

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

**ESSAI D'ACCLIMATATION DE *CRASSOSTREA VIRGINICA*
ET PERFORMANCES BIOLOGIQUES COMPAREES
AVEC *CRASSOSTREA GIGAS*
(1ère partie)**

GERARD A., NACIRI Y., PEIGNON J.M., LEDU C., PHELIPPOT P.,
Unité de Recherche en Génétique et Eclosionerie,

BAUD J.P., NOURRY M.,
Unité de Recherche Régionale en Aquaculture (Bouin),

RENAULT T., COCHENNEC N.,
Unité de Recherche en Pathologie et Immunologie Générale.



B.P. 133 - La Tremblade (FRANCE)

Tél. : 46 36 30 07

Fax : 46 36 37 51



RIDRV 93-010 RA/LA TREMBLADE

INSTITUT FRANCAIS DE RECHERCHE POUR L'EXPLOITATION DE LA MER

Adresse : IFREMER URGE BP 133 Ronce les Bains 17 390 La Tremblade	DIRECTION DES RESSOURCES VIVANTES	
	DEPARTEMENT	Ressources Aquacoles
	STATION/LABORATOIRE	La Tremblade

AUTEURS (S) : GERARD A., NACIRI Y., PEIGNON J.M., LEDU C., PHELIPOT P., BAUD J.P., NOURRY M., RENAULT T., COCHENNEC N.		CODE : RIDRV 93-010 RA/La Tremblade
TITRE : Essai d'acclimatation de <i>Crassostrea virginica</i> et performances biologiques comparées avec <i>Crassostrea gigas</i>		Date : 30-3-93 Tirage en nombre : 20
		Nb pages : 19 Nb figures : 8 Nb photos : 4
CONTRAT (intitulé) N° _____	Convention IFREMER Conseil général de Charente Maritime 1992-1994 Rapport année 1992	DIFFUSION libre <input type="checkbox"/> restreinte <input checked="" type="checkbox"/> confidentielle <input type="checkbox"/>

<p>RESUME</p> <p>Premier volet du programme d'essai d'acclimatation de l'huître américaine <i>Crassostrea virginica</i>, ce rapport présente les actions et les résultats de l'année 1992 qui a été consacrée à :</p> <ul style="list-style-type: none"> • l'importation selon les normes du CIEM d'un lot de 50 huîtres en provenance d'Angleterre, • leur élevage en salle de quarantaine et leur conditionnement en vue d'une accélération de la maturation sexuelle, • l'obtention d'une première génération, ainsi que son suivi en élevage larvaire et en micronurserie à l'URGE-La Tremblade, • au contrôle des performances comparées des deux populations de <i>C. virginica</i> et de <i>C. gigas</i> en nurserie de prégrossissement à l'URRA-Bouin pendant toute la période automnale et hivernale. <p>Au terme de cette première année d'étude il apparait que la croissance de <i>C. virginica</i> est similaire à celle de <i>C. gigas</i> aux stades larvaire et post-larvaire, mais qu'elle cesse dès que la température de l'eau passe en dessous de 13°C, alors que l'huître japonaise continue de croître, même en eau froide. Tout au cours de l'étude, aucun problème pathologique n'a été relevé sur les lots d'huîtres américaines.</p>
<p>mots clés : Mollusques, Acclimatation, <i>Crassostrea virginica</i>, <i>Crassostrea gigas</i>.</p> <p>key words :</p>



1. INTRODUCTION

L'histoire de l'ostréiculture française est émaillée d'une succession de phases de développement, de surexploitation, d'apparition de maladies qui perturbent la profession et la conduisent parfois à adapter de nouvelles techniques d'élevage après introduction d'espèces non indigènes. Ces événements historiques montrent la nécessité d'aménager les bassins conchylicoles pour éviter à la fois la surexploitation et la fragilité des populations aux agents pathogènes (Héral, 1989).

Après la disparition massive de l'huître portugaise, *Crassostrea angulata*, atteinte par "la maladie des branchies" au début des années 70, l'importation massive de l'huître *Crassostrea gigas* originaire du Pacifique a permis de relancer très rapidement l'ostréiculture française. Ainsi depuis 1972, la production ostréicole française repose essentiellement sur cette espèce; dans le bassin Marennes-Oléron, elle constitue un élevage pratiquement monospécifique.

Or, des maladies affectant l'huître japonaise sont déjà connues dans d'autres pays, et en dépit de l'information et de la sensibilisation des professionnels sur le risque majeur qu'elles constituent pour les bassins conchylicoles européens, il est à craindre que des transferts de naissain ou d'adultes soient effectués et contribuent aux développements de ces pathologies. Par ailleurs, les risques d'introduction liés aux transports maritimes ne sont pas négligeables non plus.

Face à ce danger potentiel, les laboratoires IFREMER de La Tremblade et de Bouin, ont proposé deux axes d'intervention. Le premier, présenté par l'Unité de Recherche en Pathologie et Immunologie Générale (URPIG), concerne la prévention des maladies virales. Le deuxième, présenté conjointement par l'Unité de Recherche en Génétique et Eclosion (URGE) et l'Unité de Recherche Régionale en Aquaculture (URRA), vise à rechercher une espèce de remplacement dans le cas éventuel d'une épizootie grave sur l'huître japonaise.

Ce deuxième volet des recherches, dont une partie est présentée dans ce rapport, fera l'objet d'une proposition de programme dans le cadre du futur plan Etat-Régions. Son objectif sera la constitution, à La Tremblade, d'un conservatoire de souches ou d'hybrides du genre *Crassostrea*. Après vérification de leur adaptabilité aux conditions de l'ostréiculture française, ces souches pourraient être testées rapidement dans le milieu naturel en cas de problème grave affectant l'huître japonaise. Bien entendu, cette mesure de protection ne permet pas de préjuger de la résistance d'une souche donnée à une nouvelle maladie.

C'est dans le cadre de ce vaste programme que se situe la présente étude dont l'objet est de procéder à l'importation d'une souche de *Crassostrea virginica* et de tester ses performances biologiques dans le bassin Marennes-Oléron en les comparant à celles de *Crassostrea gigas*. Sa réalisation repose sur la coopération de trois organismes concernés au niveau régional : le Conseil Général de Charente-Maritime, le CREAA, organisme dépendant du Conseil Régional Poitou-Charentes et l'IFREMER.

Photo de couverture : naissain de *Crassostrea virginica*.

2. IMPORTATION DE *CRASSOSTREA VIRGINICA*

2.1. Origine

L'huître creuse d'Amérique du Nord *Crassostrea virginica* est originaire de la côte Est des Etats-Unis. Son aire de répartition s'étend du golfe du St Laurent au golfe du Mexique (Galtsoff, 1964). Cette espèce est sensible à plusieurs parasites : l'*Haplosporidium nelsoni* (MSX) et le *Perkinsus marinus*.

Pour limiter les risques de contamination par ces parasites et simplifier les procédures d'importation, la souche à introduire a été choisie en Angleterre. En effet ce pays a déjà réalisé en 1984, l'importation de cette espèce dans les eaux communautaires. Cette introduction s'est faite selon les normes du CIEM (Conseil International pour l'Exploitation des Mers), ce qui est un gage d'une garantie sanitaire.

Ces huîtres introduites en Angleterre (une cinquantaine), sont originaires de Chester River dans la baie de Chesapeake aux USA. A cette époque, les huîtres de ce site étaient suivies régulièrement au niveau pathologique, aucune maladie n'avait été trouvée. Une autre caractéristique est à signaler, c'est qu'elles vivaient dans une eau particulièrement dessalée, entre 8 et 10‰. Un échantillon des huîtres importées a été analysé dès sa réception en Angleterre en 1984, aucun pathogène n'a été décelé.

En 1985, une première génération F1 a été obtenue à partir de deux pontes successives induites par chocs thermiques. A la première sollicitation, 2 mâles et 8 femelles ont expulsé leurs gamètes, et, à la deuxième induction, 3 mâles et 4 femelles ont répondu positivement. Pendant la première année, le naissain obtenu a été analysé à quatre reprises, aucune maladie n'a été détectée. Par la suite ces huîtres ont été élevées dans 6 sites différents, une forme plasmodiale d'un parasite protiste a été trouvée à Poole Harbour en 1987, ce parasite n'a jamais été retrouvé par la suite, et dans les autres sites aucune maladie n'a été découverte.

2.2. Processus d'importation

Le docteur Suzan UTTING du Fisheries Laboratory de Conwy, responsable de ces expériences sur *Crassostrea virginica* en Angleterre, a été contactée au début de l'année 1992. Une autorisation d'importation a été demandée auprès des services vétérinaires pour l'introduction de 300 individus. Seules 50 huîtres ont pu nous être fournies, qui sont arrivées le 6 avril 1992 à l'aéroport de Bordeaux.

