

Optimisation d'une méthode
standardisée de choc
thermique sur des juvéniles
de *Crassostrea gigas* :
application à des populations d'écloseries.



Direction Des Ressources Vivantes
Ressources Aquacoles
Laboratoire Conchylicole des Pays de la Loire

ifremer Catois S., Haure J., Martin J-L., Nourry M., Palvadeau H.,
Baud J-P.

Avril.99 – R.INT.DRV-RA/LCPL/98.

Optimisation d'une méthode
standardisée de choc
thermique sur des juvéniles
de *Crassostrea gigas* :
application à des populations d'écloseries.



REMERCIEMENTS

Cette étude a été partiellement financée par le Conseil Régional des Pays de la Loire par l'intermédiaire du SMIDAP.

Les auteurs tiennent à remercier :

Monsieur Christian PENISSON du Laboratoire Conchylicole des Pays de la Loire (Bouin), pour sa participation technique à la réalisation de cette étude.

Les éclosoirs et nurseurs pour leur accueil et pour la fourniture du naissain utilisé pour réaliser cette étude.

Madame Françoise Launay de la station IFREMER de Bouin pour la mise en page de ce rapport.

FICHE DOCUMENTAIRE

Numéro d'identification du rapport : DRV/RA/ST/99-02 Diffusion : libre X restreinte <input type="checkbox"/> interdite <input type="checkbox"/> Validé par : DRV/RA Version du document :		date de publication : Avril 1999 nombre de pages 42 bibliographie (Oui) illustration(s) (Oui) langue du rapport Français
Titre et sous-titre du rapport : Optimisation d'une méthode standardisée de choc thermique sur des juvéniles de <i>Crassostrea gigas</i> : application à des populations d'écloseries. Titre traduit : Validation of a standard method of heat shock on <i>Crassostrea gigas</i> spat :results on oysters produced in hatchery.		
Auteur(s) principal(aux) : nom, prénom Stéphane CATOIS, Joël HAURE, Jean-Louis Martin, Max NOURRY, Hubert PALVADEAU, Jean-Pierre BAUD.		Organisme / Direction / Service, laboratoire IFREMER/ DRV/ RA/ LCPL BOUIN.
Collaborateur(s) : nom, prénom PENISSON Christian		Organisme / Direction / Service, laboratoire IFREMER/ DRV/ RA/ LCPL BOUIN
Travaux universitaires : diplôme : _____ discipline : _____ établissement de soutenance : _____ année de soutenance : _____		
Titre du contrat de recherche : Optimisation d'une méthode de stress chez les juvéniles et les adultes de <i>Crassostrea gigas</i> d'écloserie et de gisements naturels.. Organisme commanditaire : nom développé, sigle, adresse: Région des Pays de la Loire (SMIDAP) 1 Boulevard de la Loire 44067 NANTES Cedex 02 Organisme(s) réalisateur(s) : nom(s) développé(s), sigle(s), adresse(s) Institut Français pour la Recherche et l'Exploitation de la MER (IFREMER) L.C.P.L Polder des champs 85230 BOUIN FRANCE Responsable scientifique : Jean-Pierre BAUD		n° de contrat IFREMER Numéro: 98 06802
Cadre de la recherche : Programme : _____ Convention : Annuelle, IFREMER/Région des Pays de la Loire. Projet : _____ Autres (préciser) : _____		

RÉSUMÉ

L'apparition et la répétition depuis 1995, d'importantes mortalités estivales chez les juvéniles d'huître creuse *Crassostrea gigas* en élevage représente un réel problème pour l'ostréiculture en France.

Cette étude s'inscrit donc dans l'esprit des travaux antérieurs visant à standardiser un stress applicable au naissain d'huître creuse.

Un modèle utilisable pour le naissain de captage naturel et prenant en compte le poids moyen, vis à vis du temps d'application d'un choc thermique à 50°C appliqué à des juvéniles de 500 à 2000 mg, a été établi en 1998 pour provoquer 50% de mortalité. Une table de correspondance poids des juvéniles, temps d'application du stress a ainsi été obtenue. Cependant, la précision de cette méthode reste trop élevée (40%) et doit donc être améliorée. Parallèlement à l'établissement de ce modèle, des populations d'écloseries identifiées ont été soumises à un choc thermique de 45°C selon l'abaque établi en 1997. Les résultats mettent en évidence une forte variabilité inter et intra-population dans les mortalités provoquées. Ces variabilités semblent être corrélées, d'une part, aux caractéristiques génétiques propres à chaque population, et d'autre part à la vitesse de croissance des animaux. Cependant, les résultats du suivi d'élevage de certains lots, montrent la fragilité d'un lot décelée de façon ponctuelle à l'aide de ce test ne prédit pas son devenir, c'est à dire, des mortalités ultérieures, sur parc.

Cet outil pourrait cependant être utilisé à terme par les professionnels pour une évaluation de la sensibilité du naissain de différentes populations vis à vis de l'application d'un choc thermique et par la recherche comme technique standard de stress dans des domaines d'étude aussi variés que la génétique, la physiologie et la pathologie.

Mots clefs : *Crassostrea gigas*, stress, choc thermique, mortalité.

ABSTRACT

Mortality among juvenile *Crassostrea gigas* has been occurring during the summer months since 1995 and is now considered to be a real problem for French oyster culture.

The aim of this study was to standardise the stress that could be applied to *Crassostrea gigas* spat.

In initial experiments in 1998, the weight of individual spat and the duration of a heat shock at 50°C in freshwater, adapted for oysters of between 500 and 2000 mg, were built into a model to obtain 50% mortality. However, the precision was low (50%) and will need to be improved in the future.

Following this, hatchery-produced juveniles weighing 10 to 500 mg were subjected to heat shock at 45°C in freshwater; the duration of the shock was calculated based on a model built in 1997. The results showed a high intra and inter-population variability in mortality. This variability seemed to be related to the genetic characteristics of each population and to the growth rate. However, the results of a study of growth where the nutritional conditions were different showed that this test is probably an estimate of a limited oyster fragility and is not predictive of other kinds of mortality.

However, this process could be used by breeders to estimate the sensitivity of different spat populations to heat shock before rearing, and in applied scientific research as a standard stress procedure in genetics, physiology and pathology.

Keywords : *Crassostrea gigas*, stress, heat shock, mortality.

SOMMAIRE

1. OPTIMISATION D'UN CHOC THERMIQUE STANDARD POUR DU NAISSAIN DE <i>CRASSOSTREA GIGAS</i> DE 500 Á 2000 MG	3
1.1. INTRODUCTION.....	3
1.2. MATÉRIELS ET MÉTHODES.....	3
1.2.1. Matériels biologiques	3
1.2.2. Nombre et effectif des réplicats	5
1.2.3. Protocole expérimental.....	5
1.3. RÉSULTATS	8
1.3.1. Cinétique des mortalités après le choc thermique.....	8
1.3.2. Durée d'application du choc thermique	10
1.3.3. Influence du poids moyen individuel.....	10
1.3.4. Etablissement du modèle.....	13
1.4. DISCUSSION	16
1.4.1. Protocole expérimental.....	16
1.4.2. Cinétique	16
1.4.3. Durée du choc thermique	16
1.4.4. Influence du poids moyen individuel.....	17
1.4.5. Modèle.....	17
1.4.6. Conclusion	18
2. APPLICATION DU CHOC THERMIQUE STANDARD Á DIFFERENTES POPULATIONS DE NAISSAIN DE <i>CRASSOSTREA GIGAS</i>	19
2.1. INTRODUCTION.....	19
2.2. MATÉRIELS ET MÉTHODES.....	19
2.2.1. La technique du choc thermique	19
2.2.2. Populations d'origines différentes.....	21
2.2.2.1. Matériels biologiques	21
2.2.2.2. Dispositif expérimental	23
2.2.3. Origine parentale.....	23
2.2.4. Cinétique de croissance et environnement d'élevage	25
2.2.4.1. Matériels biologiques	25
2.2.4.2. Conditions d'élevage.....	26
2.2.4.3. Suivi de la croissance et test de mortalité	28

2.3. RÉSULTATS	28
2.3.1. Populations d'origines différentes.....	28
2.3.1.1. Mortalité en fonction des lots.....	28
2.3.1.2. Influence des conditions d'élevage	31
2.3.2. Origine parentale.....	31
2.3.3. Influence de la qualité d'eau et de la ration alimentaire	33
2.3.3.1. Influence de la qualité d'eau	33
2.3.3.2. Évolution de la croissance.....	34
2.3.3.3. Mortalité en fonction de la ration alimentaire.....	34
2.3.4. Suivi sur estran de certaines populations	35
2.4. DISCUSSION	38
2.5. CONCLUSION GÉNÉRALE.....	39
3. BIBLIOGRAPHIE.....	41

Optimisation d'une méthode standardisée de choc thermique chez les juvéniles de *Crassostrea gigas* : application à des populations d'écloseries.

INTRODUCTION

Le milieu marin côtier, siège de l'élevage de l'huître creuse *Crassostrea gigas* est extrêmement variable. Les paramètres biologiques et physico-chimiques qui le définissent (présence de pathogènes, concentration en phytoplancton, turbidité, salinité, température et saturation en oxygène de l'eau) sont très différenciés suivant les saisons. Cette instabilité combinée à des conditions d'élevage plus ou moins intensives provoquent des stress importants chez les animaux. La notion de stress chez les animaux marins peut être définie comme une réaction physiologique perturbée de l'animal par rapport à une modification environnementale (Dhert *et al*, 1993). Parallèlement à cet état de stress, les problèmes de croissance et d'engraissement observés dans certains secteurs (Marennes-Oléron, Baie de Bourgneuf) induisent des conditions susceptibles de fragiliser l'espèce (Héral *et al*, 1986, Barillé-Goyer *et al*, 1997). De plus, des mortalités estivales sont observées sur du naissain de *Crassostrea gigas* dans les principaux centres de production depuis 1995.

Le comportement en élevage de l'huître creuse *Crassostrea gigas* ne permet pas de visualiser les stress. En effet, les mollusques filtreurs ont la particularité de ne manifester aucun signe comportemental traduisant un déséquilibre physiologique d'origine environnementale, nutritionnelle ou pathologique. Il est donc très difficile pour les scientifiques et/ou les éleveurs de prévoir des mortalités souvent brutales et importantes (Baud, comm pers., 1997).

Les travaux antérieurs de la station Ifremer de Bouin ont permis de contrôler certains paramètres d'élevage (nourriture, température, saturation en oxygène) (Baud, 1988 ; 1991). A partir de cet outil, il devenait donc possible de tenter de mettre en évidence l'influence des facteurs environnementaux sur le comportement (croissance et survie) du naissain de *Crassostrea gigas*. Des études antérieures (Chiffolleau, 1995 ; Glemarec, 1996) ont révélé que la température d'élevage et dans une moindre mesure l'exondation pouvaient avoir une influence sur le déroulement du prégrossissement intensif. Elles n'ont cependant pas montré de relation directe entre ces facteurs et la mortalité du naissain.

Il est donc apparu nécessaire à ce niveau de connaissance de mettre au point un outil d'appréciation de la survie et de la réaction du naissain par rapport aux perturbations environnementales d'ordre physique (variation de température, turbidité), chimique (variation de salinité, teneur en oxygène) et biologiques (pathogènes, compétiteurs), notamment en période estivale. Cependant afin de permettre le transfert à la profession, il est nécessaire de fixer certaines conditions initiales. Cet outil doit en effet être simple à mettre en œuvre, reproductible et peu coûteux.

C'est dans cette optique que des travaux ont été engagés pour la mise au point d'une méthode de stress standard chez des juvéniles de *Crassostrea gigas*. Après des expérimentations de choc de salinité, d'oxygène et de température réalisées par Glemarec (1996), le « stress standard » a été défini comme étant un choc thermique en eau douce à 45°C. Il était cependant important de prendre en compte le poids de l'animal par rapport à un temps d'application du stress.

Un premier modèle a été réalisé par Glemarec *et al.*, (1997) en prenant en compte le temps d'application du choc thermique et le poids de l'animal. Un abaque a également été calculé pour estimer le temps moyen d'application du choc thermique nécessaire pour obtenir 50% de mortalité sur une population de même origine. Ce travail a été réalisé sur du naissain de petite taille (4 à 14 mm), ce qui correspond à des animaux dont le poids individuel est compris entre 10 et 500 mg.

Le captage naturel réalisé sur Arcachon et Marennes-Oléron représente 85% de l'apport de juvéniles en France. Or le détroquage des huîtres sur capteur n'est réalisé qu'à des tailles voisines ou supérieures à 500 mg. De ce fait il est apparu opportun de réaliser dans un premier temps, un nouveau modèle prenant en compte les individus d'une gamme de poids de 500 à 2000 mg.

Dans une deuxième partie, et parallèlement à ce travail méthodologique, une évaluation en terme de survie à un choc thermique standard a été réalisée sur des populations d'huître creuse issues de nurserie. Les animaux ayant un poids inférieur à 500 mg, la température du stress a été de 45°C selon l'abaque établi par Glemarec *et al* (1997). Cette approche descriptive permet d'une part, de confirmer ou d'infirmer les premières tendances obtenues précédemment sur la variabilité intra et inter-population en matière de résistance à un choc thermique standard, et d'autre part, de montrer l'influence de l'environnement, de l'origine génétique des animaux et de la vitesse de croissance sur les mortalités observées.

L'intérêt de cet outil sera discuté par rapport aux besoins de la profession et de la recherche appliquée ou plus finalisée (pathologie, génétique, physiologie).

1. OPTIMISATION D'UN CHOC THERMIQUE STANDARD POUR DU NAISSAIN DE *CRASSOSTREA GIGAS* DE 500 À 2000 MG

1.1. INTRODUCTION

Les travaux de Glemarec *et al* (1997) ont permis de mettre au point une méthode standardisée de choc thermique en eau douce à 45°C sur des juvéniles de *Crassostrea gigas*. Le but de cette étude était d'obtenir une réponse à des conditions de stress standard en terme de mortalité sur du naissain de 4 à 20 mm soit 10 à 900 mg.

