Concela et al. (1991).

Le cycle biologique, tel qu'il a pu être observé au cours de l'expérimentation ou dans la rade de Brest, semble assez constant. L'émission de gamètes débute en juin, et la structure des populations observée par exemple en rade de Brest (Shafee, 1980) indique que celle-ci peut se poursuivre, jusqu'à occasionner 2 recrutements par an, bien que ce cas ne soit pas général. L'émission des gamètes serait conditionnée d'après Shafee et Lucas (1980) par l'apparition de

températures supérieures à 16°C. Ces données recoupent les observations faites dans les conditions expérimentales.

L'effort de reproduction présenté ici comme le pourcentage pondéral des gamètes émis, n'a pas dépassé 40 %, mais la moyenne pour les trois bassins est de 15 %. Cet effort de reproduction est connu pour s'accroître avec l'âge (Shafee et Lucas, 1980). Il est cependant très nettement supérieur à ce qui a pu être observé sur les populations de la rade de Brest, où les individus du groupe 1 (âgés donc de 18 mois environ) montraient un effort de reproduction de seulement 1,77 % et 3,28 % pour la totalité des groupes (Shafee et Lucas, 1982). Les conditions thermiques, mais surtout trophiques propres à chaque site y sont certainement pour beaucoup dans l'explication des différences observées, que ce soit sur le plan quantitatif ou sur le plan qualitatif, avec le cycle de réserves glycogéniques (Shafee, 1981).

Cependant, de manière plus générale, le pétoncle noir consacre une part beaucoup plus restreinte de son bilan énergétique à la reproduction, que l'huître par exemple (Héral et al., 1986) ou la moule. Sa stratégie de reproduction diffère donc notablement, dans la mesure où le nombre de gamètes émis, et leur valeur énergétique, sont beaucoup plus restreints. Cependant, la faible durée de vie ne permet pas d'affirmer que l'espèce ait adopté une stratégie de reproduction de type K.

Le faible effort de reproduction, s'il rend plus malaisé le maintien des populations naturelles, a cependant un avantage dans les conditions d'élevage : une plus grande partie de l'énergie assimilée est consacrée à la croissance, au lieu d'être dissipée sous forme de gamètes. En l'absence d'études plus complètes sur les bilans énergétiques, ceci laisse présager des rendements de production plus favorables. D'autre part, l'intérêt d'une stérilité induite par la polyploïdisation (Baron et al., 1989) s'avère plus limité que pour les espèces opportunistes que sont l'huître creuse (*Crassostrea gigas*), la moule (*Mytilus edulis*) ou la palourde d'élevage européenne (*Ruditapes philippinarum* et *R. decussatus*).

V. CONCLUSIONS

Le pétoncle noir s'est avéré pouvoir faire l'objet d'un cycle de production en élevage aquacole sur une période d'un an. Compte tenu des périodes automnales

de commercialisation, ce cycle devrait cependant durer, en conditions réelles, environ 15 mois, y compris la période larvaire.

Les différentes phases d'élevage, sur ce cycle, n'ont pas fait l'objet de difficultés techniques particulières, que ce soit pour la période de reproduction, de prégrossissement ou d'élevage. Il faut cependant rappeler que des mortalités de 80 % se sont produites à l'occasion du transfert entre sites de prégrossissement et d'élevage. De même sur des lots expérimentaux, d'autres mortalités ont été observées (Oheix, 1990). Elles ont fait l'objet pour partie, d'observations histologiques qui sont présentées en annexe. Il faut enfin mentionner que cette espèce subtidale supporte très mal toute émersion tant soit peu prolongée, supérieure à 1 heure.

L'espèce en question apparaît donc plus fragile que les espèces de mollusques traditionnellement élevées. Il est donc impératif de pouvoir connaître de façon approfondie, les capacités de résistance et la physiologie de l'espèce, avant de pouvoir se prononcer sur l'opportunité d'un développement aquacole, qui serait actuellement prématuré. Les observations épidémiologiques devront être poursuivies à chaque occasion, de façon à établir une liste des agents infectieux et des parasites habituellement rencontrés. Ultérieurement, et en fonction des connaissances acquises, la technologie d'élevage pourra être développée, en coopération avec les centres de développement et les milieux professionnels.

Plusieurs perspectives de recherches méritent également d'être abordées, après que les questions primordiales mentionnées plus haut aient été résolues. La première a trait au rendement énergétique de l'espèce. Sa capacité à transformer la nourriture potentielle en croissance de tissus devrait être examinée comparativement aux espèces de mollusques exploitées. Ceci concerne aussi bien l'élevage extensif en bassins de terre ou en mer ouverte, que l'élevage intensif des mollusques, avec apport de nourriture phytoplanctonique produite par ailleurs. En effet, cet élevage intensif commence à se développer en plusieurs points du littoral atlantique bénéficiant des conditions adéquates, et il doit donc être pris en compte.

Une deuxième perspective concerne la mer ouverte, qui fait de par le monde l'objet de cultures en suspension pour plusieurs espèces de Pectinidés. L'expérience obtenue sur la baie de l'Aiguillon est trop fragmentaire pour en tirer des conclusions. Toutefois, on remarquera que ces sites neufs n'ont pas encore fait

l'objet de développements massifs, et qu'ils offrent donc des conditions de croissance non limitantes. Les aspects technologiques demeurent alors prépondérants dans ce type de site.

Enfin, l'aspect économique ne doit pas être négligé, notamment au moment de juger de l'opportunité du lancement d'une filière de production nouvelle. En effet, la création d'une filière de production ne peut s'envisager que si son développement est assuré à moyen terme. Mais, d'autres formes de production, comme la pêche de gisements naturels, peuvent venir ruiner un développement aquacole, qui suppose des investissements financiers. Cette situation s'est produite récemment pour la palourde, avec une diminution de la production aquacole pour des raisons économiques liées à l'exploitation de gisements naturels ayant apparu récemment. Dans le cas du pétoncle, les gisements de la rade de Brest représentent actuellement l'unique source d'approvisionnement, avec environ 300 tonnes. Cependant, les pertuis charentais, dans les années 60, faisaient l'objet d'une pêche atteignant 2 000 tonnes par an. Cette ampleur suffirait à compromettre une filière aquacole en cours de développement. Or, les prospections réalisées régulièrement ont montré récemment une reconstitution, extrêmement limitée, mais réelle de ces gisements naturals, alors qu'ils avaient quasiment disparu. Leur évolution devra être suivie régulièrement, afin de concilier si possible les deux types de productions. La vrai question concerne d'ailleurs l'organisation de la mise en marché selon les différents modes de production, mais ce propos dépasse les objectifs du présent travail.

VI. BIBLIOGRAPHIE

Anonyme, 1989, 1990. Bulletin climatologique mensuel de la Charente-Maritime. Service Départemental Météorologique de la Charente-Maritime, n°269, 270, 271 et 272.

Antona M., Pacquotte Ph., 1991. La mytiliculture en Hollande et en Espagne. *Equinoxe*, 33 : 4-10.

Avia D., 1986. Le marché du pétoncle. Rapport FIOM, 44 p.

Baron J., Diter A., Bodoy A., 1989. Triploidy induction in the black scallop (*Chlamys varia*) and its effects on larval growth and survival. *Aquaculture*, 77 : 103-111.

Baud J.P., Bacher C., 1990. Use of saline ground water for intensive rearing of *Ruditapes philippinarum* juveniles in a nursery system. *Aquaculture*, 88 : 157-178.

Bodoy A., Garnier J., Heurtebise S., 1990. L'élevage hivernal du pétoncle noir *Chlamys varia* sur les côtes de Charente-Maritime. RIDRV-90-36-RA/LA TREMBLADE.

Bodoy A., Prou J., Berthomé J.P., 1986. Etude comparative de différents indices de condition de l'huître creuse *Crassostrea gigas*. *Haliotis*, 15 : 173-182.

Conan G., Shafee M., 1978. Growth and biannual recruitment of the black scallop, *Chlamys varia*, in Lanveoc area, bay of Brest. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 35 : 59-71.

Concela M., Guerra A., Fernandez A., Gabin C., Fernandez J., 1991. *Chlamys varia* cultivé en engin flottant. Relations de croissance. *Haliotis*, 21 : sous presse.

Dardignac-Corbeil M.J., Bodoy A., Garnier J., Heurtebise S., Legrand J., 1990. Etude de la mortalité des moules dans le pertuis breton en 1989. Rapport interne IFREMER, RIDRV-90-32-RA/LA ROCHELLE-L'HOUMEAU, 27 p.

Deslous-Paoli J.M., 1980. Contribution à l'étude de la biologie de l'huître *Crassostrea gigas* dans le bassin et les claires de Marennes-Oléron. Thèse de Doctorat de 3ème cycle, Université d'Aix-Marseille II, 121 p.

Flamion G., Héral M., Robert M., 1986. Enrichissements expérimentaux de claires du bassin de Marennes-Oléron en période estivale. *Rev. Trav. Inst. Pêches Marit.* : sous presse.

Goulletquer P., Nedhif M., Héral M., 1988. Production de palourdes japonaises *Ruditapes philippinarum* (Adams et Reeve) en bassin semi-fermé. Approches énergétiques et relations trophiques. *Aquaculture*, 74 : 331-348.

Héral M., Deslous-Paoli J.M., Prou J., 1986. Influence du climat sur le recrutement et sur la production d'huîtres cultivées (*Crassostrea angulata* et *Crassostrea gigas*) dans le bassin de Marennes-Oléron (France). CIEM CM Mariculture Committee F/40 : 20 p.

Hodgson C.A., Bourne N., Mottershead D., 1988. A selected bibliography of scallop litterature. Canadian manuscript. *Can. Report of Fisheries and Aquatic Sciences* n° 1965 : 133 p.

Hussenot J., Massé J., 1989. Aquaculture en marais atlantique. Valorisation et diversification. *Aqua. Revue*, 24 : 9-14.

Letaconnoux R., Audouin J., 1956. Contribution à l'étude du pétoncle (*Chlamys varia* L.). *Rev. Trav. Inst. Pêches Marit.*, 20 (2) : 134-155.

Maestrini S.Y., De Lamare J.M., Harache Y., Hussenot J., Querellou J., Loste C., Masse J., Sourisseau B., 1990. Valorisation et diversification des sites aquacoles en eaux marines et saumâtres du territoire métropolitain français. *Equinoxe*, 33 : 20-31.