2.3. Accueil et quarantaine

Dès leur réception à La Tremblade, après un brossage minutieux destiné à éliminer l'épiflore et l'épifaune qui adhèrent à la coquille, les huîtres ont été placées dans un raceway de 100 litres de la salle de quarantaine. Cette pièce est équipée d'un dispositif qui permet de stériliser les eaux de rejet par un traitement au Brome. Pour éviter de consommer trop de Brome, chaque bac est équipé d'un filtre biologique ce qui permet de limiter le renouvellement d'eau de mer à 1 heure par jour. Ces bacs sont alimentés en continu, avec un débit moyen de 5.10^9 cellules/heure, d'un mélange de trois espèces de phytoplancton parmi les cinq cultivées à l'écloserie :

Pavlova lutheri

Isochrysis galbana (clone Tahiti)

Tetraselmis suecica

Chaetoceros calcitrans

Skeletonema costatum

Ces huîtres ont été continuellement maintenues dans cette salle, y compris pour l'induction des pontes.

3. PHASE DE PRODUCTION EN ECLOSERIE

3.1. Maturation

Les huîtres, à leur arrivée à La Tremblade, étaient dans un mauvais état physiologique. Une période de réadaptation de six semaines a été nécessaire avant de débiter le processus de maturation artificielle. Pendant cette période, les huîtres ont été maintenues à une température moyenne de 15°C et alimentées avec un flux continu de phytoplancton comme décrit précédemment. La prise de nourriture a été très faible pendant les deux premières semaines, 7 huîtres sont mortes pendant cette même période.

A partir du 18 mai, la température a été portée à 20°C et le débit moyen de phytoplancton à $280 \cdot 10^6$ cellules / heure / animal.

Dès la réception des *Crassostrea virginica*, des huîtres creuses *Crassostrea gigas* ont été placées dans des conditions totalement identiques dans la salle de quarantaine pour servir de témoin.

3.2. Induction de la ponte et incubation

3.2.1. Matériel et méthode

Deux techniques d'obtention des gamètes ont été utilisées. Pour le témoin *C.gigas*, les gamètes mâles et femelles ont été prélevés par dilacération de la gonade : c'est la méthode la plus couramment usitée au laboratoire car elle garantit une plus grande maîtrise de la fécondation. Cette technique, qui nécessite le sacrifice de l'animal, n'était pas envisageable pour *C.virginica* vu le faible nombre de géniteurs en notre possession. Pour cette espèce, l'obtention des gamètes a donc été réalisée par thermostimulation (choc froid à 18°C et choc chaud à 28°C).

Après un dénombrement des ovules et des spermatozoïdes à l'analyseur d'image, la fécondation a été obtenue en mettant en présence 50 spermatozoïdes par ovule. Au bout de 15 minutes de contact, les embryons ont été placés dans la salle d'élevage larvaire, dans des bacs de 150 litres d'eau de mer filtrée à 3 µm. Après 24 heures d'incubation à 25°C, un bilan de la ponte a été effectué.

3.2.2. Résultats

Une première tentative d'induction de la ponte des *C. virginica* a été effectuée le 18 juin 1992. Seulement quatre mâles ont expulsés leur gamètes, le sacrifice de deux individus nous a montré que la maturation était nettement insuffisante alors qu'elle était satisfaisante chez les *gigas* du lot témoin. La faiblesse des *virginica* à leur arrivée à La Tremblade est certainement à l'origine de cette lente maturation.

Après une période complémentaire de maturation de 5 semaines, une deuxième thermostimulation a permis d'obtenir 4 mâles et 4 femelles de *C. virginica* le 23 juillet 1992. Le lot témoin *gigas* a été réalisé après dilacération des gonades de 4 mâles et 4 femelles.

Les paramètres de cette ponte, consignés dans le tableau 1, montrent une nette divergence entre les deux espèces au niveau des taux d'éclosion. Cette différence ne doit pas être considérée comme une caractéristique des espèces, mais elle doit plutôt être imputée à la technique d'obtention des gamètes, qui est plus destructrice dans le cas de la dilacération des gonades.

Pour une température d'incubation de 25°C et une salinité de 33,5 ‰, la vitesse du développement embryonnaire a été sensiblement la même chez les deux espèces, les larves D ont été recueillies et dénombrées au bout de 24 heures.

	<i>Crassostrea virginica</i>	<i>Crassostrea gigas</i>
Stimulation	Thermique	Stripping
Nombre de géniteurs mâles	4	4
Nombre de géniteurs femelles	4	4
Nombre d'ovules fécondés	2 000 000	3 000 000
Incubation : température	25°C	25°C
Incubation : salinité	33,5 ‰	33,5 ‰
Incubation : durée	24 heures	24 heures
Incubation : densité	67 oeufs/ml	100 oeufs/ml
Eclosion : nombre de larves D	1 830 000	1 630 000
Taux d'éclosion	91,5 %	54,3 %

Tableau 1 : Bilan des fécondations de l'élevage CGCV9232 du 23 juillet 1992

3.3. Elevage larvaire et micronurserie.

3.3.1. Matériel et méthodes.

Après estimation du taux d'éclosion, les larves ont été mise en élevage à une densité d'environ 12 individus par ml, en bacs de 150 litres, dans de l'eau de mer de salinité comprise entre 33,5 et 34,2‰, filtrée à 3 µm et thermorégulée à 25°C. Les élevages ont été filtrés tous les deux jours sur tamis de mailles variant entre 45 et 150 µm en fonction de la taille des larves. A l'occasion de ces filtrations, un contrôle du taux de mortalité a été effectué par comptage des larves dans trois aliquotes de 100 µl pour un volume d'élevage concentré à 2 litres. Un suivi de la croissance a été parallèlement réalisé par mesure d'un échantillon de 30 larves à l'aide d'un projecteur de profil couplé à un ordinateur. Une ration quotidienne de phytoplancton a été apportée à raison de 20 cellules par µl d'*Isochrysis galbana* et de 40 cellules par µl de *Chaetoceros calcitrans* (forma *pumilum*).

Au stade pédivéligère (apparition du pied et de la tache oculaire), les larves ont été transférées en micronurserie dans des raceways de 100 litres alimentés en continu par de l'eau de mer filtrée à 20 µm. Dans ces bacs, les larves ont été placées dans des tamis de 150 µm contenant de la brisure de coquille pour faciliter la fixation et la manutention. Un suivi de croissance a alors été effectué tous les 10 jours environ. Pendant cette phase, les post-larves ont été nourries de la même façon que les géniteurs lors de leur accueil en salle quarantaine.

Arrivées à une taille d'environ 2 mm, les post-larves ont été transférées à la nurserie IFREMER de Bouin.

3.3.2. Résultats.

L'évolution des différents paramètres de l'élevage est consignée dans les tableau 2 et 3 et illustrée dans les figures 1 à 3.

Jour	Nombre x 1000	Survie en %	ECHANTILLONNAGE				CONDITIONS D'ELEVAGE			
			N	Lm	std	μ / J	T°C	S ‰	Filtre	Phyto
1	1830	100.0	30	68	2		23.8	33.6	45	I + Cp
4	1600	87.4	30	78	3	3.3	23.2	34.0	45	I + Cp
6	1550	84.7	30	93	8	7.1	23.5	34.1	60	I + Cp
8	1300	71.0	30	123	9	15.1	24.3	34.1	75	I + Cp
11	1000	54.6	30	156	29	11.0	24.2	33.5	100	I + Cp
12	740	40.4	30	159	23	3.2	24.4	33.5	100	I + Cp
15	740	40.4	30	188	29	9.8	23.4	34.2	112	I + Cp
18	640	35.0	30	240	35	17.3	23.5	34.0	125	I + Cp
20	640	35.0	30	277	19	18.4	23.6	33.5	150	
33			30	1001	223	55.7	23.5	33.7		
41			30	2054	495	131.6	23.5	33.4		

Tableau 2 : Paramètres de l'élevage larvaire et post-larvaire de *Crassostrea virginica*.

N : nombre d'huître échantillonné, **Lm** : longueur moyenne de l'axe antéropostérieur, **std** : écart type, **μ /J** : accroissement journalier moyen, **T°C** : température de l'eau d'élevage, **S ‰** : salinité de l'eau d'élevage, **I** : *Isochrysis galbana*, **Cp** : *Chaetoceros calcitrans* (clone *pumilum*)

Jour	Nombre x 1000	Survie en %	ECHANTILLONNAGE				CONDITIONS D'ELEVAGE			
			N	Lm	std	μ / J	T°C	S ‰	Filtre	Phyto
1	1630	100.0	30	74	2		23.8	33.6	45	I + Cp
4	1600	98.2	30	86	4	3.8	23.2	34.0	45	I + Cp
6	1600	98.2	30	98	5	6.1	23.5	34.1	60	I + Cp
8	1600	98.2	30	124	7	12.8	24.3	34.1	75	I + Cp
11	1100	67.5	30	141	14	5.8	24.2	33.5	100	I + Cp
12	1000	61.3	30	168	17	27.1	24.4	33.5	100	I + Cp
15	840	51.5	30	186	22	6.0	23.4	34.2	112	I + Cp
18	700	42.9	30	230	24	14.5	23.5	34.0	125	I + Cp
20	680	41.7	30	245	29	7.8	23.6	33.5	150	
33			30	951	191	54.3	23.5	33.7		
41			30	1982	495	128.8	23.5	33.4		

Tableau 3 : Paramètres de l'élevage larvaire et post-larvaire de *Crassostrea gigas*.