Les résultats ont montré une grande sensibilité des huîtres en terme de mortalité à l'augmentation brutale de la température. Néanmoins, à la température de 45°C, un manque de sensibilité de l'allongement de la durée du stress pour un poids supérieur ou égal à 500 mg, a été mis en évidence. En effet dans cette gamme de poids, la mortalité provoquée par le temps d'application du stress le plus long (300 secondes) reste inférieure à 50%. De plus, si on considère que la durée de stress ne doit pas être trop longue, la température de 45°C n'est plus adaptée pour des animaux de plus de 500 mg.

En reprenant le protocole standard déjà établi par Glemarec *et al.*, (1997), cette étude se propose donc de réaliser un nouveau modèle pour du naissain de poids moyen compris entre 500 mg et 2000 mg soumis à un choc thermique en eau douce fixé à 50°C. Une gamme de temps d'application du stress sera établie et optimisée à partir d'une population de juvéniles de même origine.

L'objectif principal est de définir pour cette gamme de poids (500 à 2000 mg) un temps d'application du choc thermique susceptible de provoquer 50% de mortalité sur différentes populations. La qualité du modèle et/ou les problèmes de précision rencontrés seront discutés par la suite.

1.2. MATÉRIELS ET MÉTHODES

1.2.1. Matériels biologiques

Les travaux antérieurs de Glemarec *et al* (1997) ont montré que les réponses en terme de mortalité survenue à la suite d'un choc thermique ne sont pas homogènes en fonction des différentes populations de naissain étudiées. En effet chaque lot, de par ses caractéristiques génétiques et son parcours d'élevage, est différent. Ainsi, de manière à éliminer toute variabilité de réponse inter-origine, les expérimentations ont été réalisées sur une population unique de naissain de *Crassostrea gigas* qui provenait d'une éclosérie-nurserie de Bouin. A la date d'acquisition (4 mai 1998), ce lot était constitué d'une population d'environ 60000 individus d'une taille de 15-16 mm (T10) et d'un poids moyen de 520 mg \pm 25 mg (n = 3). La gamme de poids que l'on se propose de tester allant de 500 à 2000 mg, il est nécessaire de maîtriser la croissance de la population d'origine afin de disposer dans un temps limité des individus couvrant toute la gamme de poids. Pour ce faire, la station Ifremer de Bouin dispose d'une chambre froide thermostatée et d'une nurserie. Selon le poids des individus à obtenir, il est donc possible d'augmenter ou de freiner la croissance en jouant sur la température d'élevage (fig.1).

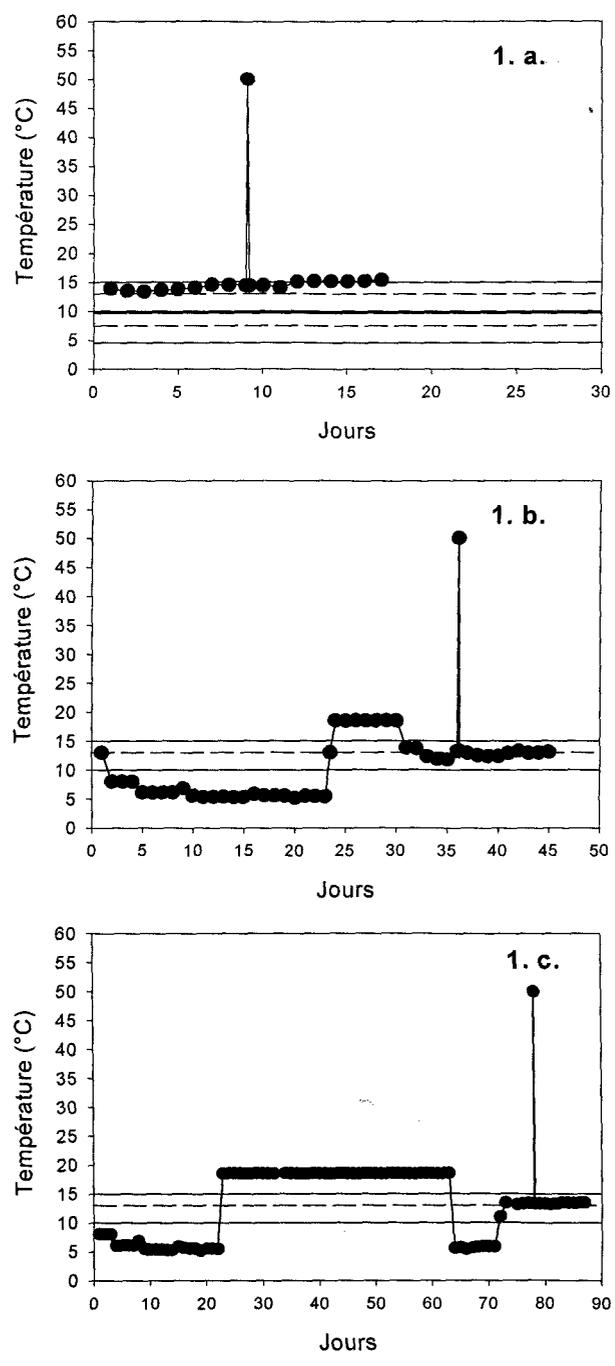


Figure 1 : Evolution de la température avant, pendant et après l'application du choc thermique à 50°C en eau douce. Echantillon 1 : T10 / 520 mg (1.a). Echantillon 2 : T12 / 846 mg (1.b). Echantillon 3 : T14 / 2191 mg (1.c).

Pour accélérer la croissance, les huîtres sont prégrossies en nurserie dans des couloirs d'un volume unitaire de 2,5 m³ alimentés en continu en eau de mer enrichie en phytoplancton (culture mono spécifique de *Skeletonema costatum*) et à température ambiante extérieure (Baud, 1991). Celle-ci varie de 15 à 26°C en fonction de la période de prégrossissement.

En revanche, pour freiner la croissance, les huîtres sont stockées en chambre froide à 5°C à raison de 8000 individus par tube tamis, dans des bacs de 80 litres munis d'un système d'air-lift qui assure un niveau d'oxygène suffisant (figure 2). Pour assurer une bonne survie tout en maintenant un taux de croissance minimal, les animaux sont nourris une fois par jour à raison de 1.10⁹ cellules/bac avec une culture de *Skeletonema costatum*.

Pour éviter des changements trop brutaux lors du passage d'un état de croissance à un autre, l'inertie thermique des différents types de bassins d'élevage est utilisée.

L'utilisation combinée de ces deux systèmes permet ainsi d'obtenir toute une gamme de poids intermédiaires entre 500 et 2000 mg.

1.2.2. Nombre et effectif des réplicatas

Pour obtenir un résultat reproductible, l'effort minimal d'échantillonnage de la population a été fixé à 3 réplicatas de 200 individus (Glemarec *et al*, 1997). Un témoin représenté par 200 individus non stressés par choc thermique permet d'estimer la mortalité naturelle. Pour chaque expérience, 800 individus sont donc nécessaires.

1.2.3. Protocole expérimental

Glemarec *et al* (1997) a montré que pour obtenir une bonne reproductibilité des résultats, il était nécessaire de conditionner les animaux à une température constante avant le choc thermique. Cette étape est primordiale pour que d'une part le différentiel de température soit toujours identique avant et après l'application du stress et d'autre part, pour que le métabolisme des individus soit ramené à une valeur comparable d'un lot à un autre et d'une saison à une autre. La présence combinée d'eau salée souterraine à température constante sur le site de Bouin et d'un groupe de froid industriel, permet d'obtenir facilement par échange thermique, de l'eau de mer à une température constante de 13°C toute l'année. C'est donc cette température qui a été choisie pour conditionner les animaux (fig.3).

Les expérimentations ont été conduites de mai à septembre 1998 en appliquant le protocole suivant :

La population étudiée est répartie en trois classes de taille homogène (croissance rapide, croissance moyenne et croissance lente) à l'aide de tamis de différentes mailles (12 à 17 mm de côté).

Les animaux destinés au test sont prélevés dans la classe de taille à croissance moyenne qui est majoritairement représentée (Baud, 1988).

Les 800 individus nécessaires à l'expérience sont ensuite distribués par lot de 200 dans des tubes tamis de 200 mm de diamètre. Chaque fraction subit alors une période d'acclimatation à 13°C pendant 5 jours.

Le choc thermique est réalisé au 6^{ème} jour dans un bac de 40 litres où de l'eau douce est chauffée à 50°C avec une résistance (figure 4). L'objectif final étant de disposer d'un test reproductible et facilement applicable par le secteur professionnel, l'eau douce a été référée à de l'eau de mer afin de s'affranchir des variations de salinité. Une pompe intégrée à la résistance remet l'eau en circulation, et permet ainsi d'homogénéiser la température

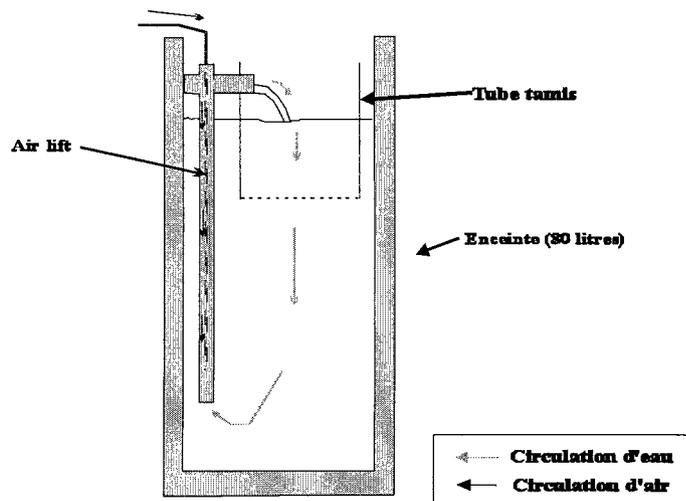


Figure 2 : Système d'air lift en circuit fermé pour les phases de stockage en chambre froide à 5°C.

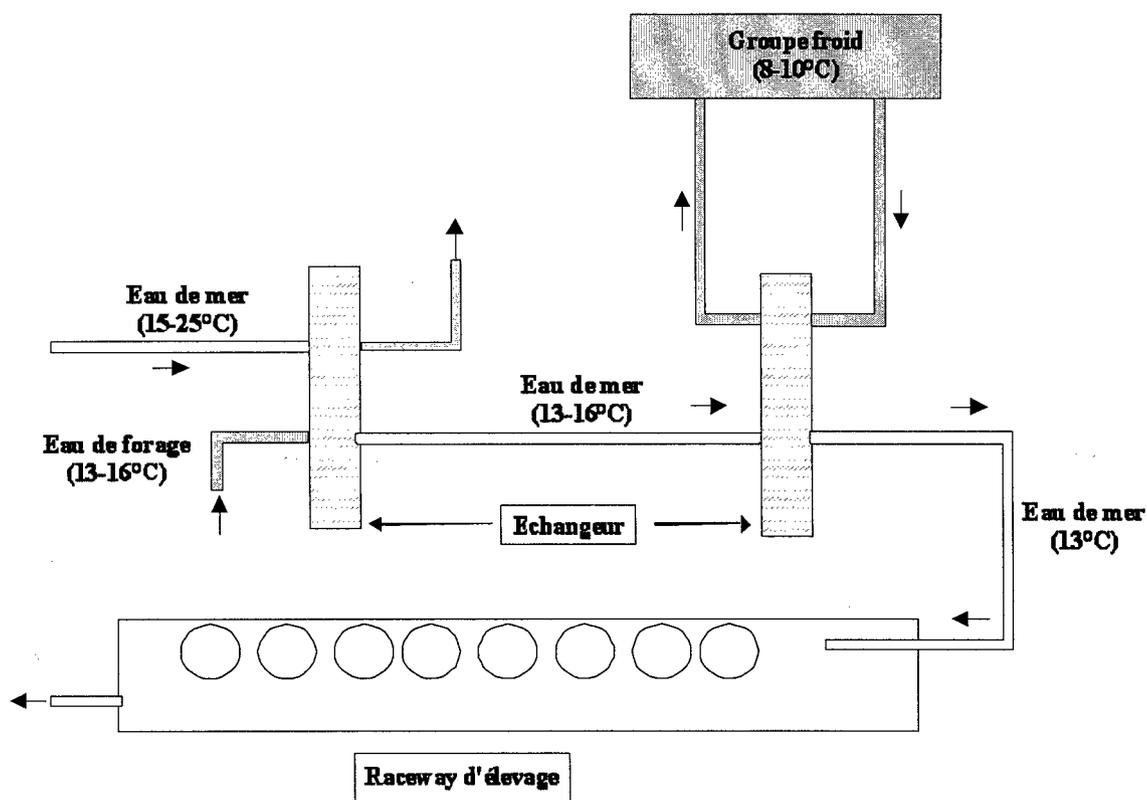


Figure 3 : Système en circuit ouvert permettant de stabiliser puis de refroidir la température de l'eau jusqu'à 13°C, par échange avec de l'eau de forage puis de l'eau transitant par un groupe froid.