Oheix J., 1990. Croissance et mortalité du pétoncle noir (*Chlamys varia*) en élevage intensif. Rapport IFREMER. Stage Intechmer, 41 p.

Parsons T.R., Maita Y., Lalli C.M., 1984. A manual of chemical and biological methods for seawater analysis. Pergamon Press, Oxford, 173 p.

Shafee M.S., 1980. Application of some growth models to the black scallop *Chlamys varia*, from Lanveoc, Bay of Brest. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 43 : 237-250.

Shafee M.S., 1981. Seasonal changes in the biochemical composition and calorie content of the black scallop *Chlamys varia* (L.) from Lanveoc, Bay of Brest. *Oceanol. Acta*, 4 (3) : 331-341.

Shafee M.S., Lucas A., 1980. Quantitative studies on the reproduction of the black scallop, *Chlamys varia* (L.) from Lanveoc area (Bay of Brest). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 42 : 171-186.

Shafee M.S., Lucas A., 1982. Variations saisonnières du bilan énergétique chez les individus d'une population de *Chlamys varia* (L.) : Bivalvia pectinidae. *Oceanol. Acta*, 5 (3) : 331-338.

Zanette Y., 1980. Intervention de quelques facteurs dans l'évolution de la biomasse des claires de Marennes-Oléron. CIEM, CM 1980/L : 45, 11 p.

Zanette Y., Garnier J., 1981. Etude préliminaire de l'impact des huîtres *Crassostrea gigas* (Thunberg) en élevage, sur la biomasse des microorganismes des claires de Marennes-Oléron. Note CIEM, CM 1981/L : 14, 17 p.

2EME PARTIE

ETUDE HISTOLOGIQUE ET ULTRASTRUCTURALE D'UNE MICROSPORIDIE PARASITE DU PETONCLE *CHLAMYS VARIA*

V. NOLLET et D. CHAGOT

I. INTRODUCTION

Chlamys varia, mollusque bivalve de la famille des pectinidés, communément appelé pétoncle noir, était largement distribué sur les côtes atlantiques avant les années 60 (CONAN, 1978). A partir de cette époque, la densité des bancs a diminué très rapidement (BARON, 1988). L'espèce a quasiment disparu des pertuis charentais et sa production est actuellement entièrement concentrée sur la rade de Brest, même si 70% de cette pêche est consommée dans le sud ouest (AVIA, 1986).

Bien que son chiffre d'affaires ne représente que moins de 1% de la conchyliculture, le pétoncle n'en demeure pas moins important pour l'économie de la rade de Brest. C'est pourquoi des opérations de repeuplement, ayant pour but d'augmenter la production de 100 T/an, y sont actuellement menées. Celles-ci devraient porter le potentiel de production à [illegible] T/an (AVIA, 1986).

D'autre part, de multiples éléments favorables ont conduit à considérer Chlamys varia comme potentiellement intéressant pour l'aquaculture dans la région Poitou-Charentes (BARON, 1988). On peut citer pour exemple que:

- Le marché du pétoncle est très important en Poitou-Charentes (AVIA, 1986).- La reproduction artificielle en écloserie est maîtrisée (LE PENNEC et DISS-MENGUS, 1987).
- Les essais d'élevage, qui ont débuté en 1989, révèlent que le cycle d'élevage peut être maîtrisé en un an et

demi (bien qu'il faille noter une grande fragilité au stade du grossissement) (BODOY et al.,1990).

- La présence dans le pertuis charentais d'une éponge encroûtante sur le pétoncle donne à celui-ci un aspect rouge caractérisant "le pétoncle rouge du Chapus", plus apprécié (FORESTER, 1979).
- Les pectinidés sont une des familles de bivalves à forte valeur marchande.

Toutefois, si l'on peut se permettre de considérer l'élevage du pétoncle comme une solution à envisager au problème de l'aquaculture, il ne faut pas oublier que la conchyliculture est aussi fragilisée par les aléas de la production, souvent en rapport direct avec les problèmes pathologiques. En effet l'élevage de l'huître portugaise a été entièrement décimé suite à une virose (COMPS et DUTHOIT,1976), et l'huître plate a été sujette à deux maladies dues aux protozoaires Marteilia et Bonamia (GRIZEL, 1985). Il n'est donc pas inutile, avant d'aborder la pathologie propre à Chlamys varia, de faire un récapitulatif des principaux micro-organismes et protozoaires responsables des maladies infectieuses qui touchent les mollusques.

Chez les mollusques marins, l'étude de la pathologie est relativement récente; elle s'est développée à partir de 1955. Toutefois, tous les grands groupes d'agents pathogènes ont été décrits.

1. **Les virus:** ils sont très rarement associés à d'importantes mortalités:

-Les Herpetovirus ont été trouvés chez Ostrea edulis et Crassostrea virginica. Ils apparaissent comme des corps d'inclusions intracellulaires dans les cellules situées autour des sinus sanguins.

-Les Papovavirus ont été trouvés, par exemple, chez Ostrea lurida. Ils ont été mis en évidence dans des gamétocytes et des oeufs; ils provoquent l'hypertrophie de ceux-ci. Les noyaux possédent de gros granules et les virions icosaédriques mesurent 53 nm.

-Les Birnavirus, présents chez Tellina tenuis, sont des virus icosaédriques de 59 nm que l'on trouve dans la glande digestive.

-Les Iridovirus sont associés à deux types d'épizooties. Le premier cas touche Crassostrea angulata. Il est caractérisé par la présence de ponctuations jaunâtres, d'indentations et de perforations dans les branchies. Le virion icosaédrique responsable mesure 300 nm. Le second touche Crassostrea gigas. Il est caractérisé par des infiltrations hémocytaires importantes dans le tissu interstitiel. Certains hémocytes renferment des virions icosaédriques de 340 nm.

-les Rétrovirus, décrits chez Crassostrea virginica, sont des virus enveloppés de 120 nm de long contenant un nucléoïde excentré (GRIZEL, 1987).

2. Les procaryotes:

-Les Rickettsies sont des procaryotes intracellulaires, dont le rôle pathogène n'est pas encore clairement

établi. Elles se développent par simple division binaire. On les trouve, par exemple, chez Tellina tenuis, où elles sont localisées dans les cellules sécrétrices de la glande digestive, et chez Pecten maximus où elles sont intrabranchiales. Une membrane vacuolaire, autour de la colonie procaryotique, caractérise ces rickettsies.

-Les Chlamydies se distinguent des rickettsies par un cycle de développement plus complexe aboutissant à une forme de résistance et de dissémination. Ce procaryote, que l'on trouve chez Mercenaria mercenaria, atteint surtout les tubules digestifs.

-Les Mycoplasmes sont caractérisés par l'absence de paroi. Des germes ont été observés chez Crassostrea virginica (GRIZEL, 1987).

3. Les bactéries

En relation avec leur activité de filtration, les mollusques accumulent de très nombreuses bactéries. Les conséquences de ces accumulations sont: le rôle de vecteur que peuvent jouer les mollusques dans la transmission des maladies à l'homme, et le développement de maladies bactériennes propres ayant un rôle secondaire de surinfection.

Les mollusques adultes, contrairement aux larves, peuvent supporter des concentrations bactériennes trés importantes; toutefois les maladies bactériennes touchent préférentiellement les larves à trois stades: les oeufs fertilisés, les larves de 48h et celles de 15 jours (TUBIASH et al., 1970).

Bien que les bactéries soient présentes chez presque tous les mollusques, elles ont été plus particulièrement étudiées chez Crassostrea virginica, Mercenaria mercenaria et Mytilus edulis. Les bactéries les plus fréquentes appartiennent aux genres Achromobacter, Aeromonas, Flavobacterium, Pseudomonas, Vibrio, Bacillus et Corynebacterium. Leur mode d'action est mal connu (GRIZEL, 1987).

4. Les protozoaires:

Ils sont divisés en sept phylums dont trois seulement seront abordés dans cette étude.

-Les Apicomplexa:

Le genre Perkinsus: Les protozoaires du genre Perkinsus, sensibles aux basses températures et aux basses salinités, se développent initialement dans l'épithélium intestinal. La multiplication du parasite est accompagnée d'une dégradation des cellules de l'épithélium et de la membrane basale, facilitant la propagation du pathogène aux autres tissus. Le parasite, sous forme d'aplanospore uninucléée, subit des reproductions végétatives qui donnent des sporanges, qui évoluent en zoosporanges, donnant naissance à des zoospores biflagellées qui représentent le stade infectieux initial. Des parasites du genre Perkinsus ont été trouvés chez Mytilus edulis, Ruditapes decussatus et Crassostrea virginica (GRIZEL, 1987).

-Les Microspora:

Le genre Microsporidia. Les Microsporidies de mollusques constituent, à l'heure actuelle, un groupe restreint comprenant neuf espèces. Ce parasite intracellulaire atteint préférentiellement l'estomac et l'hépatopancréas de ses hôtes. Au stade initial de sa vie dans l'hôte, on le trouve sous forme d'une cellule végétative, celle-ci donne un sporoblaste qui évolue en spore. La spore est caractérisée par un système d'extrusion, un filament polaire et un sporoplasme (BULLA et CHENG, 1976). Des Microsporidies ont été mises en évidence chez Ostrea lutaria (JONES, 1981).

-Les Acetospora:

On distinguera trois genres ayant des conséquences économiques importantes.

* Genre Marteilia: Ce parasite présente un cycle original caractérisé par un emboîtement final de sporoplasmes qui constituent la spore. La maladie se traduit par un amaigrissement de l'huître, accompagné d'une dépigmentation de la glande digestive. L'infection initiale n'a lieu que pendant la période estivale, quand la temperature de l'eau dépasse 17°C (GRIZEL, 1985). Bien que sept espèces de Marteilia aient été signalées, ce parasite touche essentiellement Ostrea edulis.

* Genre Haplosporidium: tous les parasites de ce genre sont endémiques, ils ne peuvent accomplir leur cycle que dans des eaux de salinité élevée. Leur période de contamination se situe surtout au mois de juin,

provoquant des pertes supérieures à 50% au mois de mai l'année suivante. Leur cycle est composé d'un stade unicellulaire initial localisé dans les tubules digestifs. A partir du mois de mars, se différencient les plasmodes, qui donneront de nombreuses spores. Ces stades se développent, en fonction des espèces d'Haplosporidium, dans les hémocytes, le tissu conjonctif, l'épithélium des palpes, des branchies et des diverticules. Ce parasite touche, par exemple, Crassostrea virginica.