N : nombre d'huître échantillonné, **Lm** : longueur moyenne de l'axe antéropostérieur, **std** : écart type, **μ /J** : accroissement journalier moyen, **T°C** : température de l'eau d'élevage, **S ‰** : salinité de l'eau d'élevage, **I** : *Isochrysis galbana*, **Cp** : *Chaetoceros calcitrans* (clone *pumilum*)

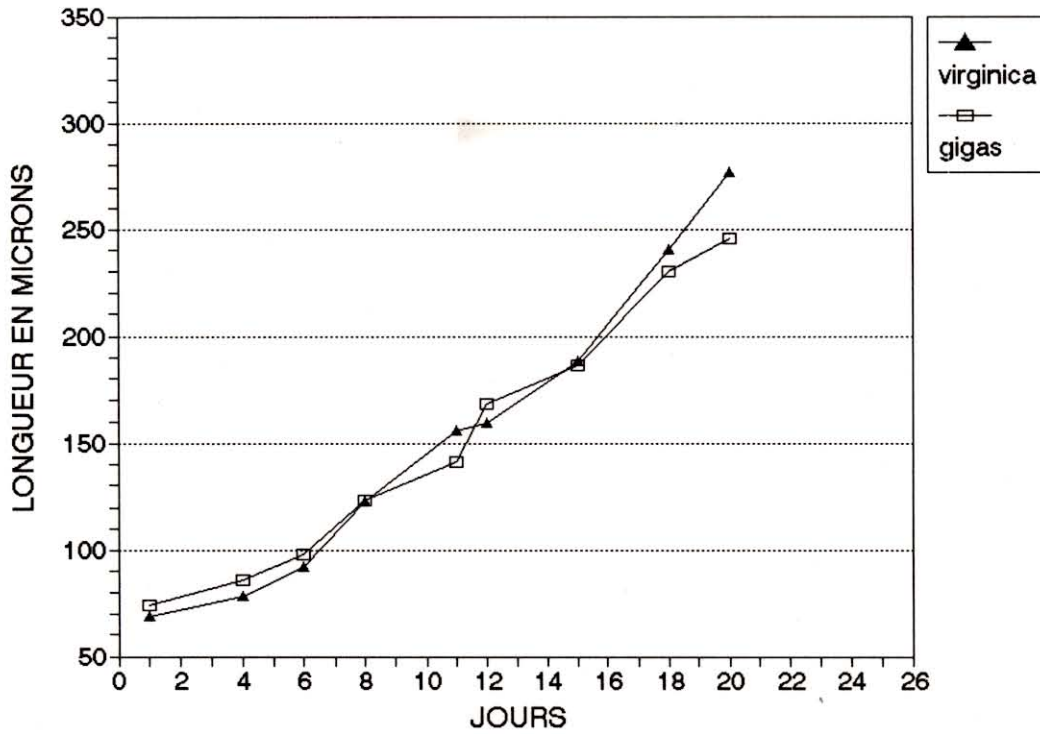


Figure 1 : Evolution de la croissance larvaire dans les élevages de *Crassostrea gigas* et *Crassostrea virginica*

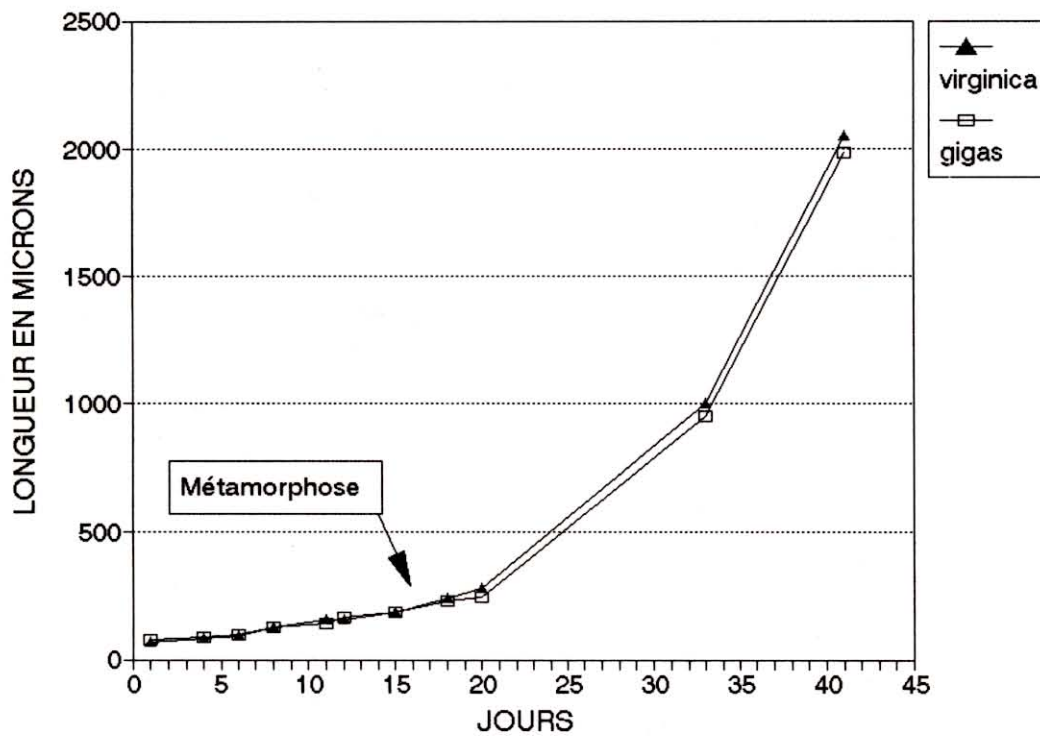


Figure 2 : Evolution des croissances larvaire et post-larvaire dans les élevages de *Crassostrea gigas* et *Crassostrea virginica*

Au stade larve D (tableau 2 et 3), les huîtres *C. virginica* avaient une taille légèrement plus faible que celle des *C. gigas* ($68 \pm 2 \mu\text{m}$ contre $74 \pm 2 \mu\text{m}$). Cette tendance s'est rapidement inversée au profit des premières. Ainsi à la métamorphose, le lot de *C. virginica* présentait une taille moyenne de $277 \pm 19 \mu\text{m}$ contre $245 \pm 27 \mu\text{m}$ pour *C. gigas*. Au moment du transfert à Bouin, l'avance des *C. virginica* était conservé avec une taille moyenne de $2054 \pm 545 \mu\text{m}$ contre $1982 \pm 495 \mu\text{m}$ pour *C. gigas*. Quelque soit le stade considéré, toutes les différences enregistrées n'étaient cependant pas significatives à un seuil de 5%.

Un taux de mortalité (figure 3) légèrement supérieur a été enregistré pour *C. virginica* pendant l'élevage larvaire (65% contre 58%). Par contre une mortalité brutale a été enregistrée sur le lot de *C. gigas*, après une opération de tamisage, juste avant leur expédition à la nurserie de Bouin. L'importance de cette mortalité a justifié le recours à un lot de télécaptage de même taille et de même âge pour servir de témoin au lot de *C. virginica*.

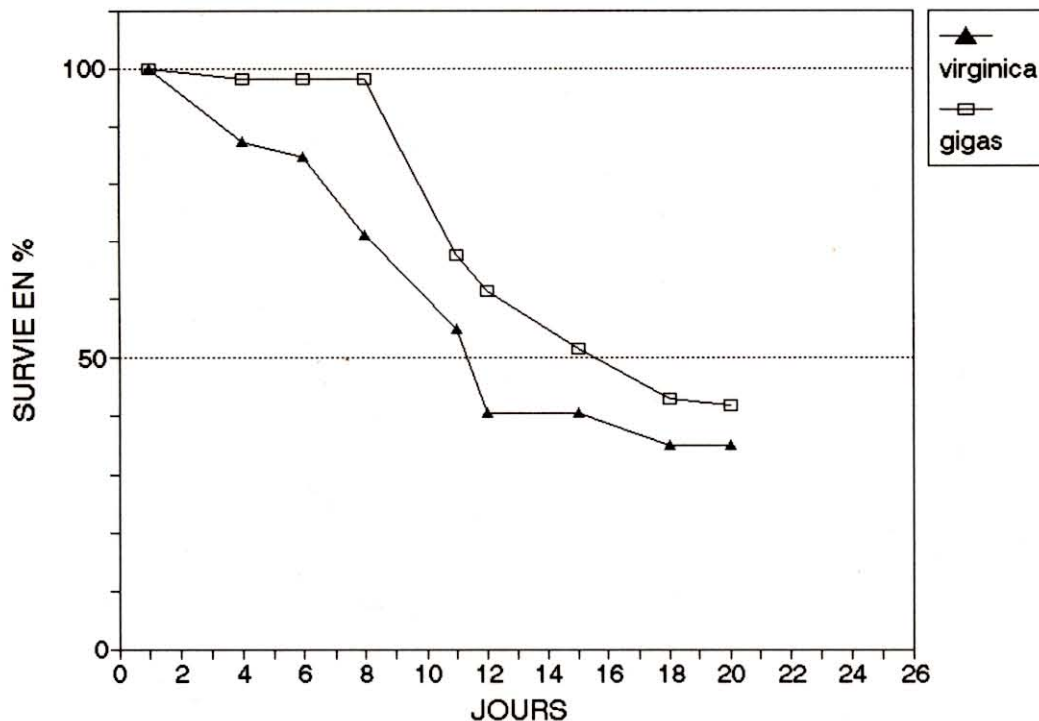


Figure 3 : Evolution de la survie dans les élevage larvaires de *Crassostrea gigas* et *Crassostrea virginica*.