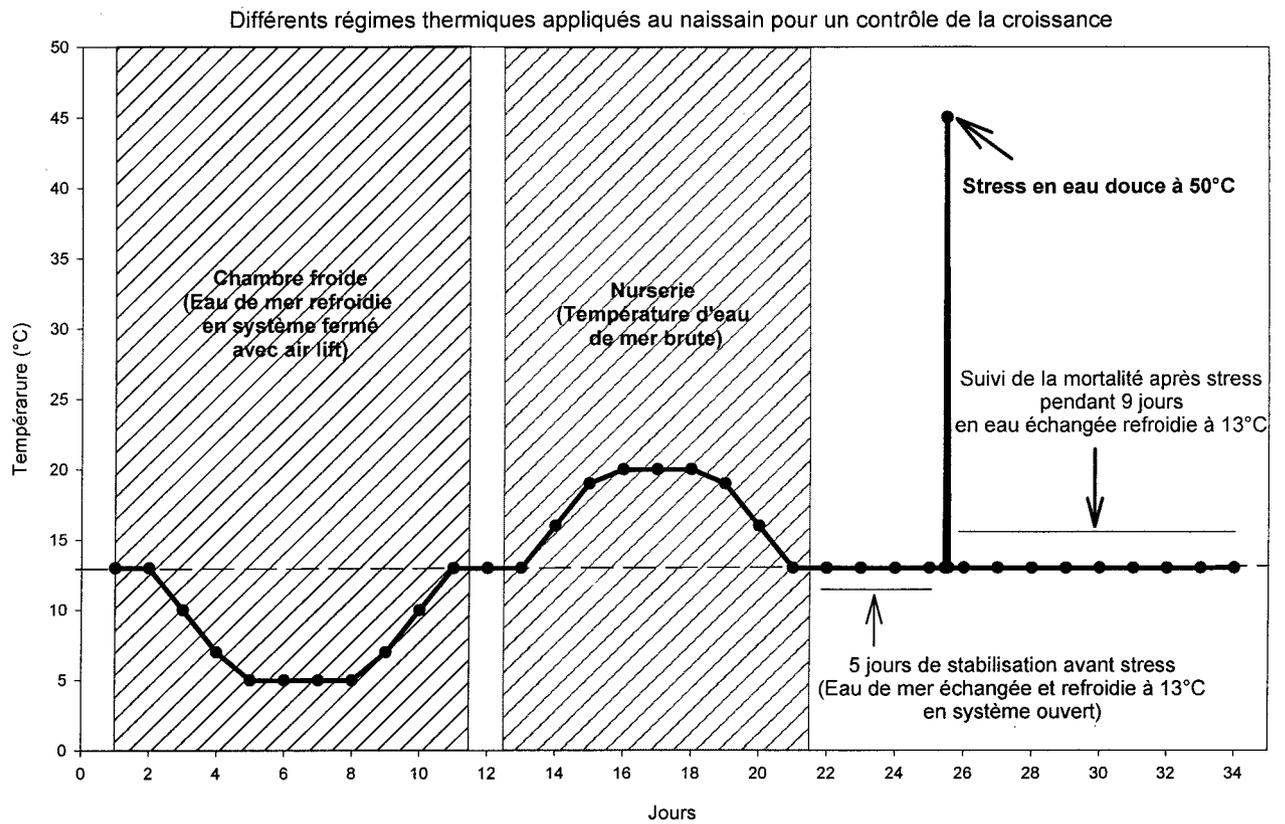


Figure 4 : Déroulement général des expérimentations de choc thermique réalisées sur du naissain de *Crassostrea gigas*.

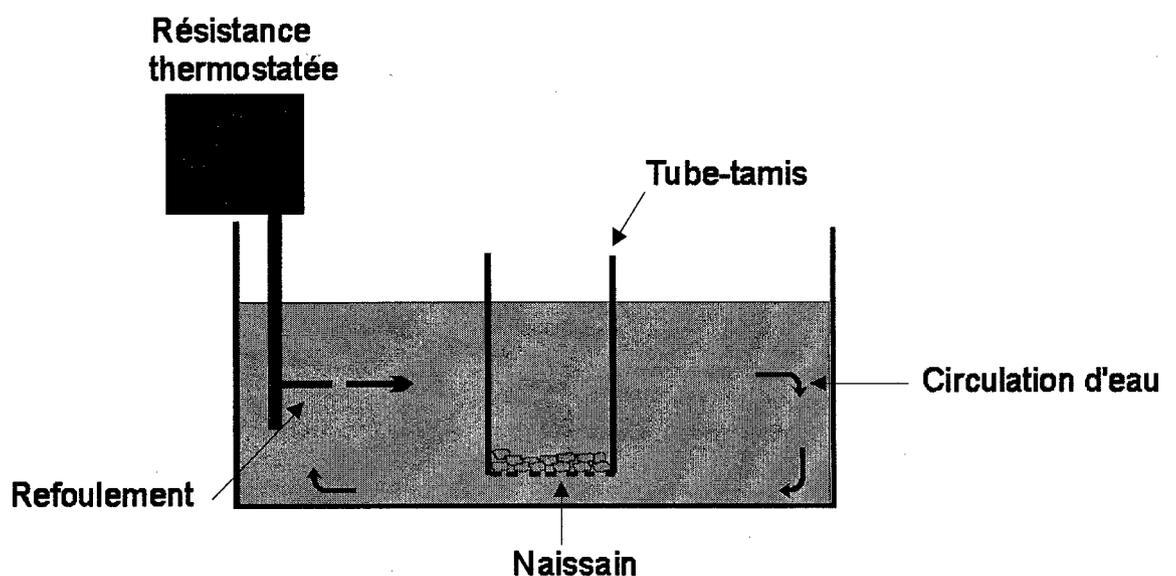


Figure 5: Schéma du dispositif utilisé pour le choc thermique en eau douce appliqué au naissain d'huître creuse.

du bain-marie. L'eau peut donc être maintenue à température constante pendant toute la durée du stress (figure 5).

La durée d'immersion a été choisie dans une échelle allant de 30sec à 180sec avec des pas de temps de 30s pour les expérimentations 1, 2, 3, 5 et 6, puis de 15s pour les expérimentations 7, 8 et 9.

La durée d'immersion est mesurée à $\pm 0,5$ seconde avec un chronomètre. Les animaux sont ensuite replacés à 13°C.

Le dénombrement des individus morts, identifiables par l'ouverture de leurs valves, est ensuite réalisé après une période de 9 jours, successifs au stress (figure 4).

Le comptage de la mortalité peut être effectué quotidiennement ou globalement au bout de 9 jours, les différences de mortalité observées entre les deux types de comptage n'étant pas significativement différentes (Glemarec *et al*, 1997).

1.3. RÉSULTATS

1.4. Cinétique des mortalités après le choc thermique

Le dénombrement quotidien des mortalités après l'application du choc thermique a été suivi sur 3 lots de poids moyen différent : 520 mg, 1592 mg et 2191 mg (tableau 1, fig. 6). Pour 520 mg, la mortalité cumulée est comprise entre 9,3 et 99,7% pour une durée du choc thermique respectivement de 30 et 180 secondes.

Pour 1592 mg, entre 30 et 120 secondes, la mortalité cumulée se situe entre 4,0% et 96,2%. Enfin pour 2191 mg, la mortalité cumulée oscille entre 19,5 et 99,7% pour un stress de 60 et 80 secondes.

Tableau 1 : Cinétique de la mortalité cumulée des naissains d'huîtres creuse *Crassostrea gigas* pour trois classes de poids.

Poids moyen (mg)	Durée du choc	Pourcentage cumulé de mortes (%)								
		J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9
520	30	00,0	02,8	05,7			08,3	08,7		09,3
	60	00,0	30,8	68,3			83,3	85,7		86,2
	90	00,0	77,5	91,3			98,3	99,2		99,3
	120	00,0	83,2	92,0			99,2	99,3		99,5
	150	00,0	85,2	91,2			98,7	99,0		99,2
	180	00,0	91,0	93,8			99,0	99,5		99,7
1592	30	00,6	01,0	01,2			02,7	02,8		04,0
	45	01,8	04,2	09,0			18,5	22,0		27,7
	60	02,2	13,0	23,0			37,3	39,3		42,7
	75	08,7	32,8	48,0			61,7	62,8		64,3
	90	16,3	48,5	62,7			78,8	79,8		80,0
	120	23,5	44,5	64,8			96,0	96,2		96,2
2191	60	00,0	04,3	07,3			15,5	16,7	18,5	19,5
	90	00,0	24,5	34,5			57,2	61,7	64,2	67,0
	120	00,0	44,8	60,8			78,5	84,0	86,5	88,0
	150	00,0	53,3	62,3			84,7	90,3	93,8	95,5
	180	00,0	55,8	62,3			84,5	94,7	98,5	99,7

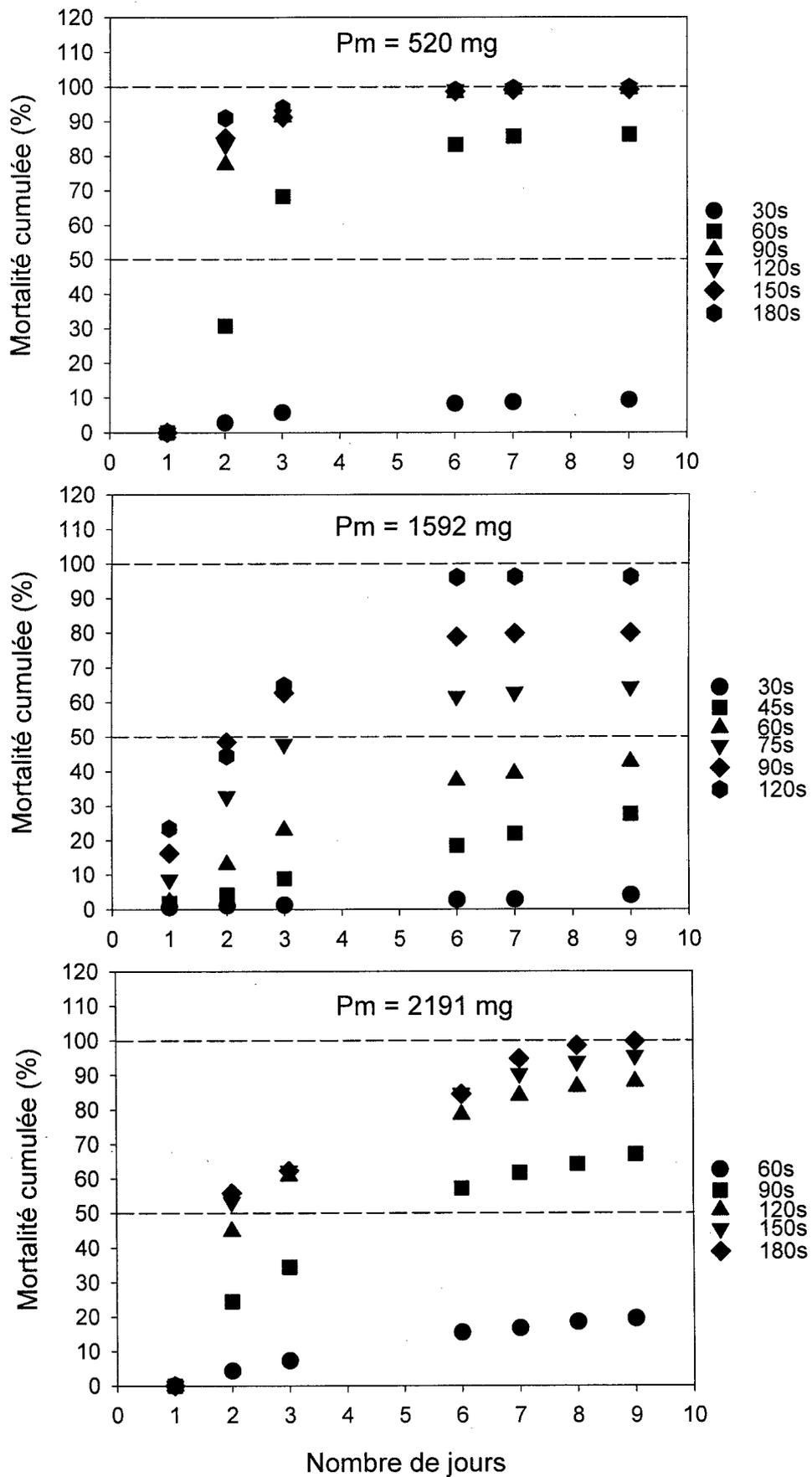


Figure 6 : Evolution de la mortalité en fonction du temps pour trois classes de poids et pour différentes durées de choc thermique.

1.4.1. Durée d'application du choc thermique

La durée d'application du choc thermique a été suivie sur 8 lots de poids moyen compris entre 520 mg et 2191 mg (tableau 2, fig. 7).

La figure 7 illustre la courbe de tendance entre la mortalité exprimée en pourcentage par rapport à la durée du choc thermique en fonction du poids moyen des juvéniles de *Crassostrea gigas*. Il est à noter que la tendance est identique dans la gamme de poids étudiée : une augmentation linéaire de la mortalité de 30 à 90 secondes, puis un fléchissement de la pente entre 90 et 180 secondes pour atteindre en définitive quel que soit le poids une mortalité proche de 100%.

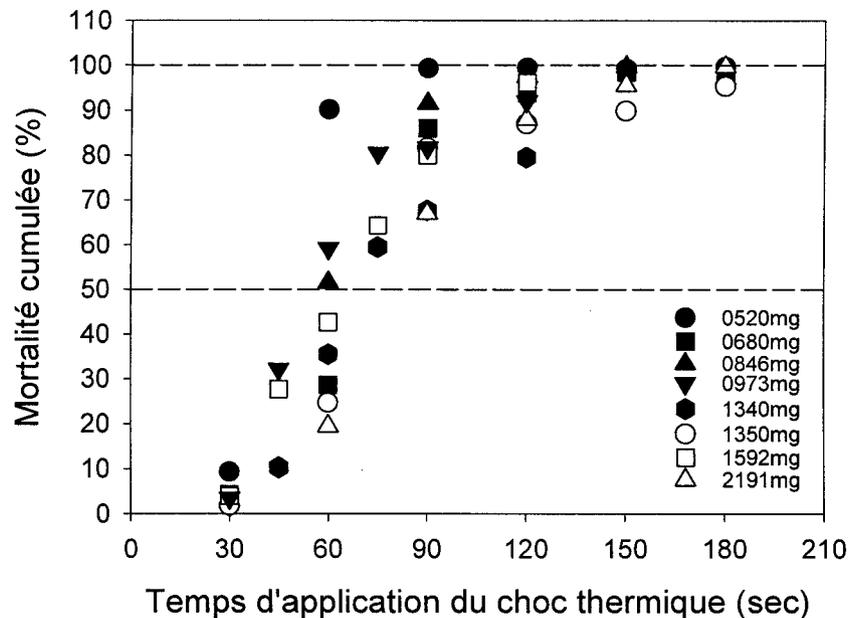


Figure 7 : Pourcentage de mortalité (%) en fonction de la durée du choc thermique pour différentes classes de poids.