* Genre Bonamia: ce parasite intracellulaire est à l'origine d'importantes mortalités chez Ostrea edulis. On trouve cet agent pathogène dans les hémocytes, dont il provoque la lyse, et libre dans différents tissus. La bonamiose s'est propagée très rapidement dans la majorité des centres bretons, mais également en Espagne, Angleterre, Pays-bas; on la retrouve aussi aux Etats Unis (GRIZEL, 1987). De plus ce parasite est infectieux tout au long de l'année (TIGE et GRIZEL, 1984).

Comme le montre ce récapitulatif, la pathologie infectieuse des élevages traditionnels est bien décrite. Le pétoncle noir, Chlamys varia, contrairement à ces espèces, n'a été étudié que très peu sur le plan pathologique. Chez ce mollusque marin, seules des rickettsies ont été observées (LE GALL, 1989). leur présence chez les pectinidés a été associée à des mortalités importantes observées sur des gisements exploités, mais leur rôle pathogène reste à préciser.

Jusqu'à présent, les études faites sur les pétoncles concernaient essentiellement son marché, sa production et son élevage. En 1989, IFREMER a testé expérimentalement, la survie et la croissance de pétoncles en élevage. Ces essais ont révélé une grande fragilité au stade du grossissement. Le taux de survie était faible: de 20 à 32%. Au terme de cette année d'étude il semblait nécessaire de tenter d'expliquer les mortalités obtenues. Un travail a été mené par J.OHEIX (1990) pour mettre en évidence les relations entre les manipulations des animaux et les mortalités. Les études ont porté sur l'influence du dégrappage et de l'émersion. Elles ont montré que les paramètres étudiés influent peu. Ces résultats ont toutefois été masqués par des facteurs externes, parmi ceux-ci, le rôle joué par un agent pathogène non identifié, associé à la lyse des cellules constituant les tubules de la glande digestive.

Il a donc semblé important de déterminer cet agent pathogène par une recherche histologique, et poursuivre son identification en microscopie électronique, afin de déterminer son ultrastructure. Son rôle pathogène éventuel sera évoqué.

II.MATERIEL ET METHODES

1. La provenance des animaux

L'étude histologique des pétoncles porte sur trois lots: le premier lot est constitué de jeunes pétoncles pêchés dans le gisement naturel de la rade de Brest. Les autres lots sont des jeunes d'élevage issus de géniteurs provenant de ce même milieu.

Les géniteurs ont été pêchés au mois d'avril 1990 puis transférés à l'écloserie d'Argenton. La fécondation a été effectuée selon les techniques habituelles. A partir de juin 1990, le naissain est prégrossi à la station expérimentale de Bouin. A l'issue de cette phase, en octobre 1990, juste avant que le transfert vers les sites d'élevage soit effectué, des animaux ont été prélevés. Ils constituent le deuxième lot.

Les animaux ont été transférés dans les claires de la Tremblade. Un échantillon de cet élevage a été prélevé en janvier 1991 et constitue le troisième lot.

Dans les lots où le parasite est mis en évidence, une étude épidémiologique sera effectuée.

2. Technique de microscopie photonique

Les animaux, prélevés dans les trois sites, sont fixés dans le liquide de Carson, dont la composition, pour un litre est la suivante: 5g de soude NaOH, 18g de dihydrogénophosphate

de sodium NaH2PO4, 100ml de formol filtré. Cette opération a pour but d'immobiliser les structures en respectant leur morphologie. Le temps minimal de fixation est 36 à 48h, mais les animaux peuvent rester plusieurs mois dans ce liquide. Les individus étant jeunes, ils sont mis entiers dans des cassettes individuelles de type Miles. Ces cassettes sont ensuite placées dans un automate qui assure:

-La dernière étape de fixation, par deux bains d'1 heure dans le liquide de Carson à 40°C.

-L'arrêt de la fixation et la déshydratation, par deux bains de 30mn dans l'alcool 90° et trois bains de 30mn dans l'alcool 100° à 35°C.

-L'éclaircissement, par trois bains de 30mn dans le xylène à 35°C.

-L'inclusion, par quatre bains d'1 heure dans la paraffine à 60°C.

L'utilisation de l'automate, qui travaille sous vide et sous pression, permet de réduire le temps de traitement à environ 10h. Les tissus sont ensuite coulés individuellement dans un bloc de paraffine, et l'on se sert de la cassette d'inclusion comme porte-bloc. Les blocs sont refroidis sur une plaque à -4°C, démoulés et placés au réfrigérateur pour avoir un durcissement uniforme. (annexe I).

Dans un premier temps les blocs sont dégrossis au microtome par coupe de 20µm, ils sont ensuite placés sur de la glace, un quart d'heure avant le débitage des coupes à 3µm. Cette opération permet d'obtenir de la paraffine plus dure,

donnant des coupes lisses qui forment des rubans. Le ruban obtenu est placé sur un bain d'eau distillée fréquemment renouvelée à 37°C pour que les coupes s'étalent bien (ce renouvellement évite la présence de bactéries qui pourraient fausser le diagnostic). Les coupes sont ensuite transférées sur une lame et sèchées 24h à température ambiante.

Les coupes sont déparaffinées, par deux bains de 2mn dans le xylène, réhydratées, par deux bains de 2mn dans l'alcool absolu et deux bains de 2mn dans l'eau distillée.
On colore les coupes à l'hématoxyline-alum acide d'Ehrlich (composition en annexe II), par coloration régressive. On laisse les coupes se colorer pendant 8mn, puis on les plonge 5s dans de l'alcool acidifié à 1% (HCl 5N). On les fait ensuite bleuir sous l'eau du robinet jusqu'à ce que l'on ait obtenu la coloration et la différenciation convenable, c'est à dire que les noyaux doivent être bleus et le cytoplasme incolore. On colore le cytoplasme par un bain de 5mn dans l'éosine (composition: 1g d'éosine pour 100ml d'eau). Pour finir, après riçage dans l'eau, on déshydrate les coupes colorées, par deux bains de 3s dans l'alcool absolu et deux bains dans le xylène dont la durée n'est pas importante. Puis, on monte les lamelles avec de la résine Eukitt qui permet d'avoir un bon indice de réfraction pour l'observation.

3. Technique de microscopie électronique

Selon Oheix (1990), les pétoncles survivants, qui ont subi une accumulation de stress favorisant le développement

d'un parasite, ne sont cependant atteint que dans 30% des cas, et de plus assez faiblement. C'est pourquoi l'étude, en microscopie électronique, n'a été effectuée que sur les hépatopancréas d'individus dont les coupes, en microscopie photonique, ont montré la présence du parasite en nombre suffisant.

On récupère les glandes digestives des animaux ainsi sélectionnés, en taillant directement dans la paraffine. Les organes entiers sont déparaffinés. Ils sont placés dans une étuve à 50°C, plusieurs heures pour évacuer une partie de la paraffine, puis il sont mis dans un bain de xylène pendant au moins 12h. Ils sont ensuite traités, par trois bains d'1h dans l'alcool absolu et trois bains d'1h dans l'eau. Les glandes digestives sont coupées en fragments de 2mm3 avant d'être postfixés 1h dans un bain de tetroxyde d'osmium OsO4 à 1%, qu'assure unefixation très proche de l'état vivant (GABE, 1968), mais dont la vitesse de pénétration est très lente, de l'ordre de 1,5mm en 12h (BAKER, 1950), c'est pourquoi il n'est utilisé que pour la microscopie électronique. Quand la fixation est achevée, les tissus, noircis au contact de ce fixateur, sont rincés dans une solution tampon avant d'être placés dans de petites cuvettes, dont l'empilement forme une colonne. Celle-ci est mise dans un automate qui assure:

-La déhydratation, par deux bains de 30mn dans l'alcool 70°, trois bains de 20mn dans l'alcool 90° et trois bains de 20mn dans l'alcool 100°

-L'imprégnation, par un bain de 20mn dans un mélange d'alcool 100° et d'oxyde de propylène, trois bains de

20mn dans l'oxyde de propylène, un bain de 4mn dans un mélange d'oxyde de propylène et d'Epon et un bain de 8h dans l'Epon (composition en annexe II).

Les tissus sont montés, dans des moules à inclusion à plat, avec de l'Epon contenant un catalyseur de polymérisation, à la dose de à 1,5% de la masse d'Epon, le DMP30 (2,4,6 tri dimethyl-aminomethyl-phénol). La polymérisation de l'Epon se fait à 50°C pendant 2 à 3 jours.

Les blocs sont fixés dans des portoirs métalliques que l'on monte sur un ultrotome. Des coupes semi-fines sont d'abord effectuées, sur les blocs entiers, à l'aide de couteaux de verre munis de baignoires jetables. Ces couteaux sont taillés à partir de barres de verre par un Knifemaker (LKB). Les coupes utilisables apparaissent vertes ou roses sur le bain, leur épaisseur est d'environ 0,5µm. Les coupes sont récupérées, à la surface de l'eau contenue dans la baignoire, à l'aide d'une petite boule de verre et posées sur une lame dans une goutte d'eau. Elles sont séchées durant 20mn sur une platine à 60°C, puis, on dépose directement sur la lame, 3 ou 4 gouttes de bleu de toluidine alcalin. On rince les lames à l'eau dès l'apparition de vapeurs (environ 5s de coloration). Grâce à une observation de ces coupes au microscope photonique, on détermine la partie de tissu qu'il est intéressant de conserver pour l'observation au microscope électronique. Les blocs sont alors taillés en forme de pyramide, la surface à couper ayant la forme d'un trapèze, dont la base ne dépasse pas 1,5mm. Les coupes ultrafines sont effectuées au couteau diamant. On détermine leur épaisseur en

fonction de leur couleur, les coupes grises (600 à 900 A) et les coupes or (900 à 1100 A) sont les seules utilisables. Les coupes sont récupérées, à la surface du bain, sur des grilles de cuivre dont la maille est adaptée au matériel à étudier. Les grilles sont placées dans un automate qui permet de contraster les coupes à l'acétate d'uranyle aqueux et au citrate de plomb. L'intérêt d'un automate dans cette opération réside dans le fait que le citrate de plomb précipite à l'air. Le travail sous vide évite donc tout dépôt sur les grilles. Les coupes, séchées, sont observées au microscope électronique à transmission (Jeol 1 200 CX). (annexe III eT IV).