4. PHASE NURSERIE

Les travaux sur la phase de prégrossissement, du naissain de 4 mm à 10 ou 20 mm, ont été menés à la station IFREMER de Bouin située à proximité du bassin conchylicole de la baie de Bourgneuf.

Dans ce site, le contrôle de la production de nourriture phytoplanctonique toute l'année à partir d'eau salée souterraine riche en sels nutritifs et l'optimisation des paramètres de prégrossissement pour les principales espèces d'intérêt commercial (Baud et Bacher, 1990 ; Bacher et Baud, 1992) permettent d'obtenir une croissance, une survie et une comparaison satisfaisantes des différences espèces étudiées.

4.1. Système expérimental et méthodes

4.1.1. Technique de prégrossissement

La nurserie de Bouin est composée d'un bac tampon continuellement alimenté, par pompage, en eau de mer enrichie par du phytoplancton (*Skeletonema costatum*) et de 10 couloirs de prégrossissement pouvant contenir chacun 10 tubes tamis de diamètre 50 cm ou 20 tubes de diamètre 31 cm ou 20 cm. L'ensemble est protégé des intempéries par un bâtiment de type industriel.

A partir du bac tampon, l'écoulement dans les couloirs se fait gravitairement et alimente en flux continu ascendant (upwelling) les tubes tamis dans lesquels sont élevés les naissains de coquillages. Ce dispositif permet d'élever le naissain de bivalves sur plusieurs épaisseurs et évite le colmatage par autonettoyage des fèces et pseudofèces qui sont emportés par le courant ascendant.

4.1.2. Normes de prégrossissement

Le transfert des lots issus de l'écloserie s'est effectué le 22 septembre 1992. Une mortalité accidentelle ayant décimé le lot de *Crassostrea gigas* avant cette date une population de taille et d'âge similaires à *Crassostrea virginica* a été achetée à l'écloserie Legoff située à Bouin pour permettre la comparaison.

L'élevage a été réalisé selon des normes préétablies qui sont regroupées dans le tableau 4

Tube tamis		Nombre d'individus		Débit par tube tamis		Ration alimentaire
Diamètre	Surface	Par tube tamis	Par cm ²	Eau de mer	Phytoplancton	Par individu
50 cm	1 962 cm ²	25 000	13	3 m ³ /h	87,5 l/h	200.10 ⁶ cell/ind/jour

Tableau 4 : Normes d'élevage pour le prégrossissement comparatif de *C. gigas* et *C. virginica*. La ration alimentaire est composée exclusivement par la diatomée *Skeletonema costatum* mélangée à l'eau de mer.

La densité de 25 000 individus par tube tamis a été respectée au début de l'élevage. Par la suite pour éviter l'hétérogénéité des tailles due à une compétition alimentaire à l'intérieur des enceintes d'élevage, les lots ont été tamisés régulièrement. Différentes classes de taille ont été ainsi définies en fonction du maillage du tamis : T2, T4, T6. Le débit d'eau de mer enrichie et le diamètre du tube tamis ont été choisis pour respecter au mieux la densité de 13 individus/cm² et la ration alimentaire de 200.10⁶ cell/ind/jour.

4.1.3. Expression des résultats

Les variables hydrobiologiques

La température et la salinité ont été relevées quotidiennement à l'aide d'un thermomètre mini-maxi précis à 0,5°C près et d'un conductimètre de terrain WTW à 0.1‰. L'évolution de l'oxygène dissous a été mesurée plusieurs fois au cours de la période estivale.

Des contrôles de la quantité de nourriture injectée ont été réalisés 2 fois par semaine par comptage du phytoplancton sur une cellule hématologique de type Malassez.

Les paramètres biométriques

A chaque tamisage, tous les 15 jours environ, une mensuration au 1/10ème de mm et une pesée individuelle au 1/1 000ème de gramme ont été effectuées sur un prélèvement de 30 individus de chaque classe de taille. L'hétérogénéité des différents lots a pu être également comparée entre le début et la fin du prégrossissement.

A partir des mensurations moyennes, le coefficient de croissance journalier entre 2 prélèvements peut être calculé selon la formule suivante :

$$G1 = \frac{1}{t-t_0} \times \ln \frac{W_t}{W_{t_0}}$$

W_{t_0} = poids initial exprimé en gramme.

W_t = poids final exprimé en gramme.

$t-t_0$ = Durée du prégrossissement entre deux prélèvements en jours.

Le pourcentage de matière organique par tamis et par espèce estimé par différence de pesée d'un pool de 30 individus après lyophilisation pendant 48 h et crémation à 450°C pendant 24 h a permis de différencier sur le plan qualitatif les 2 lots en phase finale de prégrossissement.

Enfin, le pourcentage de mortalité cumulée pour chaque espèce a été calculé par différence entre le nombre de naissain au début et à la fin de la période de prégrossissement.

4.2. RESULTATS

4.2.1. Les variables hydrobiologiques

Le prégrossissement automnal des lots d'huîtres *C. gigas* et *C. virginica* s'est déroulé du 22 septembre au 8 décembre 1992. Durant cette période de 77 jours, une décroissance de la température du milieu d'élevage d'environ 10°C a été enregistrée avec un maxima à 18°C fin septembre et un minima atteignant 8°C vers la mi-novembre (fig. 4). Cette diminution thermique du milieu d'élevage peut être découpée en trois phases : une période d'amplitude thermique décroissante d'environ 4 à 5°C pendant une quinzaine de jours, suivie d'une période de stabilité d'un mois à 12°C, cette dernière faisant place à une instabilité thermique d'une vingtaine de jours qui peut être moyennée aux alentours de 10°C.

La salinité a évolué durant la période étudiée entre 31,3 ‰ et 35,1 ‰ (fig. 4). Le milieu d'élevage a enregistré une relative stabilité de la salinité (entre 34 ‰ et 35 ‰) jusqu'à la fin octobre pour subir une décroissance d'environ 3 ‰ issue des précipitations abondantes du début novembre.

Pendant la période estivale, la concentration du milieu en oxygène dissous est demeurée supérieure ou égale à 80% de la saturation.