1.4.2. Influence du poids moyen individuel.

Les résultats présentés dans le tableau 2 montrent que d'une manière générale, pour des durées de chocs variables, le pourcentage de mortalité décroît sensiblement avec l'augmentation de poids des lots traités. La figure 8 met en évidence que les coefficients de pente prennent les valeurs respectives décroissantes de $-32,68$; $-20,00$ et $-8,10$ pour des chocs thermiques de 60, 90 et 120 secondes.

Tableau 2 : Pourcentage moyen de mortalité en fonction de la durée du temps du choc thermique pour chaque classe de taille

	Tamis	Taille moyenne(mm), IC 0,95 (n=30)	Poids moyen (mg), IC 0,95 (n=3)	Durée (s)	% mortes à J9 IC 0,95 (n=3)
Expérience 1	T10	15,96 ± 0,78	520,00 ± 25,00	30	9,3 ± 31,6
				60	86,2 ± 9,9
				90	99,3 ± 0,7
				120	99,5 ± 1,2
				150	99,2 ± 1,4
				180	99,7 ± 0,7
Expérience 2	T10	18,15 ± 0,62	680,00 ± 72,00	30	4,3 ± 5,1
				60	28,7 ± 25,1
				90	86,0 ± 23,9
				120	93,8 ± 10,5
				150	98,5 ± 2,1
				180	98,2 ± 3,6
Expérience 3	T12	19,94 ± 0,86	846,00 ± 23,00	30	3,0 ± 1,2
				60	51,5 ± 26,7
				90	91,5 ± 5,4
				120	97,5 ± 4,3
				150	99,7 ± 0,7
				180	97,2 ± 8,0
Expérience 7	T12	18,52 ± 0,80	973,50 ± 11,00	30	3,5 ± 2,4
				45	35,17 ± 30,8
				60	59,17 ± 27,1
				75	80,5 ± 20,7
				90	81,67 ± 9,4
				120	92,0 ± 3,2
Expérience 9	T14	21,86 ± 0,91	1340,00 ± 16,75	30	1,83 ± 3,1
				45	10,3 ± 9,6
				60	35,5 ± 13,8
				75	59,5 ± 6,9
				90	67,7 ± 21,3
				120	79,5 ± 12,0
Expérience 5	T14	22,04 ± 0,87	1350,00 ± 23,00	30	1,83 ± 1,9
				60	24,67 ± 0,7
				90	81,67 ± 12,5
				120	87 ± 7,5
				150	89,8 ± 3,8
				180	95,3 ± 5,6
Expérience 8	T14	23,43 ± 0,98	1592,00 ± 15,24	30	4,0 ± 4,4
				45	27,67 ± 19,2
				60	42,67 ± 5,0
				75	64,33 ± 5,8
				90	80,0 ± 17,2
				120	96,17 ± 05,7
Expérience 6	T14	25,80 ± 1,13	2191,00 ± 29,50	60	19,5 ± 14,0
				90	67,0 ± 51,8
				120	88,0 ± 15,8
				150	95,5 ± 5,4
				180	99,7 ± 0,71

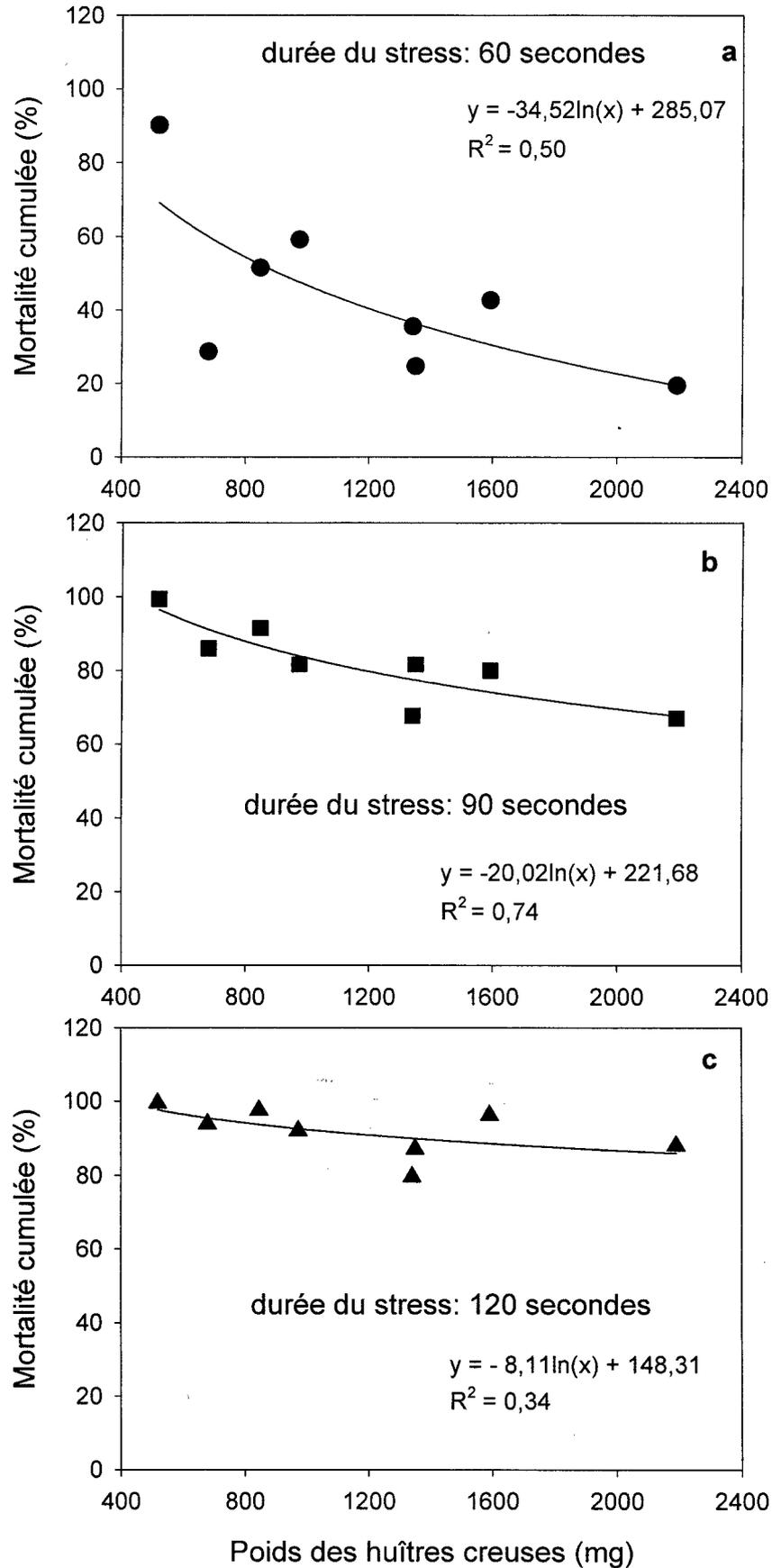


Figure 8 : Pourcentage de mortalité cumulée en fonction du poids (mg), 9 jours après l'application d'un choc thermique de 60, 90 et 120 secondes.

1.4.3. Etablissement du modèle.

Les résultats obtenus précédemment permettent d'établir un modèle décrivant la courbe de mortalité observée au 9^{ème} jour après application du choc thermique de 50°C en eau douce, en fonction du poids moyen et de la durée du stress.

Ce modèle est un graphique en trois dimensions (fig. 9) qui s'ajuste aux données expérimentales selon l'équation :

$$M = a \ln(P) + b \ln(T), \text{ avec } a = -29,9229 \text{ et } b = 63,0698$$

avec un coefficient de corrélation (r^2) = 0,86 et une valeur du test de Fisher de 690.

A partir de ce modèle 3D, il est possible de déterminer la courbe définissant la durée du choc thermique en fonction du poids moyen pour laquelle on obtient 50% de mortalité.

Cette courbe (fig.10), de type exponentielle, est décrite par une équation à une seule variable, de la forme :

$$T = e^{\left(\frac{50 - a \ln P}{b}\right)}$$

Les paramètres a et b du modèle sont donnés avec un intervalle de confiance de 95%. Ils sont donc compris entre $a_{\min} < a < a_{\max}$ et $b_{\min} < b < b_{\max}$. De la même manière, pour obtenir 50% de mortalité sur du naissain de poids P, la durée de stress à appliquer est comprise dans un intervalle $[T_{\min}, T_{\max}]$ avec :

$$\begin{aligned} T_{\min} &= \exp[(50 - a_{\max} \ln P) / b_{\max}] \\ \text{et } T_{\max} &= \exp[(50 - a_{\min} \ln P) / b_{\min}] \end{aligned}$$

Si l'on se réfère à l'équation du modèle, il est possible également de calculer l'intervalle de mortalité autour de 50% à 95% de confiance. On obtient dans ce cas les équations suivantes :

$$\begin{aligned} M_{\min} &= a \ln(P) + b \ln(T_{\min}) \\ \text{et } M_{\max} &= a \ln(P) + b \ln(T_{\max}) \end{aligned}$$

M_{\min} et M_{\max} sont les limites hautes et basses autour de 50% de mortalité. Elles ont été calculées en fonction du degré d'incertitude estimé sur les paramètres a et b du modèle.

Pour un poids donné, l'intervalle de précision d(%) sera :

$$d = \frac{M_{\max} - M_{\min}}{2}$$

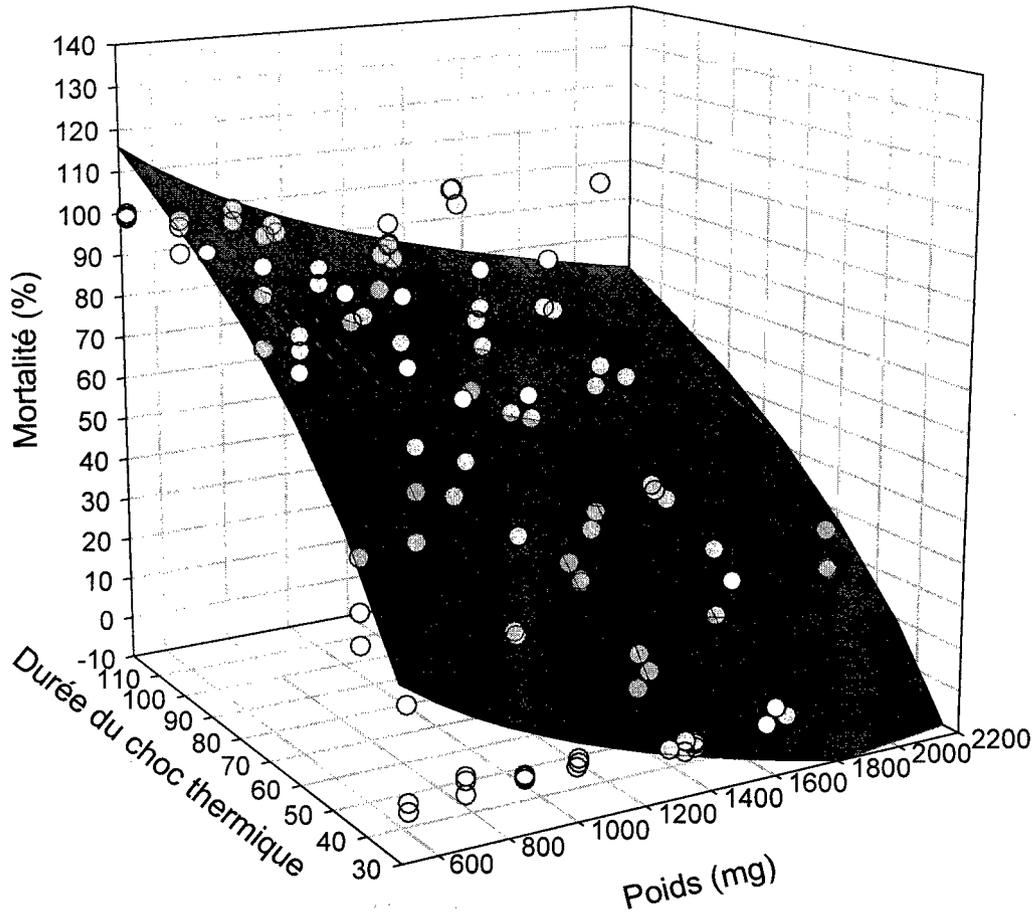


Figure 9 : Représentation de la mortalité (%) en fonction du poids (mg) et de la durée d'application du stress (sec) et modèle 3D du type :

$$Mortalité(\%) = a \ln(Poids(mg)) + b \ln(temps d'application(sec))$$

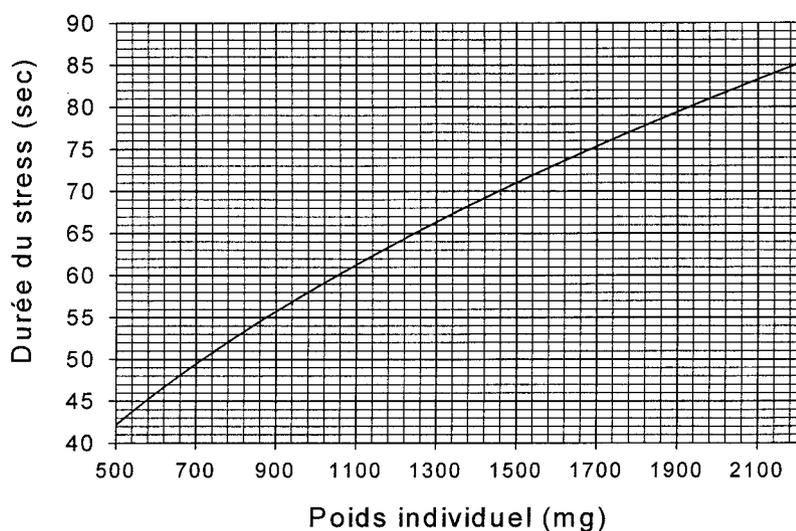


Figure 10 : Durée du choc thermique à appliquer en fonction du poids individuel à 50°C en eau douce pour obtenir 50% de mortalité.