III. RESULTATS

1. Anatomie interne générale du pétoncle Chlamys varia:

Elle est schématisée dans la figure 1. Les principaux organes du pétoncle sont le manteau, formé de deux lobes qui recouvrent la masse viscérale contenant la glande digestive ou hépatopancréas, de couleur brune, le coeur, les reins, la gonade et les branchies lamellaires.

2. La glande digestive ou hépatopancréas:

D'abord appelée foie, puis hépatopancréas, l'organe présente en fait des fonctions assez différentes de celle du foie ou du pancréas des vertébrés, ce qui conduisit YONGE (1926) à lui donner le nom de diverticule digestif. Le terme de glande digestive (SUMNER, 1966) parait plus approprié, anatomiquement, puisqu'il traduit mieux la masse globulaire qui entoure l'estomac, et histologiquement puisqu'il recouvre des structures variées comme les conduits, les tubules digestifs eux-même, et les cellules sanguines (hémocytes) infiltrantes (figure 2).

Physiologiquement, il représente la fonction d'absorbtion - digestion - assimilation et celle de sécrétion - excrétion. La figure 3 permet d'apprécier l'aspect d'une glande normale. Les tubules ou acini digestifs comprennent deux types cellulaires:

- des cellules digestives, claires, hautes, à noyau basal contenant des vacuoles nombreuses et de grosses granulations acidophiles. Certaines cellules digestives apparaissent désorganisées et vides. Des fragments de cytoplasme vacuolaire ou sphérules de fragmentation sont rencontrées dans la lumière des acini. Les cellules digestives ont pour fonction essentielle l'absorption des nutriments par pinocytose, la digestion intracellulaire par des enzymes contenues dans des lysosomes et l'assimilation. D'autres cellules digestives relarguent leurs enzymes par sécrétion apocrine, participant ainsi à la digestion extracellulaire. Des cellules épuisées sont éliminées vraisemblablement par phagocytose. Le remplacement des cellules digestives est assuré par des cellules souches qui se divisent et se différencient.

- Des cellules sécrétrices, pyramidales ou fusiformes, fortement basophiles. Leur rôle est la sécrétion de protéines, vraisemblablement enzymatiques, destinées à accroitre le pool d'enzymes nécessaires à la digestion extracellulaire.

3. Mise en évidence du parasite

3.1. Microscopie photonique

Un certain nombre d'animaux montre au niveau de la glande digestive des structures anormales pouvant correspondre à la présence d'un parasite (figure 4). Ces structures se

présentent comme des amas de petits éléments plus ou moins arrondis (figure 5), éosinophiles, contenant une zone basophile pouvant correspondre à un noyau. La petit taille des éléments observés en microscopie photonique n'en permet pas l'identification.

3.2. Microscopie électronique

Les éléments en amas observés en microscopie photonique se présentent comme des kystes contenant de nombreuses spores crénelées en cours de maturation dans une cavité intracellulaire, pouvant avoir valeur de vésicule sporophore, sans structure résiduelle d'origine hôte ou parasite reconnaissable (figure 6), peut être en raison d'une fixation médiocre inhérente à ce type de parasite.

En moyenne, une spore mesure 1,7µm de longueur et 1µm de diamètre. La paroi sporale est formée de deux assises, qui déterminent l'endospore et l'exospore (figure 7). La distance séparant les assises internes et externes de la paroi peut être large (figure 7) ou étroite (figure 8) ce qui traduirait des stades différents de maturation (MAURAND et LOUBES, 1979). Le cytoplasme, très dense, contient des ribosomes libres. Un filament polaire, formé d'un manchon périphérique entourant une matrice peu dense aux électrons, est évident en coupe transversale ou longitudinale. Les microphotographies examinées permettent d'estimer que le filament polaire, inséré au pôle antérieur sur un disque d'ancrage, (figure 9), s'enroule sur sept tours et demi de spire, (figure 10), et que son diamétre moyen est de 80nm. Des structures lamellaires,

(figure 10 et 11), observées au pôle antérieur, semblent pouvoir être identifiées comme un polaroplaste. D'autre part, les spores présentent un noyau complexe ou diplocaryon (figure 12). Aucune mitochondrie n'est observée. Les caractéristiques morphologiques des spores permettent de conclure que le parasite appartient à l'ordre des microsporidies dont la stucture de la spore est illustrée par la figure 13.

4. Epidémiologie

Les jeunes pétoncles pêchés dans le gisement naturel de la rade de Brest sont porteurs de Microsporidies. La prévalence est de 10%. Les infestations observées sont assez discrètes. Les animaux produits à l'écloserie d'Argenton et issus de géniteurs provenant de la rade de Brest sont exempts de Microsporidie, lorsqu'ils sont prégrossis à la nurserie de Bouin, et après transférés en claire à la Tremblade.

5. Pathologie générale des pétoncles

Les rickettsies branchiales observées par LE GALL (1989) n'ont pas été retrouvées dans le cadre de cette étude. Cependant, sur l'un des animaux examinés, la présence d'une colonie rickettsienne a été mise en évidence dans la glande digestive et coexistait avec l'infection microsporidienne (figure 5).

DISCUSSION-CONCLUSION

L'étude histologique et ultrastructurale présentée dans ce rapport à permis de décrire pour la première fois chez le pétoncle Chlamys varia un parasite appartenant à l'ordre des Microsporidies. A ce jour, il existe peu de microsporidies inféodées aux mollusques bivalves (MAURAND et LOUBES, 1979; JONES, 1981) alors qu'elles sont nombreuses pour les insectes et les crustacés pénéides. Les Microsporidies parasites de mollusques bivalves appartiennent au genre Steinhausia ou ont été placées dans le groupe collectif Microsporidium lorsqu'elles sont imparfaitement déterminées. La Microsporidie de Chlamys varia diffèrent nettement de celles du genre Steinhausia par la taille, la forme des spores et le nombre de tours de spires du filament polaire. Des études complémentaires visant à mettre en évidence les stades végétatifs et la sporogénèse sont nécessaires pour établir précisément son statut taxonomique. Ceci sera possible en poursuivant le travail de coupe et d'observation intrastructurale, travail trop long pour être mené à terme dans le cadre du présent stage.

Il faut noter qu'aucune mortalité n'a été signalée sur les pétoncles ayant fait l'objet de ce travail, à la différence de celui d'OHEIX (1990). Ceci pose le problème de la pathogénicité du parasite. On peut émettre l'hypothèse que celle-ci, assez faible, serait amplifiée par la rupture de la la relation d'équilibre hôte-parasite lors d'un stress

expérimental. La présence du parasite n'est pas sans conséquence cytologique: en effet, elle s'accompagne de manière constante d'une modification de l'aspect des tubules de la glande digestive qui présentent une forte proportion de cellules désorganisées et vides (figure 5).

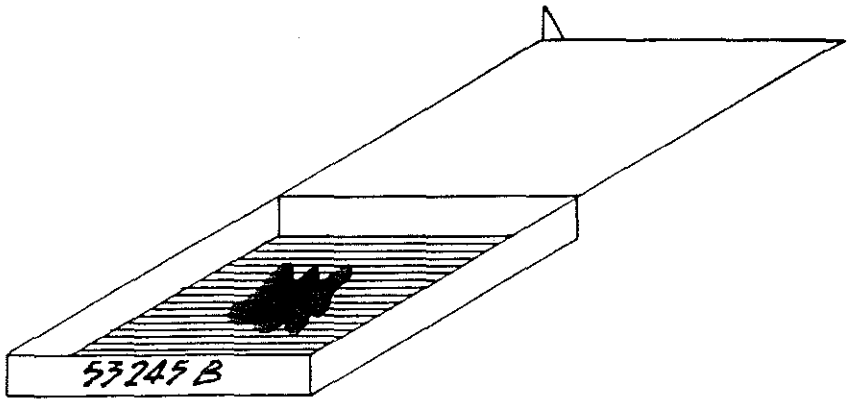
La transmission verticale de la microsporidie peut raisonablement être écartée puisqu'à partir des géniteurs du même stock naturel, seuls les juvéniles de la rade de Brest sont atteints. Elle ne pourra être définitivement exclue que sur la base d'un examen des gonades des géniteurs. L'hypothèse d'une transmission horizontale se trouve ainsi favorisée et pourrait intervenir par voie digestive, la spore étant ingérée au contact de l'épithélium stomachal et transportée vers sa cellule hôte, la cellule digestive, à proximité de son site d'entrée (KINNE, 1983). Sur les coupes observées, le parasite est toujours rencontré dans les cellules de l'hépatopancréas se trouvant au voisinage immédiat de l'estomac (figure 2).

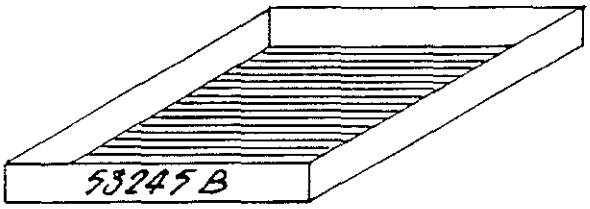
La mise en évidence d'une Microsporidie hôte de Chlamys varia présente un interêt fondamental dans le domaine de la microsporidiologie. Sa faible prévalence et son pouvoir pathogène apparemment limité ne doivent cependant pas masquer le danger potentiel qu'elle représente en cas de modification du milieu ou d'élevage à forte densité. Ceci implique la nécessité d'un suivi des élevages. Il faut remarquer que les Microsporidies inféodées aux Pénéides sont hautement pathogénes, dans des conditions d'élevage intensif. D'autre part, l'examen des populations naturelles atteintes par des mortalités devra être developpé tant pour analyser l'impact de

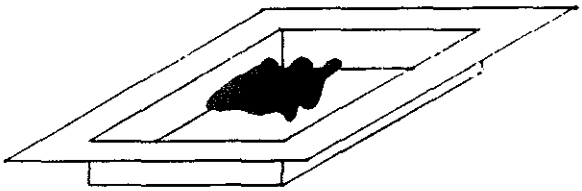
la microsporidie que pour déterminer le rôle d'autres agents infectieux possibles.