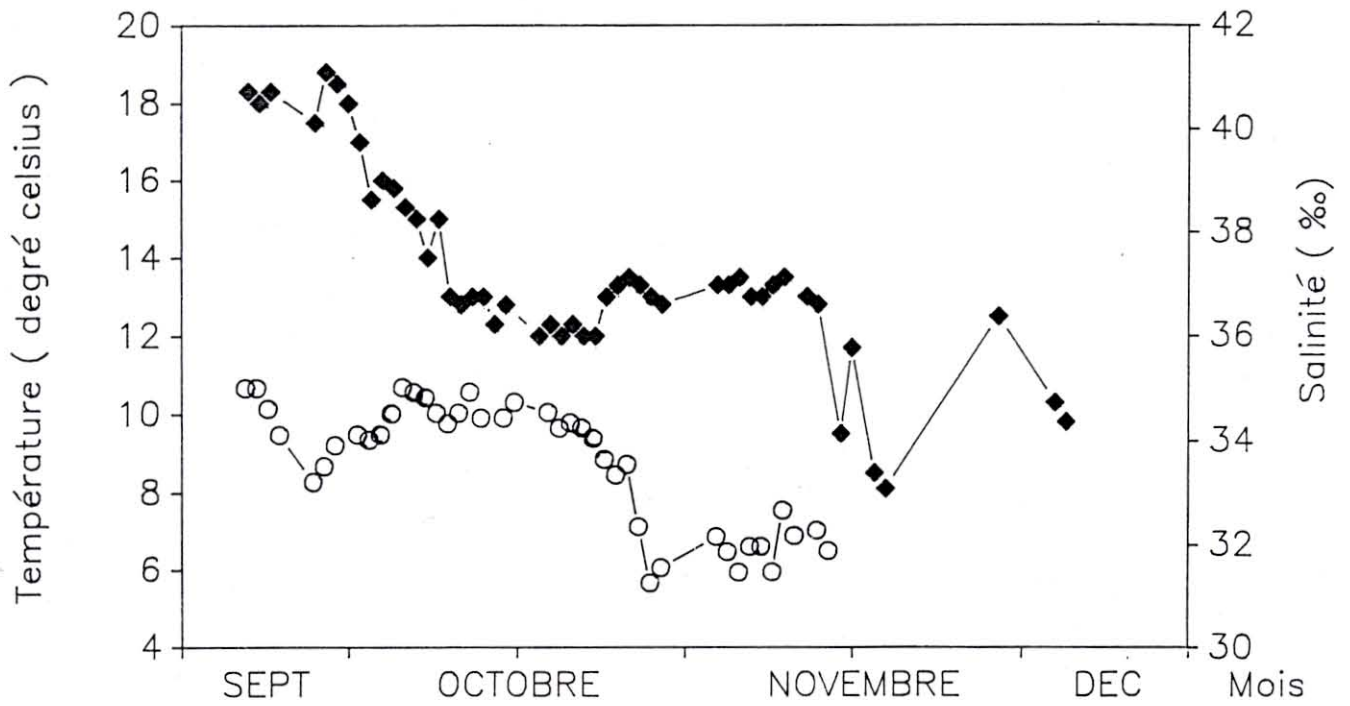


Figure 4 : Evolution de la température et de la salinité du milieu d'élevage durant la période de prégrossissement en nurserie.

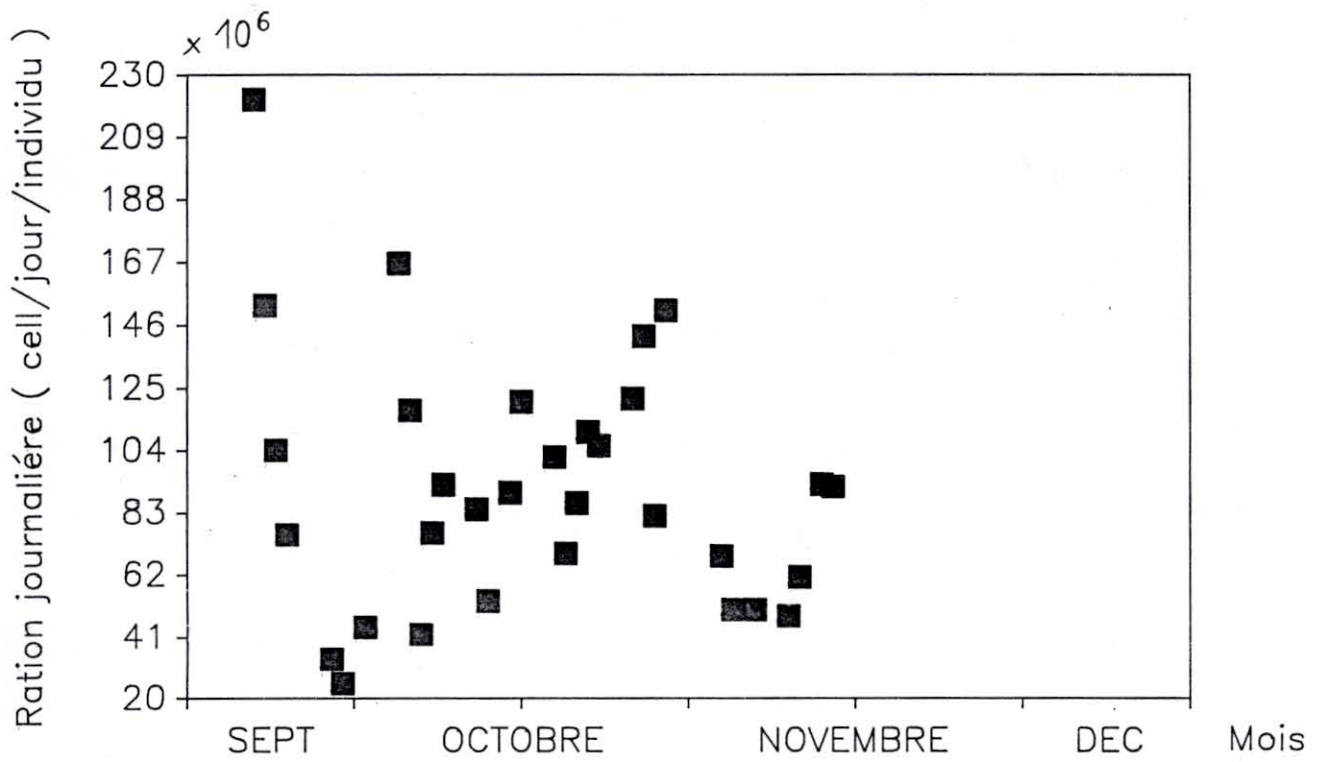


Figure 5 : Evolution de la ration journalière de phytoplancton (*Skeletonema costatum*) par individu élevé dans la nurserie.

La ration journalière moyenne avec 92.10^6 cellules par animal et par jour a été inférieure de 54 % à la norme théorique de 200.10^6 cellules. La variabilité moyenne est comprise entre 30 et 150.10^6 cellules. Cependant quelques valeurs extrêmes atteignent 25.10^6 et 220.10^6 cellules mais restent exceptionnelles (fig. 5).

4.2.2. Comparaison de croissance de *C. gigas* et *C. virginica*

La répartition de la population de *C. virginica* et *C. gigas* en classes de taille par tamisage a permis d'éviter la compétition alimentaire entre les individus de différentes tailles et par la même une hétérogénéité trop grande des lots testés.

Les résultats biométriques pour chaque classe de taille par espèce sont regroupés dans le tableau 5.

Classe de taille	<i>C. VIRGINICA</i>			<i>C. GIGAS</i>		
	Taille (mm)	Poids (g)	% Organique	Taille (mm)	Poids (g)	% organique
T2	5,3 (0,1)	0,035 (0,002)	5,06	4,5 (0,2)	0,024 (0,003)	-
T4	7,2 (0,2)	0,094 (0,014)	4,40	7,3 (0,2)	0,099 (0,008)	5,60
T6	10,1 (0,3)	0,220 (0,076)	4,00	9,4 (0,2)	0,183 (0,012)	5,45
T8	-	-	-	11,5 (0,3)	0,312 (0,015)	5,50
T10	-	-	-	15,1 (0,6)	0,573 (0,044)	5,84

Tableau 5 : Longueur moyenne, poids moyen et pourcentage de matière organique du naissain de *C. gigas* et *C. virginica* par classe de taille après tamisage. Entre parenthèse figure l'intervalle de confiance à 95% ($2\sigma/\sqrt{n}$).

Il faut noter que le pourcentage de matière organique estimé à 5,5 % pour l'espèce *C. gigas* est supérieur pour les mêmes classes de taille à *C. virginica* qui ne totalise que 4,2 %. Si cette tendance se confirmait dans l'avenir, elle mettrait en évidence une plus forte proportion de masse de chair pour *C. gigas* à taille égale par rapport à *C. virginica*. Ceci pourrait être sur le plan de la commercialisation un facteur qualitatif défavorable pour l'huître d'origine américaine.

A partir des différentes classes de taille, il est possible d'établir une distribution des fréquences de classes à la fin du prégressissement qui soit représentative de l'hétérogénéité des populations (fig. 6).

Pour l'huître *C. virginica*, la population est très homogène avec 87 % de l'effectif représenté par la classe T4. La croissance est faible en comparaison avec la fréquence de distribution en classes de taille de la période initiale du prégressissement et par rapport à *C. gigas*. Pour cette espèce 80 % de l'effectif est concentré sur les classes T4 et T6 dont 50 % pour la seule classe de tamis de 6. La tête de lot se répartit sur les classes T8 et T10 alors que ces dernières sont pratiquement inexistantes pour l'espèce *C. virginica*.

L'hétérogénéité de la population est plus grande chez l'huître japonaise et l'évolution de croissance en taille ou en poids (fig. 7 et 8) demeure beaucoup plus forte et continue pour cette espèce par rapport à *C. virginica*. Après 77 jours de prégressissement, la différence de croissance moyenne est très élevée entre les 2 espèces. La taille et le poids moyens atteignent 9,9 mm et 0,237 g pour *C. gigas* alors qu'on obtient des chiffres de 7,9 mm et 0,128 g pour *C. virginica*.