La figure 11 représente l'évolution de d en fonction du poids du naissain à tester. Cette précision est relativement faible puisqu'elle est de 35% pour du naissain de 500 mg et de 42,5% pour du naissain de 2200 mg. Si on applique un choc thermique sur du naissain de 500 mg, les mortalités obtenues seront comprises entre 15 et 85% et seront considérées comme conforme au modèle.

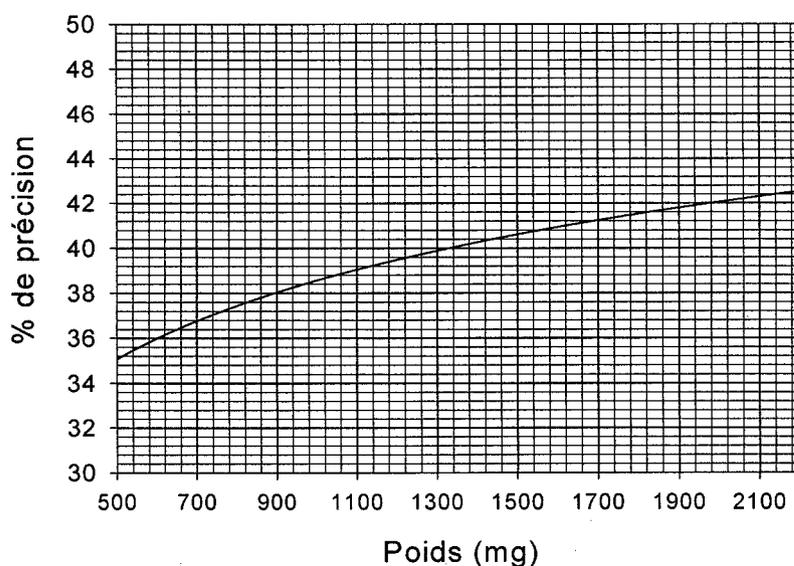


Figure 11 : Précision pour laquelle 50% de mortalité sont obtenus en fonction du poids individuel.

1.5. DISCUSSION

1.5.1. Protocole expérimental

Le protocole expérimental mis en œuvre est identique à celui déjà défini par Glemarec *et al* (1997) pour des lots de naissain dont le poids moyen s'échelonnait entre 10 et 500 mg. Au-delà de cette taille, le choc thermique à 45°C ne s'avérait plus suffisamment efficace, même pour une durée allongée du choc thermique.

Pour cette étude, la température de stress de 50°C a été choisie de manière arbitraire. Pour des animaux de 500 mg avec un choc à 45°C, Glemarec *et al* (1997) montre qu'il faut une durée du choc de près de 400s pour obtenir 50% de mortalité. Au cours de cette étude, il a été montré que pour des animaux de même poids (500mg), la durée du stress à 50°C n'était que de 47s pour obtenir 50% de mortalité et de 85s pour des animaux de 2,2g.

La température de 50°C s'est donc révélée bien adaptée pour la gamme de poids étudiée.

L'eau douce a été préférée à l'eau de mer dans un souci de simplification et comme garantie de standardisation de la méthode : l'eau douce est par définition à une salinité de 0 alors que la salinité de l'eau de mer varie selon les sites et les périodes de l'année.

L'utilisation d'un lot de naissain issu d'un même élevage larvaire en éclosérie a permis de s'affranchir d'une éventuelle « variabilité d'origine » et de considérer la population comme homogène.

1.5.2. Cinétique

Le dénombrement quotidien de la mortalité a permis de montrer que pour les trois classes de taille étudiées, le pourcentage de mortalité cumulée augmente fortement pendant les trois premiers jours après le stress, puis atteint une phase plateau à partir du 6^{ème} jour pour se stabiliser au 8^{ème} jour. Le dénombrement final de la mortalité effectué au 9^{ème} jour est donc représentatif, quelle que soit la classe de taille et la durée du choc.

1.5.3. Durée du choc thermique

Lors des premières expérimentations réalisées en 1998, les temps d'applications du choc thermique étaient respectivement de 30, 60, 90, 120, 150 et 180 secondes. Cette échelle de temps avait été choisie de manière à observer une évolution de la mortalité par paliers successifs et réguliers entre 0 et 100% en fonction de la durée de stress.

Après plusieurs expérimentations, les résultats ont rapidement montré que la durée du stress avait une influence sur les mortalités observées. En effet, un temps d'application de 30 secondes occasionne des mortalités assez faibles qui ne dépassent pas 5% dans la majorité des cas étudiés. En revanche le seuil de 100% de mortalité est atteint le plus souvent pour des durées de 120 secondes. Les temps de 150 et 180 secondes semblent donc inutiles. Ceci a pu être vérifié à l'aide d'une analyse de variance entre les temps d'application du stress et les mortalités observées. En effet, aucune différence significative en terme de mortalité n'est apparue entre des durées de stress de 120, 150 et 180 secondes.

Par ailleurs, l'analyse des mortalités a montré qu'un pas de 30 secondes ne permet pas d'obtenir des mortalités suffisamment étalées pour des stress compris entre 30 et 90 secondes. Pour décrire plus précisément l'évolution de la mortalité en fonction de la durée du choc thermique, l'échelle de temps a été corrigée après les cinq premières séries d'expérimentations de manière à avoir un intervalle de 15 secondes entre chaque stress. Les temps d'applications retenus pour les chocs thermiques sont donc de 30, 45, 60, 75, 90 et 120 secondes.

1.5.4. Influence du poids moyen individuel

La comparaison des données obtenues pour un stress de durée T permet de caractériser l'influence du poids moyen individuel sur les mortalités.

D'une manière générale, le pourcentage de mortalité observée au 9^{ème} jour qui suit le choc thermique, montre que celui-ci est inversement proportionnel au poids moyen individuel. En effet, un stress d'une certaine durée occasionne de plus faible mortalité sur des individus de poids moyen élevé que sur des spécimens plus légers.

Pour un stress de 90 secondes, on observe 99,3% de mortalité sur des animaux de 520 mg au lieu de 67,0% pour ceux ayant un poids moyen de 2200 mg. La courbe illustrative correspond à une régression non-linéaire de type logarithmique et de coefficient de détermination égale à 0,75, et permet une bonne visualisation de cet effet poids.

Par contre pour les stress de 60s et 120s, les courbes présentent la même tendance, mais les coefficients de détermination ne sont, respectivement, que de 0,50 et 0,33

1.5.5. Modèle

Les facteurs a et b traduisent bien l'évolution de la courbe en fonction du poids des juvéniles (P) et du temps d'application (T). En effet, le coefficient a qui est négatif, simule une décroissance de la mortalité quand le poids augmente. Le facteur b, positif, exprime en revanche une augmentation de la mortalité quand la durée de stress augmente.

D'après l'équation, un stress de 30 secondes provoque 0% de mortalité pour des poids supérieurs à 1394 mg. Si on compare ce résultat aux valeurs observées, on constate qu'il se rapproche des valeurs expérimentales puisque les plus faibles mortalités (<3%) sont observées pour des poids supérieurs à 1340 mg. De la même manière, un stress de 90 secondes sur du naissain de 520 mg provoque 99,33% de mortalité. Si on calcule le temps nécessaire pour obtenir 100% de mortalité sur du naissain de même poids moyen, il faudrait appliquer un choc thermique de 94,8 secondes.

Cependant le calcul de la précision autour de 50% de mortalité montre une faible précision du modèle. En effet l'application d'une durée de stress T_{50} sur du naissain d'un poids individuel de 1000 mg provoquerait un taux de mortalité compris entre 11,5 et 88,5%. Une approche du calcul de l'effort à fournir a donc été réalisée pour obtenir $\pm 20\%$ de précision. Ce choix de 20% a été fait de manière à être en conformité avec le modèle réalisé en 1997 pour du naissain de 0 à 500 mg (Glemarec *et al*, 1997). Cette approche montre qu'il faut multiplier par huit l'effort fourni. Le naissain est donc très sensible à la température de stress et à sa durée d'application.

Pour ce modèle, un gain de précision ne pourra être obtenu que par une augmentation du nombre de données et/ou une modification du protocole standard, en choisissant une température de stress intermédiaire entre 45°C et 50°C et/ou en augmentant le nombre de temps d'application intermédiaires.

1.6. Conclusion

La méthode standardisée de choc thermique sur des juvéniles de *Crassostrea gigas* est un outil simple à mettre en œuvre permettant de caractériser l'état de rusticité d'une population de naissain

Ce travail permet de proposer un protocole standard de stress par choc thermique pour du naissain de 500 mg à 2000 mg, qui peut se définir ainsi :

- échantillon de 3x200 animaux de taille homogène
- conditionnement préalable des animaux à 13°C pendant 5 jours
- choc thermique de 50°C en eau douce
- durée du choc à déterminer par l'abaque en fonction du poids moyen
- stabulation des animaux à 13°C pendant 9 jours après le choc thermique
- comptage des mortalités le 9^{ème} jour.

L'obtention d'un tel outil débouche sur de multiples applications aussi bien pour les éleveurs que pour les scientifiques (Baud comm. Pers.,1997).

Pour les professionnels, il permettrait de mieux connaître l'état de santé du naissain et donc de mieux juger de l'opportunité d'achat ou de vente de naissain à un tiers. De la même manière, l'éleveur pourrait, au cours de la phase de prégrossissement, comparer ces différents lots sur le plan de la résistance au stress et donc mieux gérer les points faibles et les points forts de sa méthode. L'écloqueur aurait également la possibilité de pouvoir se constituer un stock de géniteurs sélectionnés pour leurs caractéristiques de résistance ou/et de tolérance aux chocs thermiques.

Pour la recherche (génétique), un tel outil permettrait de quantifier la variabilité individuelle des juvéniles de *Crassostrea gigas* par rapport à ce stress standardisé et donc d'envisager la sélection d'individus afin d'obtenir des souches génétiquement plus tolérantes aux chocs thermiques.

2. APPLICATION DU CHOC THERMIQUE STANDARD Á DIFFÉRENTES POPULATIONS DE NAISSAIN DE *CRASSOSTREA GIGAS*

2.1. INTRODUCTION

Les travaux de Glemarec *et al* (1997) et ceux décrits dans la première partie de ce travail permettent de disposer dorénavant d'un outil de mesure de la mortalité d'une population de naissain d'huître en réponse à un choc thermique standard et donc de comparer différentes populations. Cette comparaison est possible pour deux raisons. Tout d'abord, le temps d'application du choc thermique (T_{50}) est déterminé à l'aide d'un abaque qui prend en compte le poids individuel de l'animal. De cette manière, l'effet poids est gommé, ce qui permet de comparer entre elles des populations de poids moyen individuel différent. D'autre part, on peut également estimer à partir d'un autre abaque la précision avec laquelle on obtient 50% de mortalité en fonction du poids individuel. Cette précision donne les limites hautes et basses du modèle. Ainsi il est possible, via la mortalité observée, de comparer entre elles et par rapport au lot d'origine, plusieurs populations de naissain.

La deuxième partie de ce travail sera consacrée à l'application de cet outil pour comparer des lots de naissain d'origines diverses ou ayant subi des conditions différentes d'élevage. Il pourra alors être utilisé comme un outil de diagnostic pour évaluer le taux de résistance au choc thermique d'un cheptel.

Cette deuxième phase des expérimentations se propose donc de tester différentes populations de naissain de nurserie issu d'écloseries en appliquant un choc thermique en eau douce à 45°C, de manière à confirmer ou infirmer les premières tendances observées. Dans un deuxième temps, d'autres expériences seront réalisées pour démontrer si la qualité de l'environnement, l'origine génétique des animaux et la cinétique de croissance ont une influence sur les mortalités provoquées par un choc thermique. Les résultats concernant le suivi sur estran de certaines populations seront également présentés. Enfin, ces différents résultats seront discutés.

2.2. MATÉRIELS ET MÉTHODES

2.2.1. La technique du choc thermique

Le stress employé est un choc thermique en eau douce selon le protocole précédemment décrit. La température du bain-marie est ici de 45°C car le poids moyen individuel des animaux prélevés dans les nurseries ne dépassent pas 500 mg.

L'échantillon à tester est prélevé et placé à 13°C. Les animaux sont ensuite soumis à un choc thermique cinq jours plus tard et la mortalité est déterminée entre les 6^{ème} et 14^{ème} jours.

Le temps d'immersion est déterminé à l'aide du modèle de manière à provoquer 50% de mortalité au bout de 9 jours après le stress.