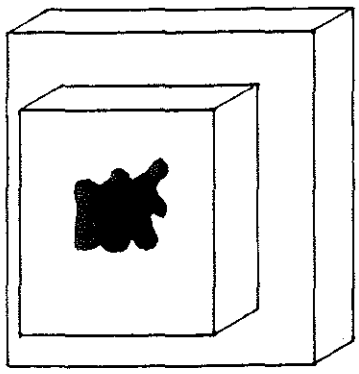
ANNEXE I

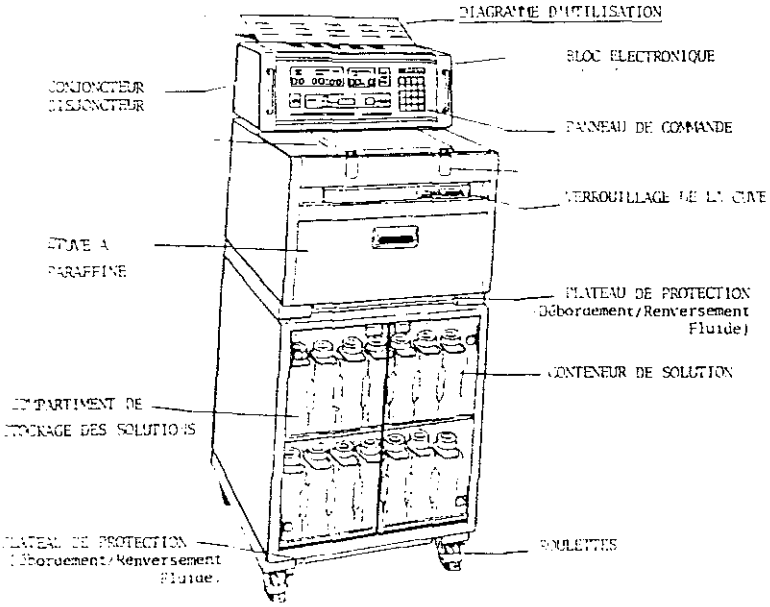
Technique de microscopie photonique











ANNEXE II

Composition de l'hématoxyline-alun d'Ehrlich:

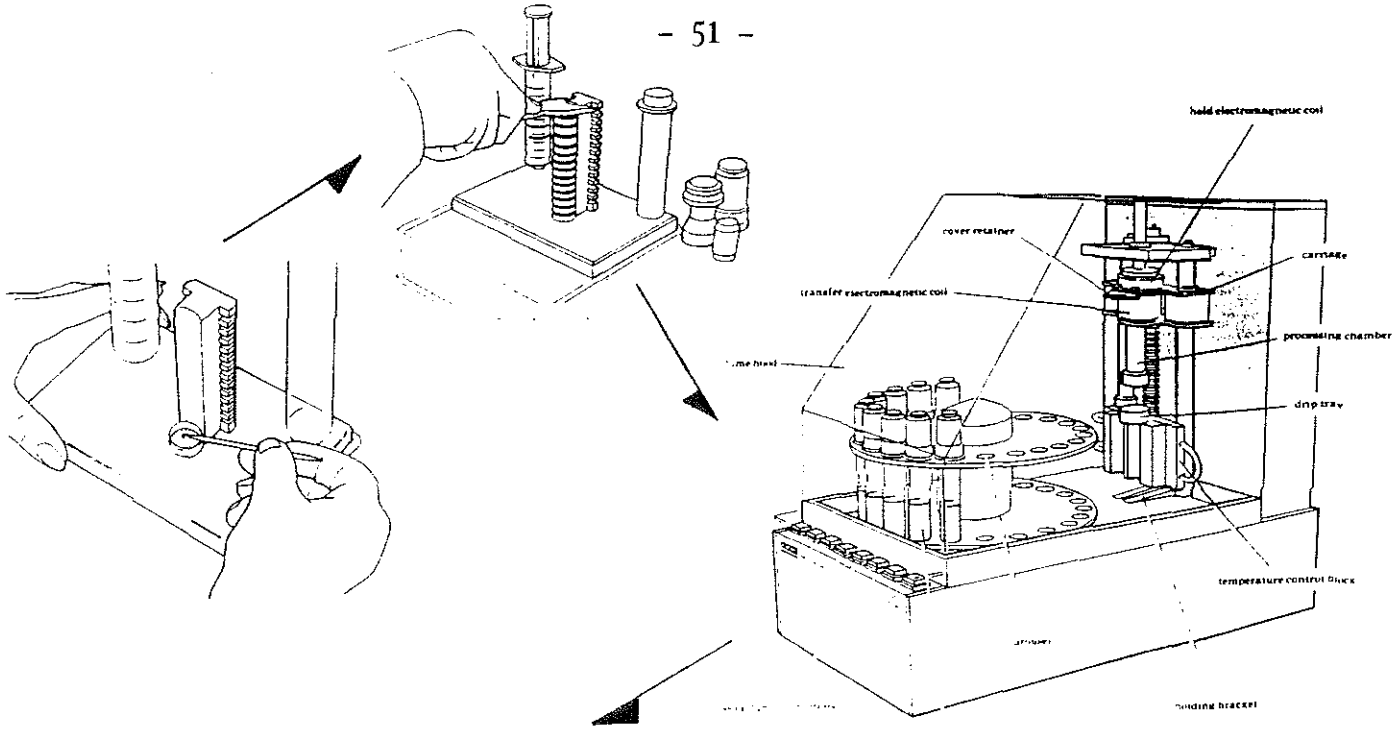
solution A	solution B
- 6g d'hématoxyline	- 300ml d'eau distilée
- 300ml d'alcool absolu	- 9g d'alun de potassium
- 30ml d'acide acétique	(la dissolution, se fait à chaud
- 300ml de glycerine	puis on refroidit)

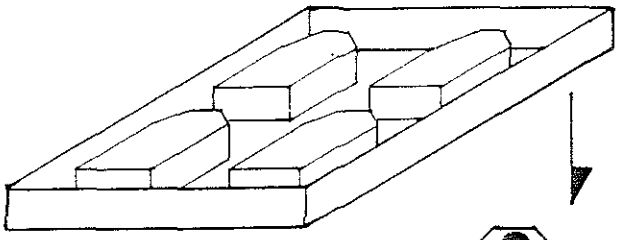
Les solutions A et B sont mélangées et placées dans une boutielle puis le mélange est laissé mûrir à la lumière durant 8 semaines. Ceci peut être réalisé artificiellement en ajoutant 0,6g d'iodate de sodium (NaIO3).

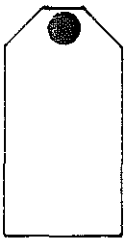
Composition de l'Epon:

mélange A	mélange B
- 62ml de résine 812	- 100ml de résine 812
- 100ml de DDSA (dodecenyl succinique anhydride)	- 89ml de MNA (Methyl Nadic anhydride)

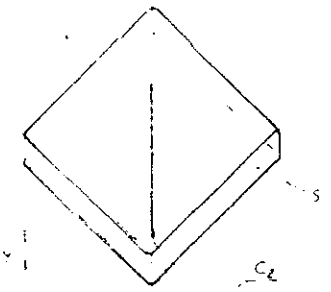
Le mélange 2A + 3B permet d'obtenir la dureté désirée.