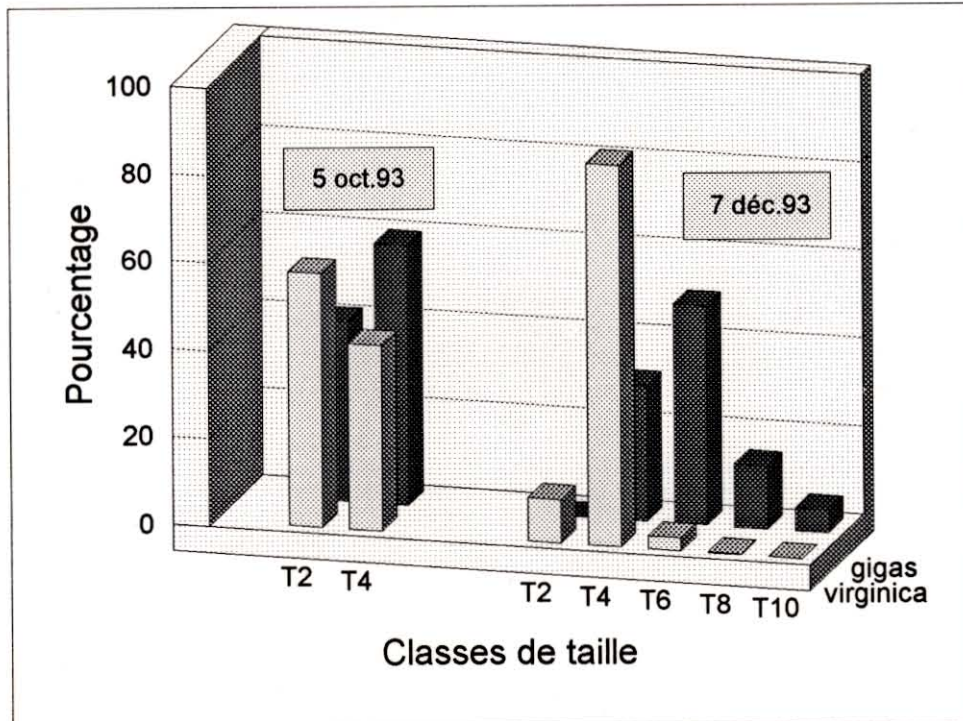


Figure 6 : Distribution des fréquences de classes de taille pour les espèces *C. gigas* et *C. virginica* en phase finale de prégrossissement.

Période	Température °C	<i>C. virginica</i>	<i>C. gigas</i>
22/9 au 6/10	17,2 (0,4)	0,055	0,090
7/10 au 26/10	12,9 (0,2)	0,023	0,038
27/10 au 12/11	13,1 (0,1)	0,028	0,028
13/11 au 8/12	10,1 (0,6)	0,009	0,021

Tableau 6 : Evolution du coefficient de croissance (G1) et de la température d'élevage pour *C. gigas* et *C. virginica* à différentes périodes du prégrossissement. Entre parenthèse figure l'écart-type de la température.

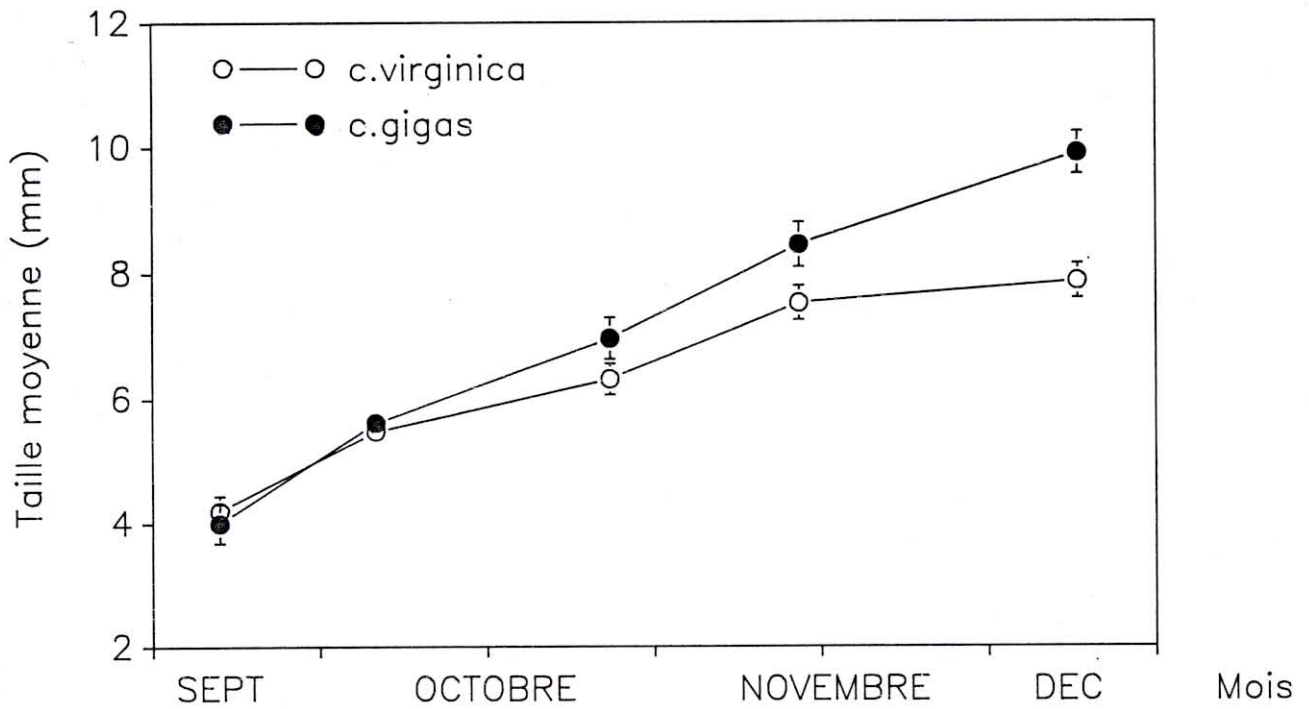


Figure 7 : Evolution de la croissance exprimée en longueur de coquille pour *C. virginica* et *C. gigas* au cours de la période de prégrossissement.

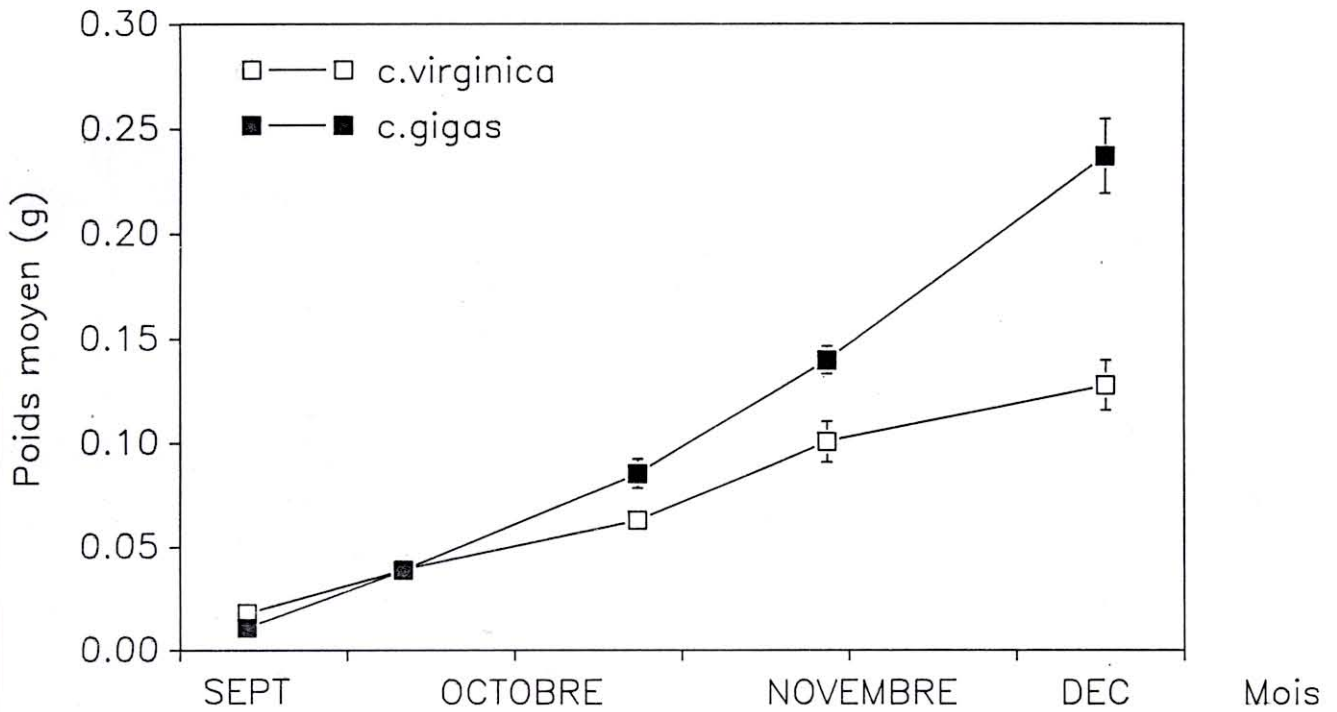


Figure 8 : Evolution de la croissance exprimée en poids de coquille pour *C. virginica* et *C. gigas* au cours de la période de prégrossissement.