Le modèle utilisé pour tester les différentes populations de naissain est un modèle de type logarithmique (figure 12), fonction du poids moyen individuel et du temps d'application du stress. Le taux de mortalité, exprimé en pourcentage, obtenue suite au choc thermique

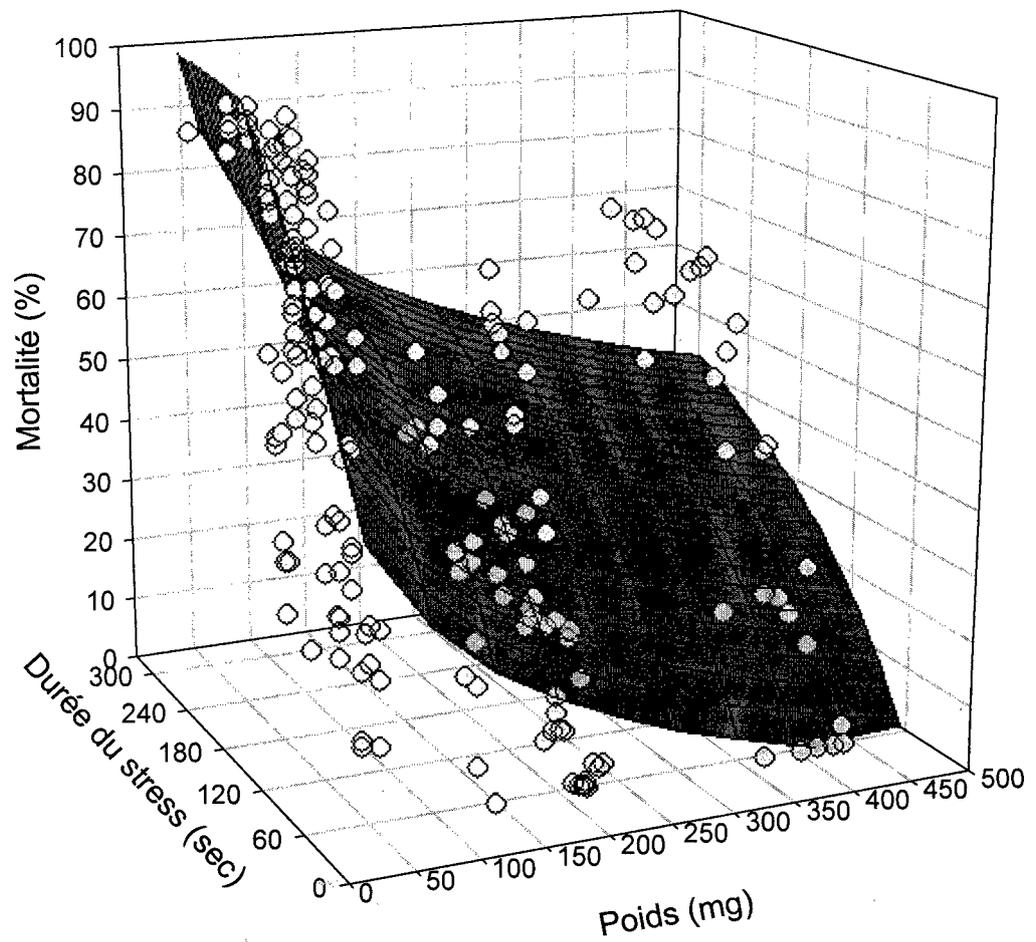


Figure 12 : Représentation de la mortalité (%) issue d'un choc thermique en eau douce à 45°C en fonction du poids (mg) et de la durée d'application du stress (sec) et modèle 3D du type :

$$Mortalité(\%) = a \ln(Poids(mg)) + b \ln(temps d'application(sec))$$

décroit avec l'augmentation du poids des huîtres et augmente avec des durées plus longues de stress. Il est décrit par une équation du type :

$$M = a \ln(P) + b \ln(T), \text{ avec } a = -19,475879 \text{ et } b = 28,696227$$

En fixant la mortalité à 50%, on ramène l'équation du modèle à une relation à une seule variable. Cette relation décrit une courbe qui permet de déterminer le temps d'application du stress à appliquer sur un échantillon de naissain de poids moyen individuel connu pour obtenir 50% de mortalité (figure 13).

La figure 14 représente l'évolution de la précision autour de 50% de mortalité en fonction du poids du naissain testé. Elle permet d'estimer l'intervalle de confiance pour lequel la réaction du naissain est conforme à la réaction de la population de référence.

A l'aide de ces deux courbes, il est donc possible pour un poids individuel donné de définir le temps de stress nécessaire pour obtenir 50% de mortalité et la précision avec laquelle on l'obtient.

La mortalité, caractérisée par l'ouverture des valves, est dénombrée sur les trois réplicatas de chaque classe de la population étudiée, au 9^{ème} jour qui suit le stress.

Pour les individus de petite taille, il est difficile de distinguer à l'œil nu si les valves sont ouvertes ou non. Pour cette raison, les comptages ont été faits à l'aide d'une loupe binoculaire Wild Zeiss.

Les résultats de mortalité sont exprimés en pourcentage, et ils correspondent à la moyenne des pourcentages dénombrés sur les trois réplicatas de 200 individus.

2.1.1. Populations d'origines différentes

2.2.2.1 Matériels biologiques

Les 9 populations testées ont été prélevées dans 3 nurseries situées dans le polder conchylicole de la baie de Bourgneuf. Chaque population est issue d'une seule et même ponte d'un pool de géniteurs. Lors du prélèvement, un questionnaire est soumis au professionnel de manière à caractériser le mieux possible l'historique des animaux (site de reproduction, déroulement de la croissance en nursery, taille et qualité du lot, épisodes de mortalité).

Chaque population peut être subdivisée en 3 sous-populations en fonction de la fixation en fin d'élevage larvaire. En effet en éclosion, trois périodes de fixation successives peuvent être déterminées. La première correspond à des individus de tête de lot et les deux suivantes respectivement à du corps et à de la queue de lot. En moyenne, la répartition de ces différentes fractions, en pourcentage de la population totale est la suivante : Tête de lot = 15%, Corps de lot = 70% et Queue de lot = 15% (Baud, 1988).

Chacune de ces sous-populations est élevée séparément en nursery. Au moment de l'échantillonnage, on tamise les 3 sous-populations de la population que l'on souhaite tester afin de disposer de lots de poids moyen homogène. La maille de tamis sur lequel les individus sont retenus varie de 4 à 16 mm (T2 à T8) et le poids de 10,0 à 178,7 mg.

Du fait de la variabilité de croissance des individus, ce tamisage permet de distinguer 3 lots au sein de chaque sous-population : les fractions comportant les individus de poids le plus élevé sont nommées C_R (croissance rapide), la classe de poids intermédiaire est notée C_M

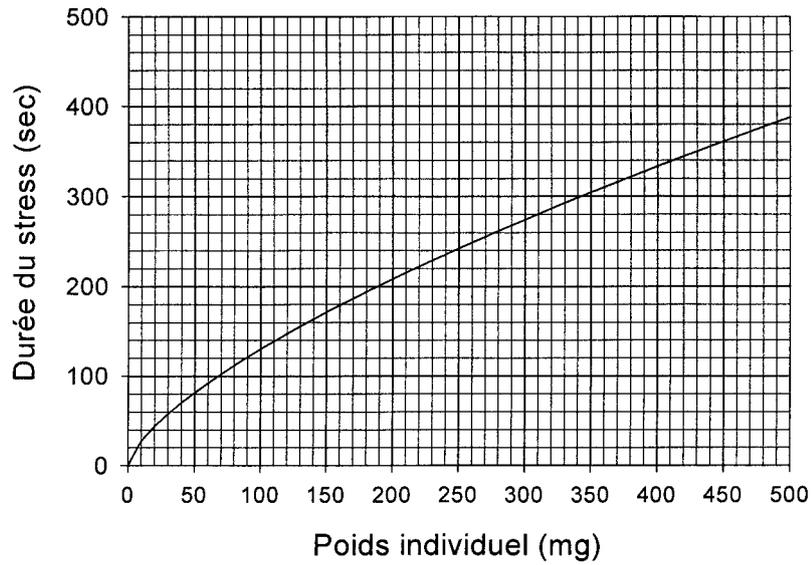


Figure 13 : Durée du choc thermique à appliquer en fonction du poids individuel à 45°C en eau douce pour obtenir 50% de mortalité.

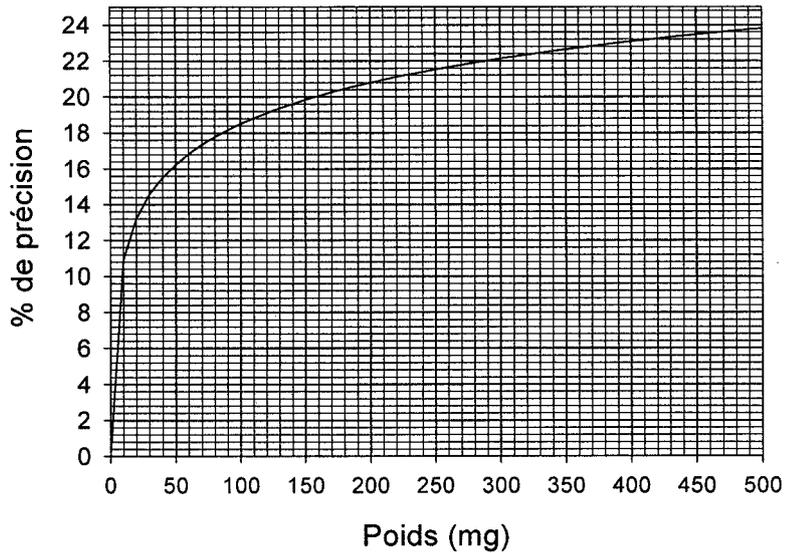


Figure 14 : Précision avec laquelle les 50% de mortalité sont obtenus en fonction du poids individuel.

(croissance moyenne) et celle des individus de poids plus faible C_L (croissance lente). La répartition de ces classes au sein des sous-populations, en pourcentage, est également de 15%, 70% et 15% (figure 15).

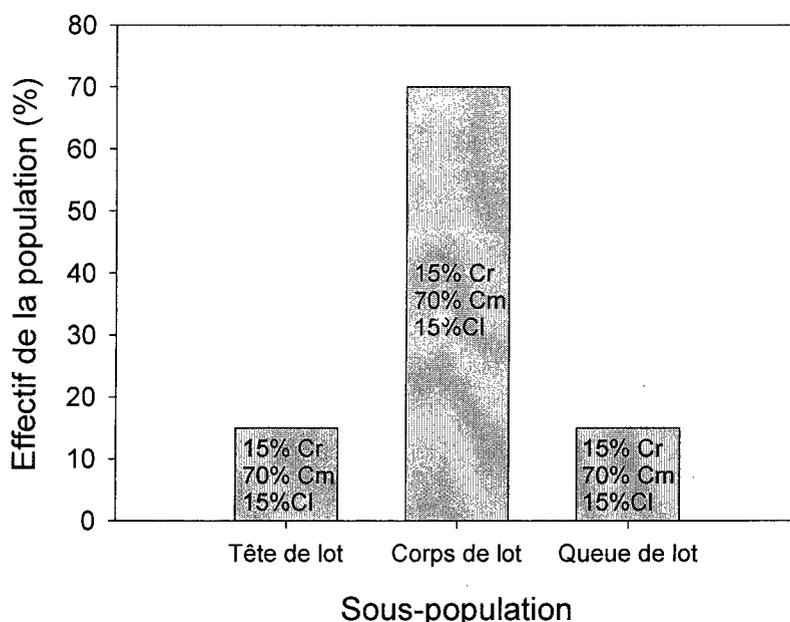


Figure 15 : Répartition en pourcentage d'effectif, des différentes classes d'une population.

Ainsi, à partir des 9 populations de départ, 27 lots ont été constitués qui sont codifiés par un numéro à 3 chiffres, le premier est le numéro de série, le deuxième représente la qualité du lot (1 = tête, 2 = corps, 3 = queue) et le troisième renseigne sur la croissance (1 = C_R , 2 = C_M , 3 = C_L) (tableau 3).

Le poids moyen individuel (mg), qui permet de définir le temps d'application du stress, est calculé par 3 pesées successives de 100 individus, quatre échantillons de 200 individus sont ensuite prélevés dans chaque classe.

2.2.2.2 Dispositif expérimental

Chaque prélèvement ainsi échantillonné, est placé dans des tubes tamis de 200 mm de diamètre dans des couloirs alimentés par de l'eau de mer à 13°C. Trois d'entre eux subissent un choc thermique et le dernier est conservée à 13°C pendant toute la durée de l'expérience et sert de témoin.

2.1.2. Origine parentale

Afin d'étudier une éventuelle différence de réponse d'origine génétique, des familles issues d'un croisement monoparental réalisé à partir de 6 mâles et 4 femelles, et ayant

Tableau 3 : Description des prélèvements réalisés dans les populations soumises à un stress à 45°C en eau douce. Chaque population est détaillée selon les fractions réparties après un tamisage (CR, CM et CL). La date et la durée stress sont également indiquées.

Population	N° du lot	Classe	Tamis	Poids (mg) n=3	Date du stress	Durée du stress (sec)
1	111	CR	T6	140,0 ± 6,0	18 mai	163
	122	CM	T4	060,0 ± 6,1	18 mai	86
	132	CM	T2	010,0 ± 0,2	18 mai	31
2	212	CM	T6	077,8 ± 13,0	2 juin	110
	222	CM	T4	043,4 ± 5,0	2 juin	74
	232	CM	T2	014,5 ± 1,0	2 juin	35
3	321	CR	T6	139,4 ± 17,0	27 juillet	162
	322	CM	T5	076,8 ± 5,0	27 juillet	109
	323	CL	T4	053,1 ± 3,0	27 juillet	85
4	421	CR	T6	105,2 ± 13,0	26 août	134
	422	CM	T4	041,8 ± 3,0	26 août	72
	423	CL	T2	017,7 ± 6,0	26 août	40
5	512	CM	T6	105,0 ± 19,0	11 août	135
	522	CM	T4	064,1 ± 4,0	11 août	95
	532	CM	T2	016,5 ± 4,0	11 août	39
6	612	CM	T6	121,0 ± 9,0	11 août	149
	622	CM	T4	066,2 ± 12,0	11 août	96
	632	CM	T2	021,2 ± 4,0	11 août	44
7	712	CM	T5	051,8 ± 5,0	26 août	84
	722	CM	T3	028,0 ± 0,0	26 août	55
	731	CR	T2	010,6 ± 5,0	26 août	27
8	812	CM	T5	047,2 ± 18,0	15 septembre	78
	821	CR	T3	027,4 ± 15,0	15 septembre	54
	822	CM	T2	010,5 ± 2,0	15 septembre	28
9	912	CM	T8	178,7 ± 12,0	22 septembre	193
	922	CM	T6	107,4 ± 11,0	22 septembre	136
	932	CM	T4	053,9 ± 10,0	22 septembre	85

abouti à la production de 15 familles de caractéristiques génétiques différentes ont été testées (tableau 4). Ces familles proviennent de l'écloserie du laboratoire Ifremer de Ronce-les-Bains et ont poursuivi leur prégrossissement en nurserie à la station Ifremer de Bouin.

Tableau 4 : Matrice des différents croisements effectués et numéro des lots étudiés.

	Mâle 1	Mâle 2	Mâle 4	Mâle 5	Mâle 6
Femelle 1	×	famille 5	famille 13	×	famille 21
Femelle 2	famille 2	famille 6	×	famille 18	famille 22
Femelle 3	famille 3	×	famille 15	famille 19	×
Femelle 4	famille 4	famille 8	famille 16	famille 20	famille 24

Seuls les corps de lot de ces familles ont été testés et chacune d'elle a été tamisée de manière à ne prélever que les individus de croissance moyenne (classe majoritaire). Les stress ont été réalisés sur des individus de taille T8. Le poids moyen individuel est déterminé en pesant 3 échantillons de 100 individus et il varie suivant les familles (tableau 5).