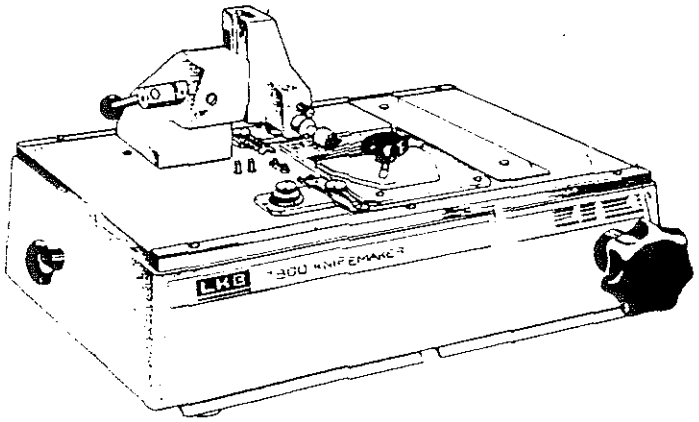


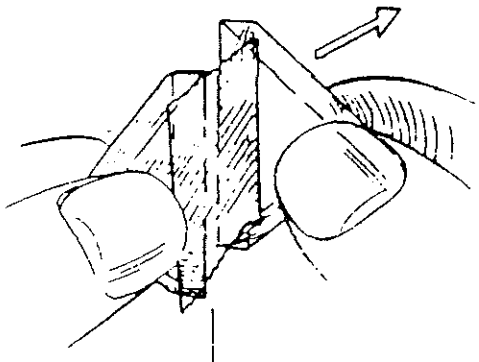


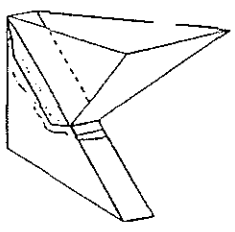


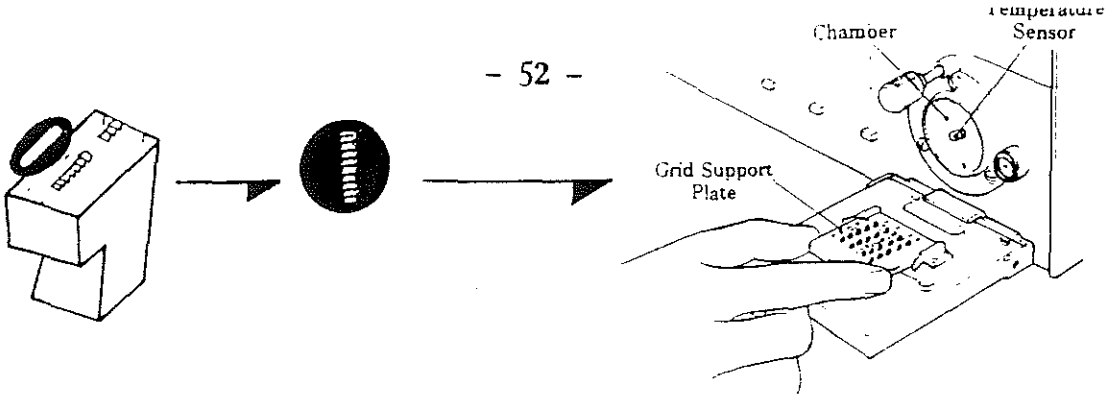
Technique de microscopie électronique

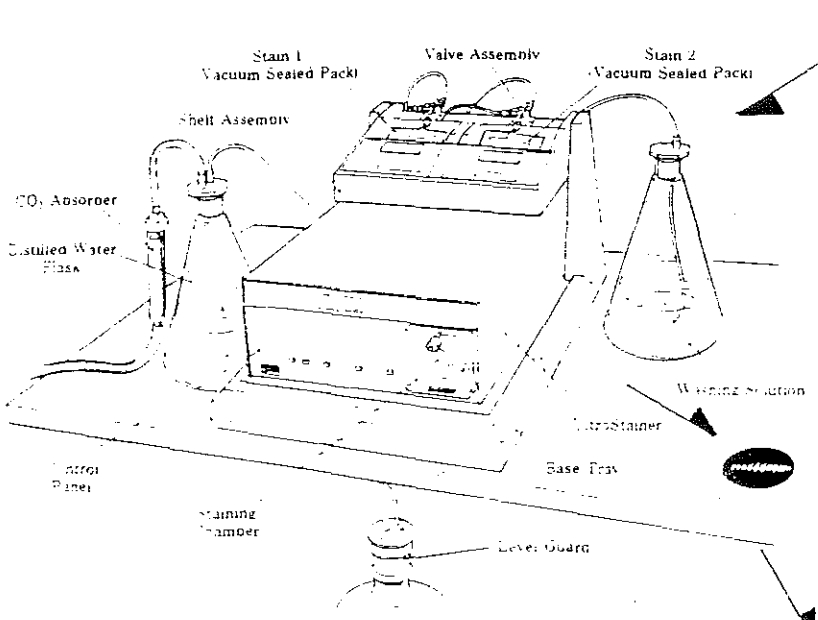












Technique de microscopie électronique (suite)

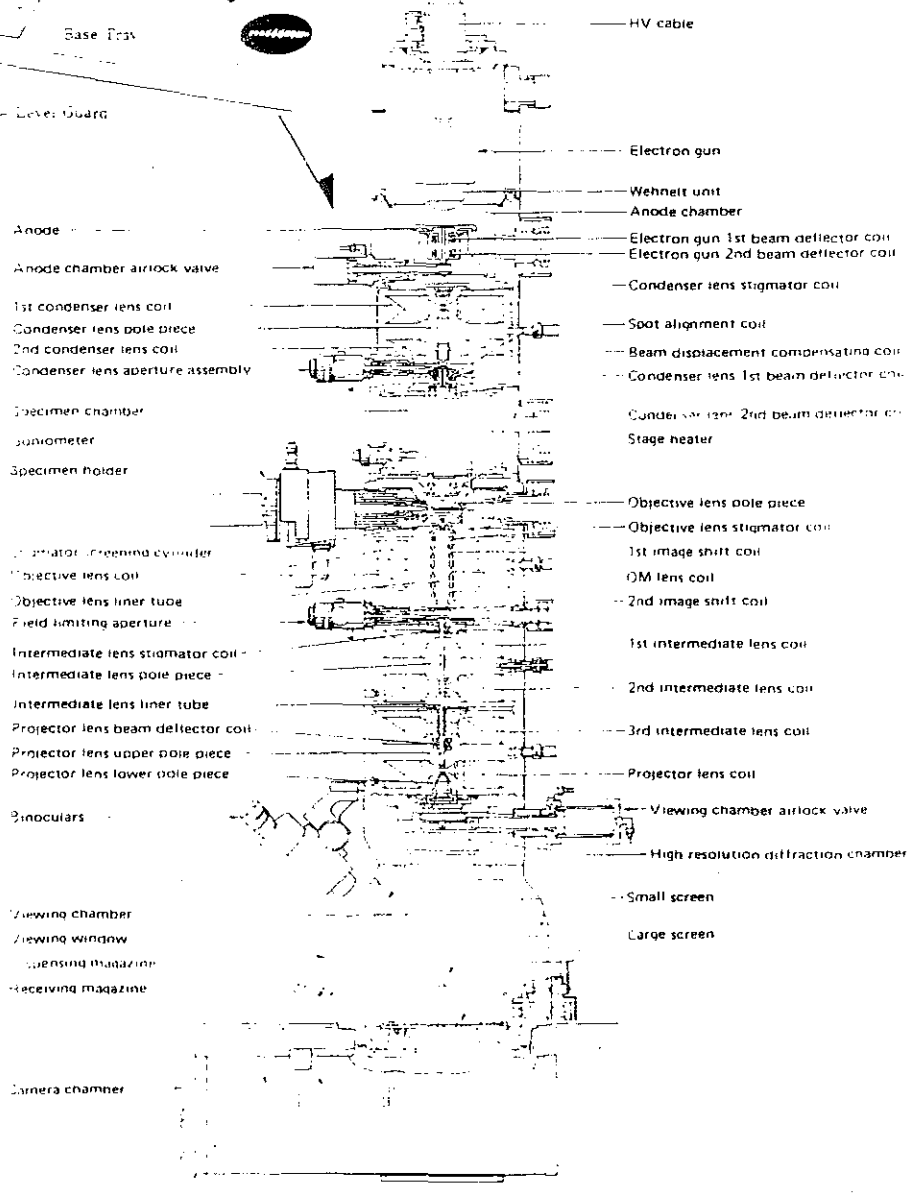


Fig. 3.3-2 Cross section of microscope column

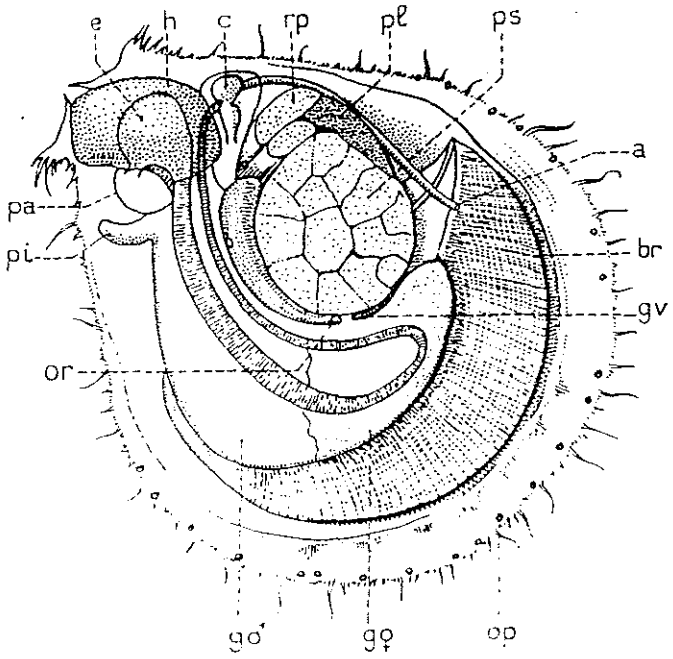


Figure 1 : Chlamys Opercularis L.
Vu de côté gauche après enlèvement du manteau et de la branchie de ce côté et montrant la section des parties lisse (pl) et striée (ps) de l'adducteur.
a : anus; br : branchie; c : coeur; e : estomac; g♂, g♀ : portion ♂ et ♀ de la gonade; gv : ganglion viscéral; h : diverticules digestifs; op : oeil palléal; or : orifice extérieur du rein; pa : palpes; pi : pied; rp : rétracteur du pied. (d'après PELSENEER).