Cette évolution de croissance peut être quantifiée entre chaque prélèvement et comparée aux températures d'élevage à ces différentes périodes. Les estimations de croissance journalière regroupées dans le tableau 3 montrent que les coefficients de croissance de *C. gigas* sont pratiquement toujours supérieurs à ceux de *C. virginica*. Une différence de l'ordre de 57 % est enregistrée entre le coefficient de croissance de *C. gigas* et *C. virginica* pour la période allant de mi-novembre à début décembre.

De plus alors que la différence de croissance est insignifiante pour l'huître japonaise entre la période précédente à celle-ci, elle est de plus de 3 fois inférieure pour l'huître d'origine américaine.

Cette baisse brutale de croissance de *C. virginica* est à mettre en parallèle avec la décroissance des températures. En effet, la température moyenne en fin de prégrossissement est de 10,1°C (tableau 6). Ainsi cette perte de 3 degrés par rapport aux conditions d'élevage ultérieures semblent affecter de façon significative l'espèce *C. virginica* alors qu'elle est sans effet pour *C. gigas*.

Le taux de mortalité cumulé sur toute la période de prégrossissement est de 23,7 % pour *C. gigas* et de 9,2 % pour *C. virginica*. Le plus fort pourcentage de perte pour l'huître japonaise est issu de mortalités survenues dès l'immersion du lot provenant de l'écloserie et ne peut donc être imputable aux conditions d'élevage. Ces pertes restent malgré tout acceptables par rapport à la norme habituelle qui a été estimée pour l'huître creuse à 14 % par Baud en 1991.

5. EXAMENS PATHOLOGIQUES

5.1. Matériel et méthodes

Les animaux sur lesquels ont porté les examens pathologiques sont des sujets provenant de la nurserie IFREMER de BOUIN. Les huîtres ont été prélevées le 26 octobre 1992 et fixées le 27 octobre, soit pour des examens histologiques, soit pour analyse en microscopie électronique. Ces animaux ne présentaient aucune mortalité anormale au moment du prélèvement.

L'examen histologique des échantillons d'huîtres américaines, *C. virginica*, a été effectué après fixation de 48 heures au liquide de BOUIN (30 individus) ou au liquide de DADVISON (50 individus) des animaux entiers sortis de leur coquille, déshydratation, imprégnation et inclusion dans la paraffine. Des coupes histologiques de quatre et de deux micromètres d'épaisseur ont été réalisées puis colorées à l'Hemalum-éosine.

Les observations, en microscopie électronique de prélèvements de glande digestive et de branchies d'huîtres américaines, ont été réalisées après fixation en glutaraldehyde 3%, post fixation à l'acide osmique 1%, déshydratation par bains d'alcools progressifs, imprégnation et inclusion en Epon. Des coupes semi-fines (0,5 µm) ont été préparées, puis colorées au bleu de toluidine avant examen. Des coupes ultrafines ont été également réalisées, contrastées par l'acétate d'uranyl et le citrate de plomb, puis observées sur un microscope électronique JEOL JEM 1200 EX à 60 kV.

5.2. Résultats des analyses

L'observation des lames histologiques, colorées à l'Hemalum-éosine, aussi bien pour les animaux fixés au BOUIN que pour ceux fixés au DAVIDSON, n'a pas permis de déceler la présence de parasites métozoaires et protozoaires, d'agents fongiques ou de procaryotes (bactéries, rickettsies et chlamydies). Cependant, chez environ 40% des animaux observés, il est possible de mettre en évidence de rares foyers lésionnels au niveau du tissu conjonctif, en particulier dans la glande digestive, dans le manteau et les branchies. Dans ces zones, le tissu conjonctif apparaît lâche et désorganisé, prenant souvent un aspect nécrotique associé à la présence de cellules basophiles possédant un cytoplasme vacuolisé et de débris cellulaires (photos 1 et 2). Par ailleurs, ces foyers lésionnels ne semblent pas associés à la présence de bactéries ou d'un quelconque agent pathogène visible en microscopie optique.

De ce fait, des échantillons de glande digestive et de branchies ont été préparés pour observation en microscopie électronique. L'examen de ces prélèvements montre un tissu conjonctif riche en grandes cellules vésiculeuses. Ces cellules présentent un cytoplasme, très développé, ne contenant que quelques organites (mitochondries) et d'importantes quantités de substances de réserve (glycogène sous forme de granulations et lipides sous forme de globules).

Par ailleurs, il est également possible d'observer des images de vacuolisation au niveau de certains noyaux cellulaires. En effet, plus particulièrement les noyaux de cellules épithéliales de l'intestin présentent des foyers de vacuoles, de tailles diverses, apparaissant vides en microscopie électronique à transmission (photo 3). Ces images peuvent être interprétées comme des inclusions intranucléaires de lipides que le procédé de traitement des échantillons pour la microscopie électronique n'a pas permis de conserver en place. Les cellules épithéliales pour lesquelles cette image, peut être observée montrent souvent en association, d'importantes réserves de glycogène.

5.3. Conclusions

En conclusion, l'observation en microscopie photonique et en microscopie électronique des échantillons d'huître américaine, *C. virginica*, n'a pas permis la détection d'agents pathogènes.

Cependant, notons que chez les animaux analysés, des accumulations développées de substances de réserve (glycogène et lipides) ont été mises en évidence et qu'il existe en parallèle des foyers lésionnels du tissu conjonctif. Ce type de lésion pourrait être interprété comme la conséquence d'une surcharge des cellules en substances de réserve aboutissant à une lyse cellulaire.

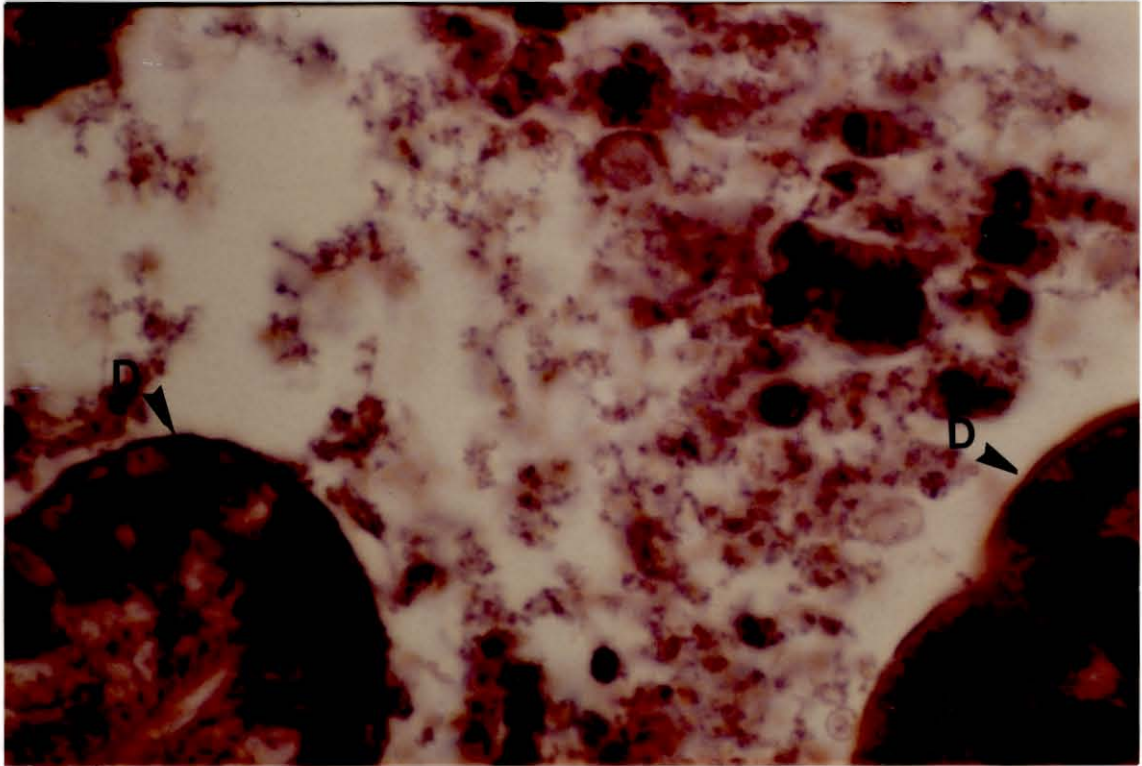


Photo 1.- Coupe histologique de glande digestive présentant un foyer lésionnel du tissu conjonctif (cellules basophiles et débris cellulaires), entre les diverticules digestifs (D). 4 μ m - Hémalun éosine - Grossissement 800.