Pour chaque lot étudié, quatre échantillons de 200 animaux (un témoin et trois tests) sont placés à 13°C avant d'être stressés.

2.2.4 Cinétique de croissance et environnement d'élevage

2.2.4.1. Matériels biologiques

Les conditions d'élevage peuvent avoir une influence sur le comportement des animaux face à un stress. Les animaux utilisés pour vérifier cette hypothèse proviennent d'une écloserie-nurserie de Bouin. Ils sont issus d'une même ponte ce qui permet de réduire les variabilités dues à l'origine des juvéniles. Lors de l'acquisition du naissain (le 3 août 1998), les huîtres de taille T2 avaient un poids moyen individuel initial de $9,7 \pm 1,0$ mg (n=3).

L'ensemble du lot a été réparti en 6 fractions identiques d'environ 4000 individus et placées dans des conditions d'élevage différentes pendant une période d'un mois et demi. Cette durée est suffisante pour observer des cinétiques de croissance différentes suivant le milieu d'élevage.

Tableau 5 : Description des familles issues de croisements monoparentaux (taille, poids, date et durée du choc thermique).

Famille	Poids moyen (mg) (n=3)	Date du choc thermique	Durée du choc thermique (sec)
2	404,70 ± 1,32	30 juin 1998	332 (5'32)
3	439,20 ± 17,61	30 juin 1998	354 (5'54)
4	355,00 ± 18,67	30 juin 1998	307 (5'07)
5	377,00 ± 26,15	16 juin 1998	319 (5'19)
6	407,90 ± 23,76	30 juin 1998	338 (5'38)
8	387,00 ± 15,97	16 juin 1998	325 (5'25)
13	475,30 ± 10,10	30 juin 1998	373 (6'13)
15	440,00 ± 39,88	16 juin 1998	354 (5'54)
16	419,00 ± 10,61	17 juin 1998	343 (5'43)
18	407,00 ± 81,32	17 juin 1998	336 (5'36)
19	435,60 ± 9,31	30 juin 1998	352 (5'52)
20	371,75 ± 18,84	30 juin 1998	315 (5'15)
21	464,00 ± 49,31	01 juillet 1998	365 (6'05)
22	344,00 ± 26,58	16 juin 1998	300 (5'00)
24	443,00 ± 31,50	16 juin 1998	356 (5'56)

2.2.4.2 Conditions d'élevage

Les enceintes d'élevage

Chacun des 6 sous-lots est isolé dans une enceinte expérimentale alimentée selon le principe du flux continu ascendant, couramment utilisé dans les nurseries (figure 16).

Ces enceintes ont un volume utile de 100 litres et sont équipées pour recevoir des tubes tamis de 315 mm de diamètre. Le fond de ces tubes, pourvu d'un tamis en nylon de 1 mm de vide de maille, supporte les juvéniles étudiés.

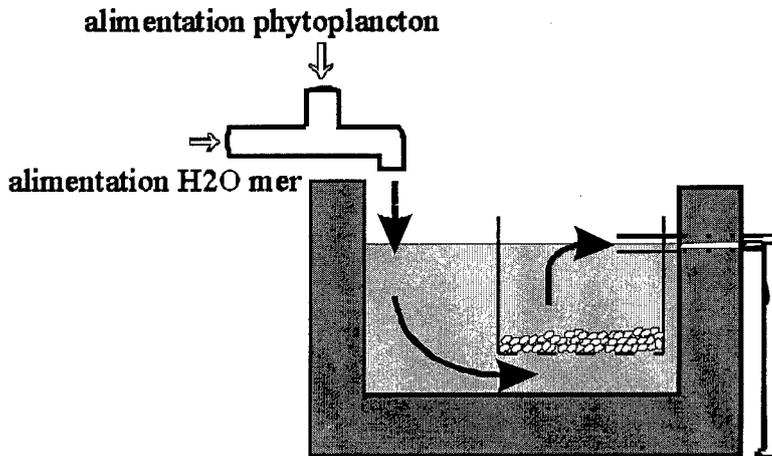


Figure 16 : Principe de la nourricerie à flux continu ascendant. Le mélange eau de mer/phytoplancton n'est évacué qu'après passage par le tube tamis contenant les juvéniles.

Alimentation en eau

Pour mettre en évidence l'influence de la qualité de l'environnement d'élevage sur les mortalités obtenues après un stress, les élevages ont été conduits en utilisant deux types d'eau. Pendant la durée de l'expérience, la moitié des enceintes est alimentée avec l'eau de mer du réseau de distribution du polder ostréicole. L'autre moitié des enceintes est alimentée avec de l'eau provenant d'un forage dans la nappe d'eau salée souterraine. Cette eau est traitée, afin de réduire ses teneurs élevées notamment en fer et nitrates, et réoxygénée avant utilisation.

Conformément aux travaux réalisés à la station Ifremer de Bouin (Baud, 1988, 1991), le débit d'eau de mer et d'eau de forage a été fixé à 500 litres/heure/enceinte, soit un taux de renouvellement de 500% par heure.

La température d'élevage dans les enceintes est maintenue constante pendant toute la durée de l'expérience. Dans le but d'avoir un taux de croissance optimal et des milieux d'élevage comparables, la température est contrôlée par échange thermique à 18°C.

Alimentation en phytoplancton

Pour mettre en évidence l'influence de la cinétique de croissance sur la réponse au stress thermique, il est nécessaire d'avoir au sein de chaque type d'élevage (eau de mer ou eau de forage), des conditions de croissance différentes. Celles-ci peuvent être obtenues en distribuant différentes quantités de nourriture.

Trois niveaux de ration alimentaire ont été choisis :

pas d'apport de phytoplancton (phy 0)

apport d'une ration moyenne de $20 \cdot 10^6$ cellules/jour/individu de *Skeletonema costatum* (phy 1)

apport d'une ration moyenne de $40 \cdot 10^6$ cellules/jour/individu de *Skeletonema costatum* (phy 2)

L'alimentation continue de phytoplancton est possible grâce à la production en grands volumes de *Skeletonema costatum* sur eau salée souterraine (Baud, 1988).

Le phytoplancton est prélevé dans un collecteur puis redistribué à l'aide de pompes doseuses vers les enceintes d'élevage. Les débits de phytoplancton ont été fixés à 3,75 l/h pour une quantité Phy1 de nourriture et à 7,50 l/h pour une quantité Phy2.

2.2.4.3 Suivi de la croissance et test de mortalité

Cette expérience a été effectuée sur une période d'un mois et demi (du 3 août au 17 septembre 1998).

A intervalle régulier de quinze jours, chaque sous-lot, placé dans des conditions différentes d'élevage, est tamisé de manière à le répartir en trois classes de tailles (C_R , C_M , C_L).

Pour suivre la cinétique de croissance de ces sous-populations, l'évolution du poids moyen individuel des animaux appartenant à la classe de taille C_M est suivi car elle est la plus représentative en terme de pourcentage de la population totale. Ainsi lors de chaque tamisage, 3 pesés successives de 100 individus permettent de déterminer le poids moyen.

La vitesse de croissance est calculée avec la formule suivante :

$$\text{Vitesse de croissance} = \frac{P_t - P_{\text{initial}}}{t - t_0}$$

P_t (mg) représente le poids moyen des animaux à l'instant t (jours).

P_{initial} représente le poids moyen des animaux à la date du début de l'expérience.

On prélève ensuite 4 fractions de 200 individus afin de leur appliquer un choc thermique à 45°C en eau douce susceptible de provoquer 50% de mortalité. Un des quatre prélèvements servira de témoin.

2.3 RÉSULTATS

2.3.1. Populations d'origines différentes

2.3.1.1. Mortalité en fonction des lots

L'application du stress standard aux différentes populations testées a abouti à l'obtention de mortalité variant de 0,5 à 72,5% (tableau 6) selon les lots.

Parmi les 27 échantillons testés, un lot exprime une mortalité supérieure à celle attendue par le modèle, 12 lots, une mortalité incluse dans les limites de validité du modèle et 14 lots, une mortalité inférieure (figure 17). Il existe donc au sein des différentes populations testées, une grande hétérogénéité au niveau des réponses.

De plus, la mortalité obtenue sur les différents lots étudiés semble être fonction de la classe de taille à laquelle appartiennent les animaux. En effet, trois des plus fortes mortalités observées concernent les individus appartenant à la classe C_R (figure 17). De la même manière, la comparaison de la moyenne des mortalités obtenues pour les différentes classes C_R , C_M , C_L , permet de renforcer cette tendance. En effet, les moyennes de mortalité sont respectivement de 39,16, 27,34 et 22,50%.

Les résultats confirment donc les premières tendances apparues lors des travaux précédents. Ces travaux réalisés par Glemarec *et al* en 1997, avaient permis de tester avec le même protocole, 41 échantillons répartis suivant les trois classes de taille précédemment décrites. Ces résultats ont mis en évidence une grande variabilité dans les réponses

Tableau 6 : Mortalité moyenne (%) pour chaque classe de chaque population. La position par rapport au modèle est définie par l'intervalle (limite basse (%)-limite haute (%)).

Numéro du lot	Ecloserie	Mortalité (%)	Limite basse (%)	Limite haute (%)	Position
111	A	53,00	30	70	Moy
122	A	37,33	33	67	Moy
132	A	02,16	39	61	Inf
212	A	28,83	32	68	Inf
222	A	37,50	34	65	Moy
232	A	11,50	38	62	Inf
321	C	72,50	30	70	Sup
322	C	36,80	32	68	Moy
323	C	40,50	34	66	Moy
421	C	65,50	31	69	Moy
422	C	33,83	33	66	Moy
423	C	04,50	37	63	Inf
512	B	31,60	31	69	Moy
522	B	22,30	33	67	Inf
532	B	04,16	37	63	Inf
612	A	53,00	30	69	Moy
622	A	47,00	33	67	Moy
632	A	26,83	37	63	Inf
712	B	19,16	34	66	Inf
722	B	04,33	36	64	Inf
731	B	00,16	39	61	Inf
812	B	16,66	34	66	Inf
821	B	04,66	36	64	Inf
822	B	00,50	39	61	Inf
912	C	67,16	30	70	Moy
922	C	46,33	31	69	Moy
932	C	19,80	34	66	Inf

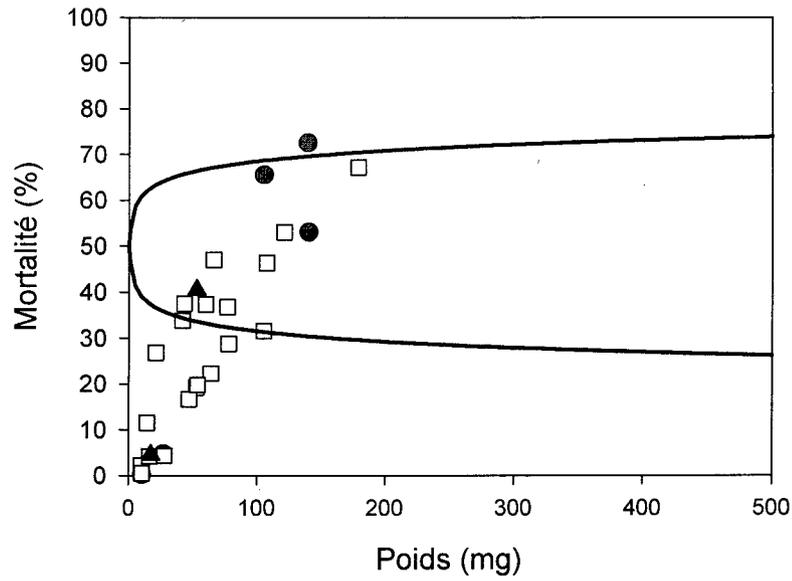


Figure 17 : Répartition de la mortalité (%) observée en 1998, sur 27 classes différentes. CR (●), CM (□), CL (▲) et précision autour de 50% de mortalité (—).

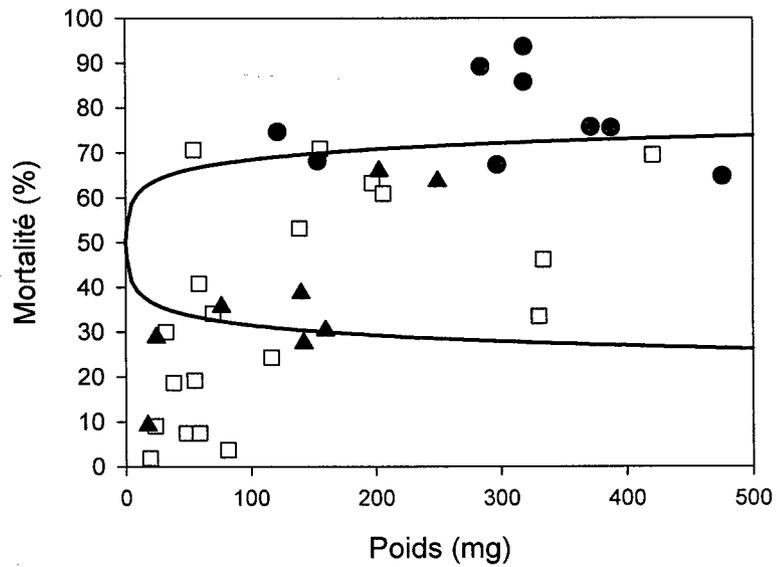


Figure 18 : Répartition de la mortalité (%) observée en 1997, sur 41 classes différentes. CR (●), CM (□), CL (▲) et précision autour de 50% de mortalité (—).

observées. En effet les mortalités provoquées par le stress standard s'échelonnent de 1,83 à 93,61% (figure 18). Le calcul de la mortalité moyenne pour chaque classe a montré un arrangement de la mortalité suivant ces différentes classes de taille. En effet, les moyennes des mortalités étaient de 66,82% pour C_R , 36,55% pour C_M et de 33,40% pour C_L .

La compilation de l'ensemble des données (68) issues de l'étude de Glemarec *et al* en 97 et de la présente étude, permet de dégager une tendance plus globale (figure 19).