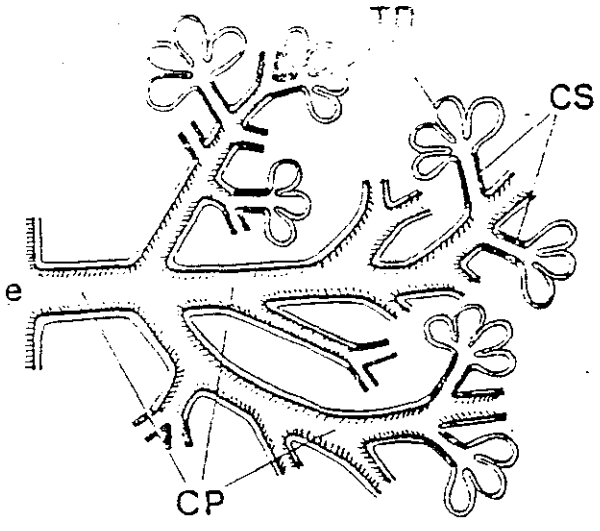
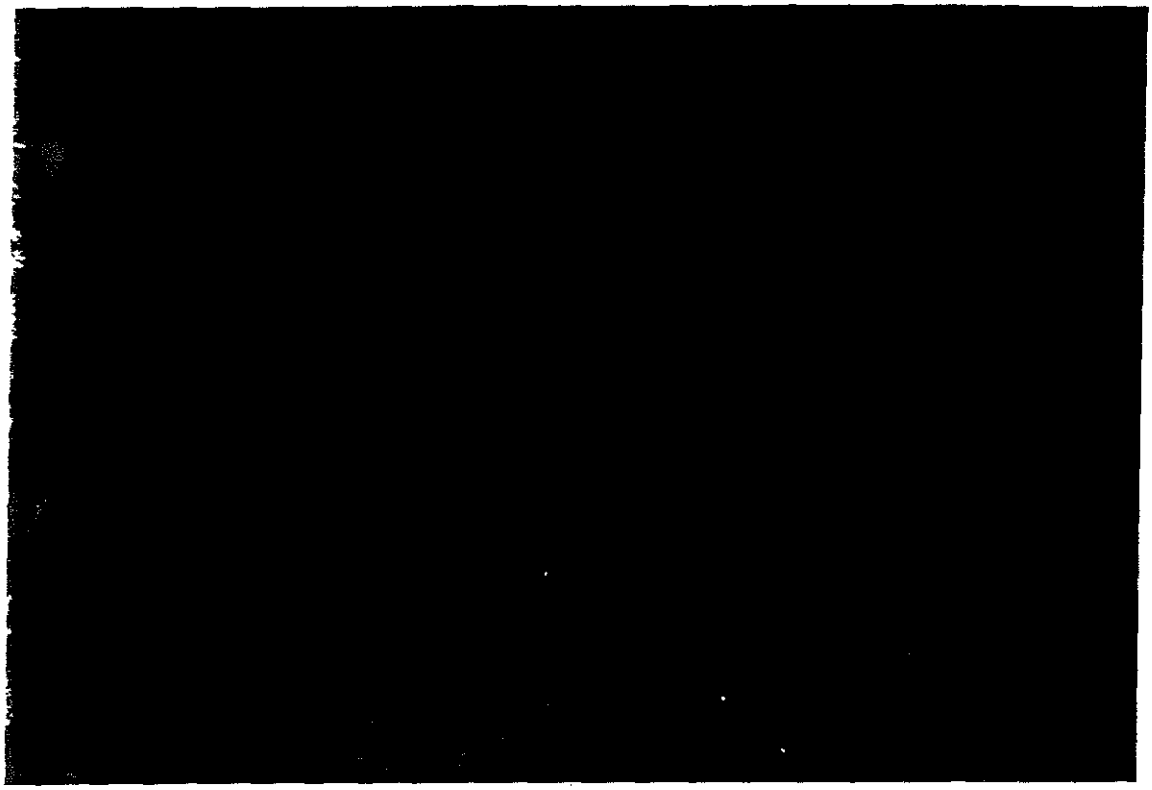
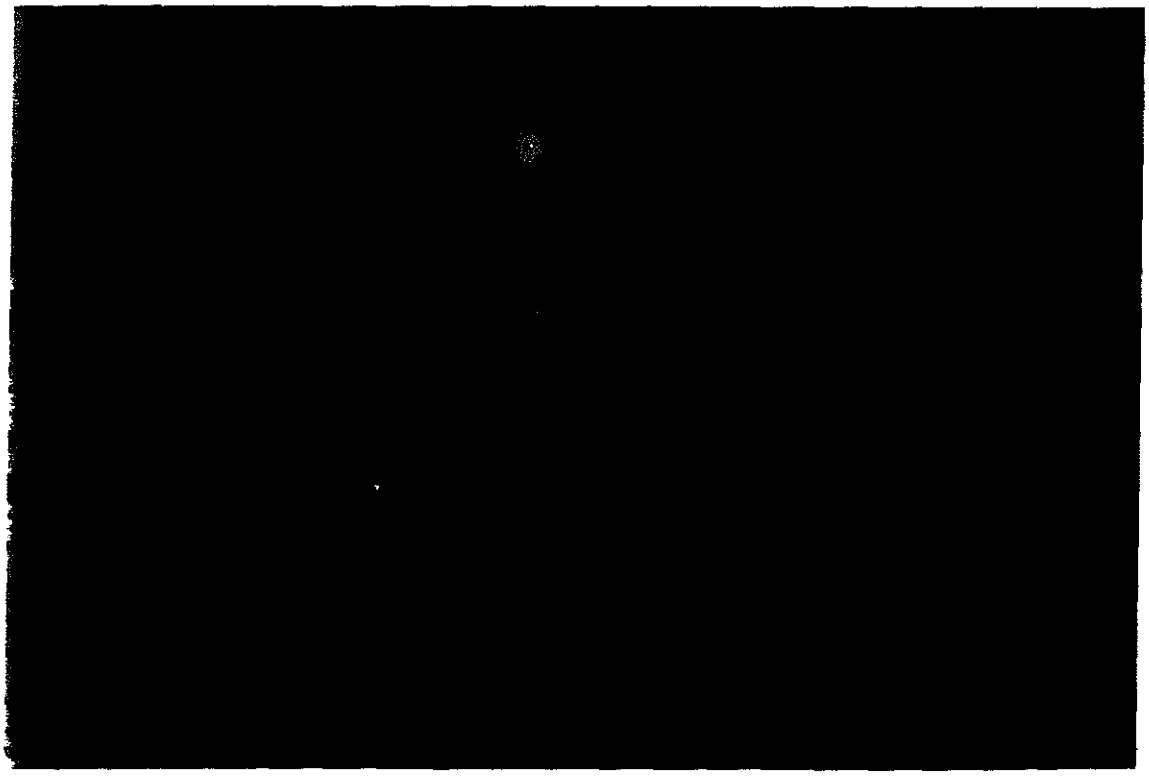


Figure 2 : Schéma de la glande digestive des Eulamellibranches.
CP : conduits principaux; CS : conduits secondaires; e: estomac; TD : tubules digestifs. (d'après OWEN, 1955).