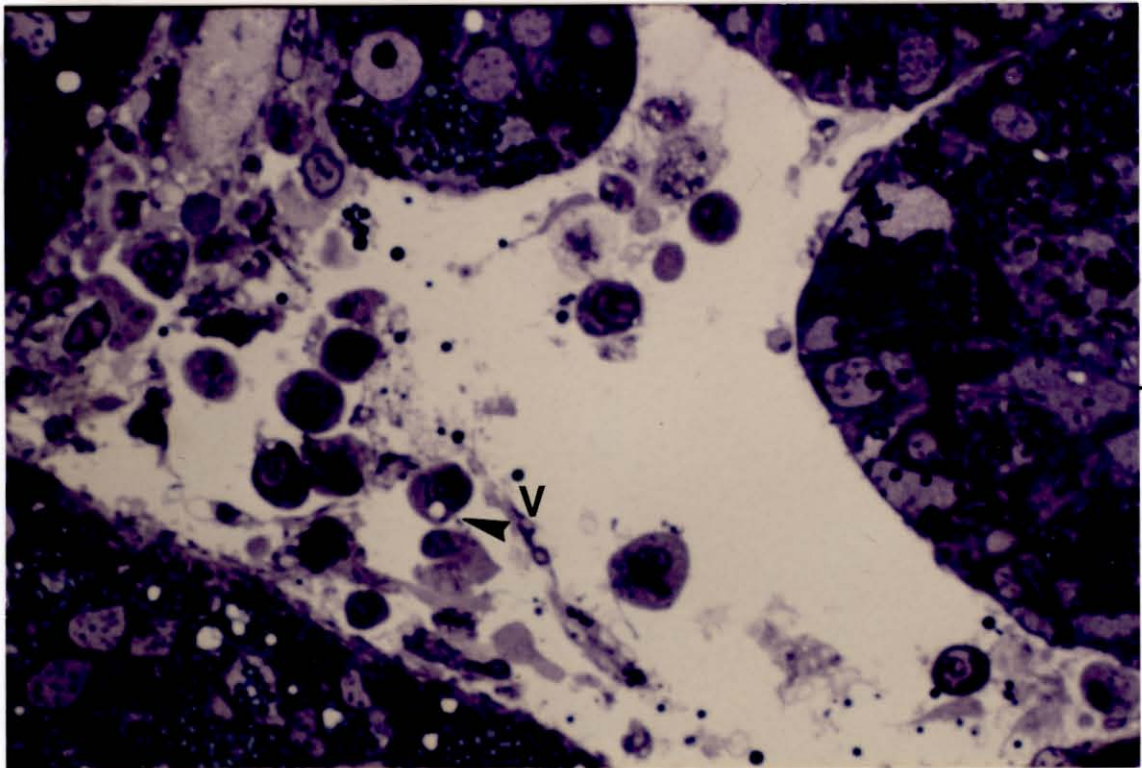


Photo 2.- Coupe semi-fine de glande digestive. Tissu conjonctif présentant une structure lâche, associée à la présence de cellules possédant un cytoplasme vacuolisé (V). 1 μ m - Bleu de Toluidine - Grossissement 800.

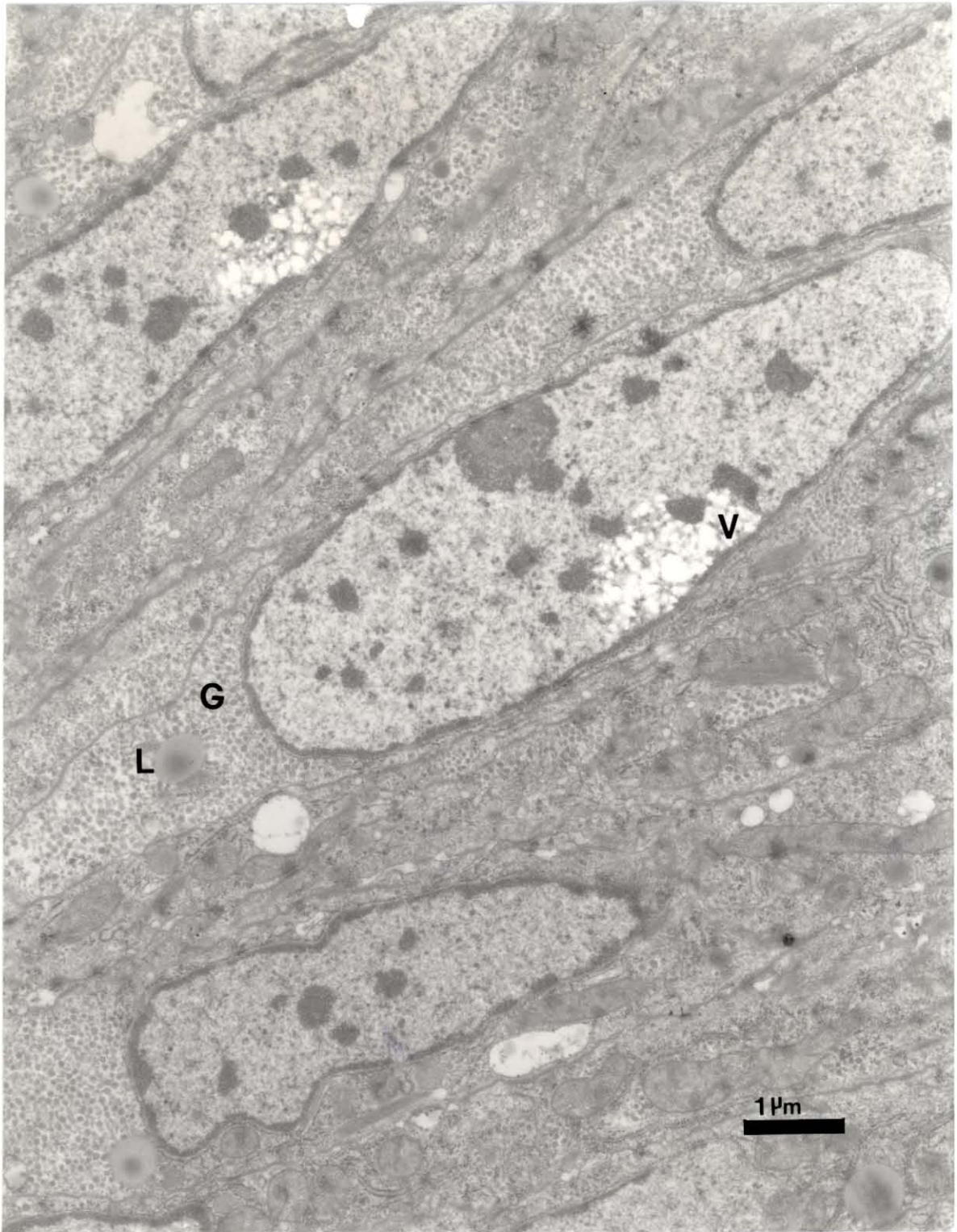


Photo 3.- Cellules épithéliales de l'intestin: vacuoles (V) dans le noyau, inclusion lipidique (L) et glycogène (G). Grossissement 5000.

6. CONCLUSION

La comparaison de l'espèce *C. gigas* et *C. virginica* dans les phases larvaires, post-larvaires et prégrossissement intensif automnal, a mis en évidence les points suivants :

- au stade larve D, les huîtres américaines ont une taille légèrement plus faible que celle des huîtres japonaises,

- par contre, cette tendance s'est inversée durant l'élevage larvaire, où l'huître américaine a eu un développement légèrement plus rapide que l'huître japonaise,

- une plus grande résistance de l'huître américaine aux stress de manipulation en micronurserie,

- durant la phase de prégrossissement automnale, une croissance plus faible de *C. virginica* par rapport à *C. gigas*,

- un seuil de température du milieu d'élevage estimé à 10-11°C en dessous duquel la croissance de l'huître d'origine américaine est très faible,

- un pourcentage de matière organique moins important pour *C. virginica*,

- une mortalité faible au cours du prégrossissement pour cette espèce.

Les analyses pathologiques du naissain de *Crassostrea virginica*, en microscopies optique et électronique n'ayant permis de déceler aucun pathogène, la phase de contrôle des performances biologiques dans le milieu naturel pourra débuter au printemps 1993. Par sécurité, un dernier contrôle pathologique sera réalisé en mars 1993.

Cette étude comparée devra être poursuivie jusqu'à la taille marchande afin de définir les potentialités de l'huître creuse *Crassostrea virginica* comme espèce de remplacement ou de diversification pour l'ostréiculture française.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bacher C. & Baud J.P., 1992. Intensive rearing of juveniles oysters *Crassostrea gigas* in an upwelling system : optimization of biological production. *Aquat. Living Resour*, 5 : 89-98.

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.

Galtsoff P.S. , 1964. The american oyster *Crassostrea virginica* Gmelin. Fishery Bulletin of the Fish and Wildlife Service, vol. 64 : 480 p.

Héral M., 1989. L'ostréiculture française traditionnelle, in *Aquaculture*, vol 1 : 347-399.