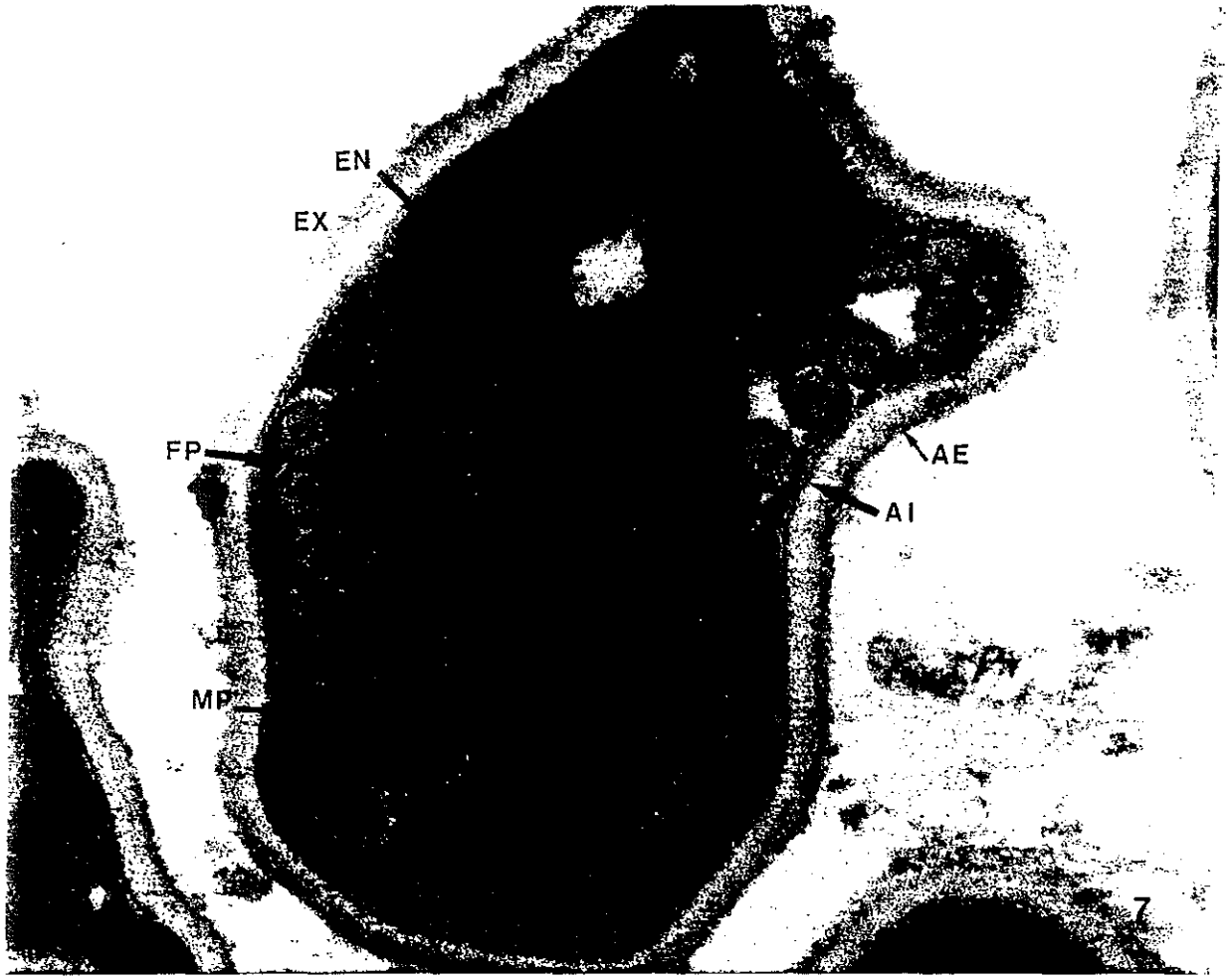


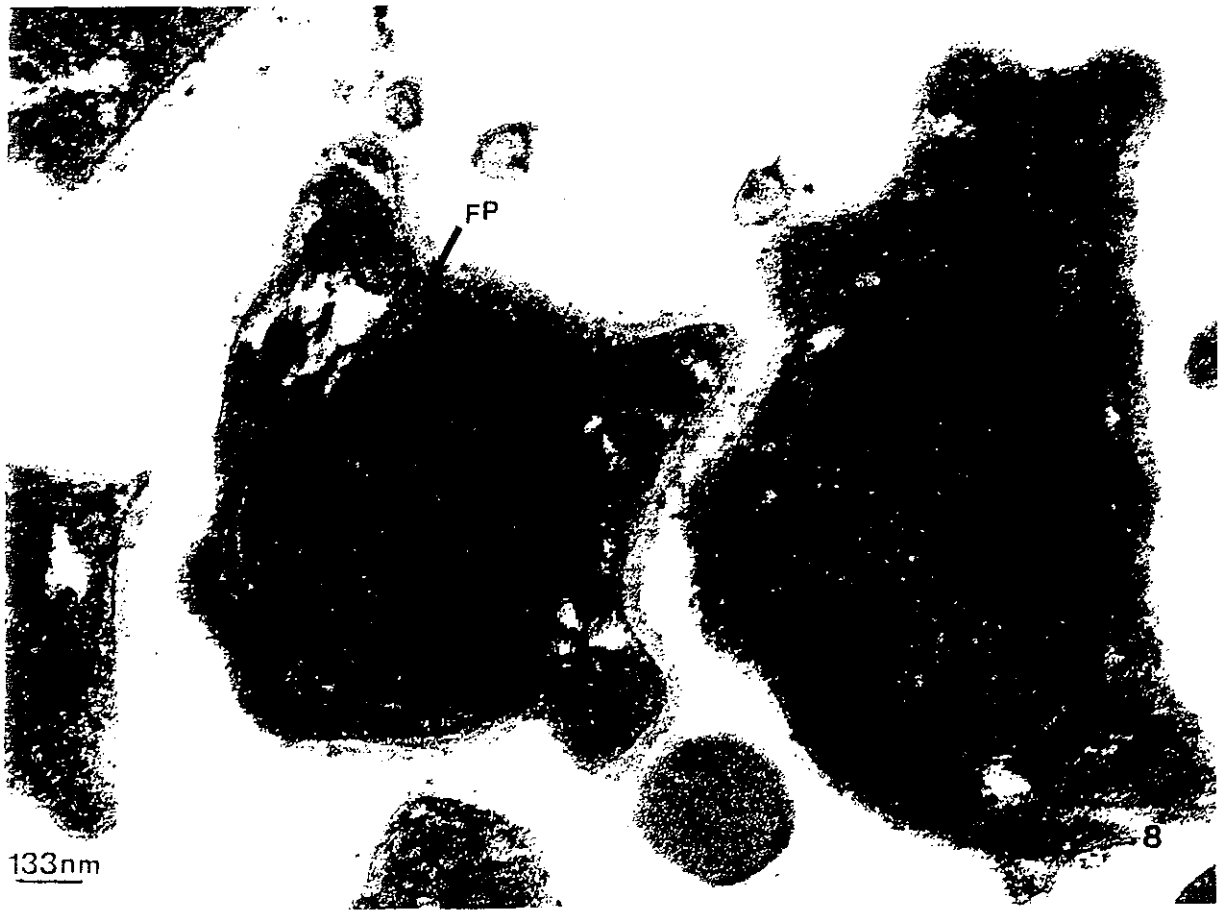
30μm



10 µm

CY
CA
SP
10 µm


EN
EX
FP
AE
AI
MP
7


FP
8
133nm

9

10

11

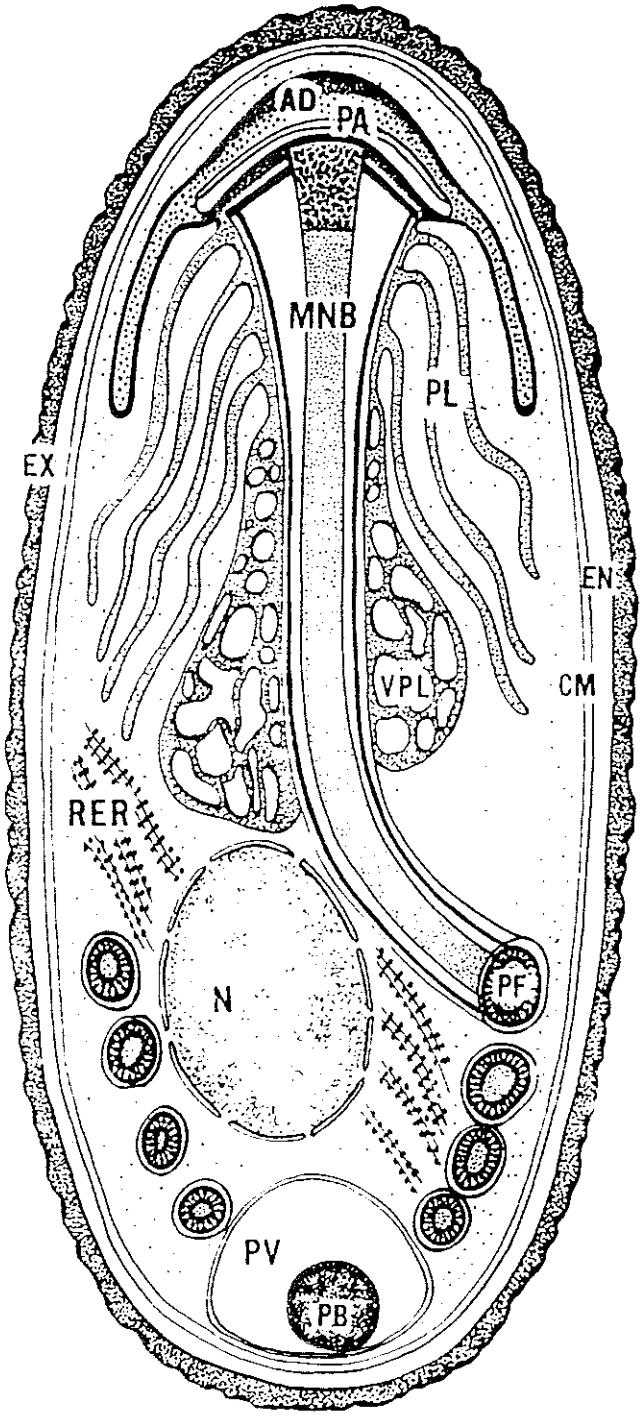


Figure 13 : schema représentatif de la structure de la spore de microsporidie.
AD : disque d'ancrage du filament polaire; CM : membrane cytoplasmique de la spore; EN : endospore; EX : exospore; MNB : partie manubroide du filament; N : noyau; PA : ouverture polaire; PB : corps postérieur; PF : filament polaire; PL : lamelles du polaroplaste lamellaire; PV : vacuole postérieure; RER : réticulum endoplasmique rugeux; VPL : partie vésiculaire du polaroplaste.

LEGENDE DES PLANCHES

Figure 1 : Anatomie du pétoncle

Figure 2 : Structure de la glande digestive

Figure 3 : Photomicrographie d'une portion de glande digestive normale
TD : tubule digestif; CD : cellules digestives hautes; CV cellules désorganisées et vides; SF : sphérules de fragmentation; CS : cellules sécrétrices basophiles; H: hémocytes.

Figure 4 : Photomicrographie d'une portion de glande digestive anormale
TD : tube digestif; C : conduit secondaire; E : estomac; P : parasite.

Figure 5 : Photomicrographie d'un tubule digestif parasité
CS : cellules sécrétrices basophiles; N : noyau; CV : cellules désorganisées vides; P : parasite; R : rickettsies.

Figure 6 : Electronographie d'un kyste contenant des spores (SP) crénelées dans une cavité (C) intracellulaire
CY : cytoplasme de la cellule hôte.

Figure 7 : Electronographie d'une spore à paroi large
EN : endospore; EX : exospore; AI : assise interne; AE : assise externe; FP : filament polaire; MP : manchon périphérique; MA : matrice.

Figure 8 : Electronographie d'une spore à paroi mince
N1-N2 : diplocaryon; FP : filament polaire.

Figure 9 : Electronographie d'un détail d'une spore montrant le disque d'ancrage (DA) du filament polaire (FP).

Figure 10 : Electronographie d'une spore permettant la détermination du nombre de tours de spires du filament polaire (FP)
VP : vacuole postérieure.

Figure 11 : Electronographie d'une spore présentant des structures lamellaires à valeur de polaroplaste (P).

Figure 12 : Electronographie d'une spore à diplocaryon très net (N1-N2)
FP : filament polaire; P : polaroplaste en cours de formation.

Figure 13 : Schema théorique de la spore de microsporidie en microscopie électronique.

BIBLIOGRAPHIE

AVIA, D., 1986. Le marché du pétoncle. Rapport FIOM, 44p.

BARON, J., 1988. Détermination de l'aptitude d'une espèce canditate à l'aquaculture: le pétoncle Chlamys varia. DEA Océanologie, univ. Aix marseille, 46p.

BAKER, J.R., 1958. Principles of biological microtechnique. Methen et cie, London.

BODOY, A.,GARNIER, J., HEURTEBISE, S., 1990. L'élevage hivernal du pétoncle noir *Chlamys varia* sur les côtes de Charente Maritime. Rapport interne IFREMER, 44p.

BULLA, L.A., CHENG, T.C., 1976. Comparative pathobiology, vol 1: Biology of the microsporidia. Plenum Press, New York and London. 371p.

COMPS, M., DUTHOIT, J.L., 1976. Infection virale associée à la maladie des branchies de l'huître portugaise *Crassostrea angulata*. Lmk. C. R. Acad. Sci. Paris, 283 (D): 1595-1596.

CONAN, G., SHAFEE, M.S., 1978. Growth and biannual recrutment of the black scallop *Chlamys varia* (L). J. exp. mar. biol. ecol., 35: 59-71

FORESTER, A., 1979. The association between the sponge *Halichondria panicea* (Pallas) and the scallop *Chlamys varia* (L) a commensal protective mutualism. J. exp. mar. biol. ecol., 36: 1-10.

GABE, M., 1968. Techniques histologiques. Masson et cie. Paris, 1113p.

GRIZEL, H., 1985. Etude des récentes épizooties de l'huître plate *Ostrea edulis* et de leur impact sur l'ostréiculture bretonne. Thèse doct. état Sci. nat., univ. Montpellier, 145p.

GRIZEL, H., 1987. Les maladies de mollusques: étiologie et progrès récents des recherches. Océanis, 13, 3: 357-370.

JONES, J.B., 1981. A new *Microsporidium* from the oyster *Ostrea lutaria* in New Zealand. J. Invertebr. Pathol., 38: 67-70.

KINNE, O., 1983. Diseases of marine animals, vol 2: Introduction (KINNE, O.), Bivalvia to Scaphopoda (LAUCKNER, G.). Biologische Anstalt, Hamburg: 467-1038.

LE GALL, G., 1989. Etude des cas de mortalités de coquilles Saint-Jacques en baie de Saint-Brieuc; rôle pathogène d'une rickettsie. Rapport d'activité, com. exp. économ. Côtes du Nord, 45p.

LE PENNEC, M., DISS-MENGUS, B., 1987. Aquaculture de *Chlamys varia* (L) données sur la biologie de la larve et de la post-larve. Vie marine, 8: 37-42.

MAURAND, J., LOUBES, C., 1977. Les microsporidies parasites de mollusques. Haliotis, 8:39-48.

OHEIX, J., 1990. Croissance et mortalité du pétoncle noir (*Chlamys varia*) en élevage intensif. Rapport Intechmer Cherbourg, 41p.

OWEN, G., 1955. Observations on the stomach and digestive diverticula of the Lamellibranchia. I. The *Anisomyaria* and *Eulamellibranchia*. Q. J. Microsc. Sci., 96: 517-537.

PELSENEER, P., 1888. Report on the anatomy of the deep-sea mollusca collected by H. M. S. "Challenger" (1873-1879), 42p.

SUMNER, A.T., 1966. The fine structure of the digestive gland cells of *Anodonta*. J. of the Roy.Microsc. Soc., 85: 417-423.

TIGE, G., GRIZEL, H., 1984. Essais de contamination d'*O. edulis* par *Bonamia ostreae* en rivière de Crach (Morbihan). Revue Trav. Inst. Pêches Marit., 46, 4: 1-8.

TUBIASH, H.S., COLWELL, R.R., SAKAZAKI, R., 1970. Marine vibrio associated with bacillary necrosis, a disease of larval and juvenile bivalve molluscs. J. Bact., 103: 271-272.

YONGE, C.M., 1926. The digestive diverticula in the Lamellibranchs. Trans. Roy. Soc. Edim., 54: 703-720.