Sur ces deux années (1997-1998), les réponses en terme de mortalité sont très variables d'une population à une autre et par conséquent d'une origine à une autre.

Les mortalités (%) ont été transformées en arcsinus ($\text{asin} \times \text{Mortalité}^{-1/2}$), de manière à effectuer une ANOVA sur l'ensemble des 68 données en fonction du type de croissance (C_R , C_M , C_L). Le test de Student-Newman-Keuls a été utilisée pour permettre de hiérarchiser les facteurs étudiés. Il montre que les différences observées en terme de mortalité entre les C_R et C_M , et les C_R et C_L sont significativement différentes ($P < 0,001$, $P = 0,033$). En revanche, les mortalités observées sur les C_M et les C_L ne sont pas significativement différentes ($P = 0,37$). Les mortalités obtenues à la suite d'un choc thermique en eau douce à 45°C peuvent donc être hiérarchisées de la façon suivante :

$$\text{Mortalité } (C_R) > \text{Mortalité } (C_M \text{ ou } C_L)$$

2.3.1.2. Influence des conditions d'élevage

Même si globalement la qualité de l'environnement ne varie pas, les techniques d'élevage, en revanche, peuvent différer suivant les écloséries-nurseries.

Les 9 populations qui ont été testées dans cette étude, proviennent de nurseries différentes. Les mortalités observées pour chaque fraction de chaque population en fonction du lieu de prélèvement montre qu'il existe des différences entre les écloséries (tableau 6 et figure 20). En effet, pour l'éclosérie A, les mortalités varient de 2,16 à 53,00%. Pour l'éclosérie B, elles varient de 0,16 à 31,60% et pour la C, de 19,90 à 72,50%.

Une analyse de variance a été réalisée sur les mortalités en fonction du lieu de prélèvement. Le test de Student-Newman-Keuls a été utilisé pour permettre de hiérarchiser les facteurs étudiés. Cette ANOVA montre qu'il existe des différences significatives entre les écloséries A et B, et B et C ($P = 0,001$ et $P = 0,01$). Cependant, les différences observées entre les écloséries A et C ne sont pas significatives ($P = 0,110$).

2.3.2 Origine parentale

Les résultats montrent une grande variabilité au niveau des mortalités observées suivant les familles testées (tableau 7, figure 21). En effet les mortalités varient de 24,5% pour la famille 5 à 87,3% pour la famille 13.

Les mortalités exprimées en pourcentage, ont été transformées en arcsinus de manière à réaliser deux analyses de variance.

Pour la première ANOVA à un facteur, le test de Kruskal-Wallis a été utilisé pour hiérarchiser le facteur famille car les données ne suivaient pas une distribution normale. Elle montre que les mortalités issues du choc thermique sont significativement différentes en fonction des familles ($P < 0,05$).

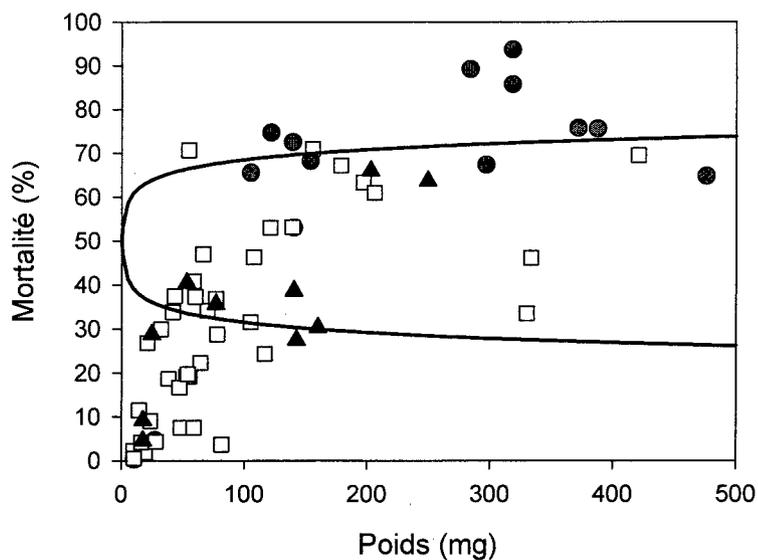


Figure 19 : Répartition de la mortalité (%) observée sur les deux années d'études, sur 68 classes différentes. CR (●), CM (□), CL (▲) et précision autour de 50% de mortalité (—).

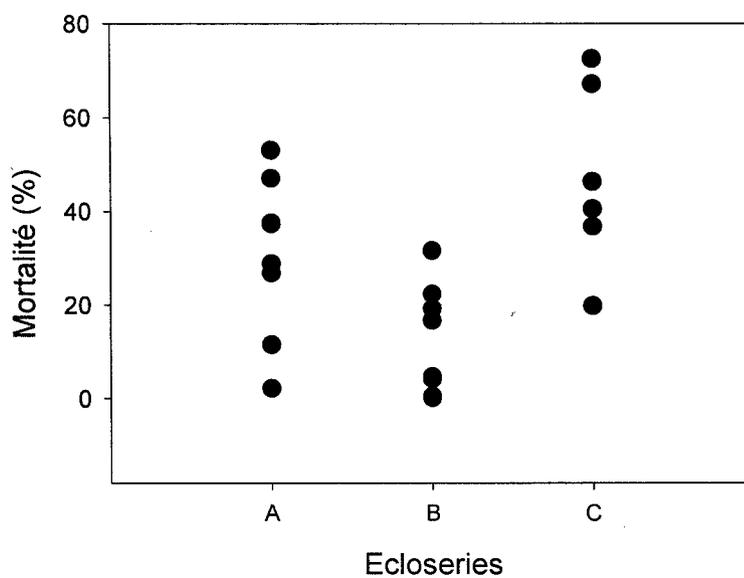


Figure 20 : Répartition des mortalités (%) après choc thermique suivant les différentes écloséries échantillonnées (A, B, C).

La deuxième ANOVA à deux facteurs (mâle et femelle) montre que si la fragilité des animaux à ce type de stress varie suivant les origines génétiques, elle n'est cependant pas due uniquement à un effet paternel ou maternel mais plutôt à l'effet croisement mâle×femelle. En effet, aucune différence significative n'est observée sur les mortalités en fonction du facteur mâle ($P=0,995$) et du facteur femelle ($P=0,990$).

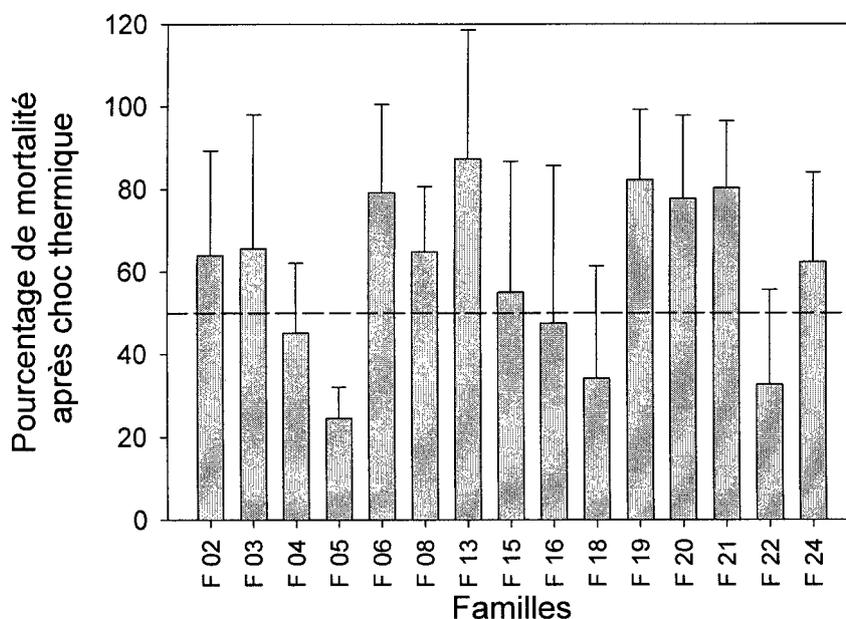


Figure 21 : Représentation de la mortalité (%) apparue à la suite d'un choc thermique en eau douce à 45°C sur les différentes familles étudiées. (---) représente le niveau « 50% » de mortalité.

2.3.3 Influence de la qualité d'eau et de la ration alimentaire

2.3.3.1 Influence de la qualité d'eau

Deux analyses de variance ont montré que la qualité d'eau, eau de mer ou eau de forage traitée, n'a aucune influence sur la croissance ($P=0,884$) et la mortalité observée ($P=0,483$). La première a été réalisée, après une transformation de type logarithmique du poids moyen calculé, en fonction de la qualité d'eau.

La deuxième a été appliquée à l'ensemble des 19 données obtenues en terme de mortalité, en fonction de la qualité d'eau, après une transformation arcsinus de la racine carrée de la mortalité.

Les résultats suivants tiendront donc compte uniquement de la quantité de nourriture distribuée.

2.3.3.2 Évolution de la croissance

Le poids moyen individuel des animaux appartenant à la classe C_M de chaque fraction, est déterminé à intervalle régulier de 15 jours, sur une période totale d'un mois et demi. Ainsi, il est possible de décrire l'évolution de la croissance (en mg) en fonction des différentes conditions d'élevage au cours du temps (tableau 8, figure 22).

Tableau 8. Evolution de la croissance, exprimée en mg, en fonction du milieu d'élevage.

Jours	EM	EM, Phy1	EM, Phy2	EF	EF,Phy1	EF, Phy2
0	09,74	09,74	09,74	09,74	09,74	09,74
15	10,84	25,04	38,83	10,00	40,57	45,85
30	10,67	59,88	208,32	10,46	106,14	189,82
45	11,74	110,94	384,37	10,14	126,47	357,38

Au temps initial t_0 (3 août 1998), l'ensemble des animaux avait un poids moyen individuel de $9,74 \pm 0,96$ mg ($n=3$). Puis suivant les conditions d'élevage, les différentes fractions ont présenté des parcours de croissance différents.

Les individus placés en eau de mer ou en eau de forage sans apport de nourriture (phy 0), ont montré une croissance nulle pendant de la période étudiée. En revanche, au terme de l'expérience c'est à dire à t_{45} (17 septembre 1998), les animaux ayant reçu un apport supplémentaire de *Skeletonema costatum* atteignent un poids moyen individuel d'environ 125 mg pour Phy1 et 360 mg pour Phy2.

Cette différence observée est confirmée statistiquement. En effet, une ANOVA a été réalisée sur le log du poids en fonction de la ration alimentaire et le test de Student-Newman-Keuls a été utilisé pour permettre de hiérarchiser les paramètres. Il montre que les différences de croissance observées en fonction des quantités de nourriture (Phy0, Phy1 et Phy2) sont significativement différentes ($P < 0,001$).

2.3.3.3 Mortalité en fonction de la ration alimentaire

Après chaque échantillonnage, chaque sous lot a été traité par choc thermique en eau douce à 45°C . L'ensemble des mortalités observées 9 jours après ce stress (tableau 9) est représenté en fonction de la qualité de l'environnement sur la figure 23.

Le premier dénombrement de la mortalité réalisé le 19 août 1998, est de 1,66%. Il traduit l'effet d'un choc thermique réalisé sur des animaux de poids moyen initial.

Tableau 9. Pourcentage de mortalité (%) et intervalle de confiance () en fonction du milieu et de la ration alimentaire.

	J 0	J 15	J 30	J 45
EM	1,66 (4)	1,16 (0,7)	2,16 (3,1)	4,5 (4,9)
EM, Phy1	1,66 (4)	1,83 (3,1)	17,16 (11,2)	42,3 (17,4)
EM, Phy2	1,66 (4)	21,66 (20,8)	71,3 (27,7)	62,3 (42,2)
EF	1,66 (4)	2,33 (1,9)	8,83 (4,7)	14,16 (2,6)
EF, Phy1	1,66 (4)	16,5 (8,7)	43,16 (11,2)	46,16 (22,6)
EF, Phy2	1,66 (4)	18,7 (10,6)	70,7 (17,4)	66,2 (27,4)

Les résultats suivants montrent que les individus placés dans les meilleures conditions de croissance, expriment de plus fortes mortalités. Les mortalités survenues après la dernière série de stress ont été dénombrées le 2 octobre 1998. Elles sont d'environ 66% pour les animaux élevés avec une quantité Phy2 de nourriture, 46% avec une quantité Phy1 et 14% pour Phy0.

Une analyse de variance a été réalisée sur l'arcsinus de la racine carrée de la mortalité en fonction de la quantité de nourriture distribuée. Elle montre que les différences de mortalité observée sont significativement différentes suivant les quantités de nourriture distribuée ($P < 0,001$). En effet, Phy2 est significativement différent de Phy0 et Phy1, lui-même différent de Phy0, avec $P < 0,001$, $P = 0,037$ et $P = 0,005$.

Des cinétiques de croissance différentes, exprimées en $\text{mg}\cdot\text{j}^{-1}$, sont induites par la quantité de nourriture disponible.

La figure 24 représente l'évolution de la mortalité en fonction de la cinétique de croissance. On constate que des animaux qui ont reçu une ration phy2 ont le meilleur coefficient de croissance, mais sont également les plus fragiles au stress. En effet, les mortalités survenues à la suite d'un stress sont supérieures à 60% pour des individus ayant des vitesses de croissance de l'ordre de 7 à 9 mg/jour. En revanche, elles sont inférieures à 20% pour des cinétiques de 2 à 3 mg/jour.

Cette relation mortalité-vitesse de croissance est caractérisée par une régression non-linéaire de type exponentiel avec un coefficient de détermination r^2 de 0,89 et $P < 0,0001$.

2.3.4 Suivi sur estran de certaines populations

Les individus à croissance moyenne de certaines familles issues de croisements réalisés par les conseillers aquacoles du syndicat mixte pour le développement aquacole des pays de la Loire (SMIDAP) avec l'aide de professionnels, ont été testé à la taille T6, le 16 juillet 1998. Ces lots S1, S2, SF et SG avaient des poids moyens individuels de respectivement 182 ± 32 ; 176 ± 2 ; 220 ± 30 et $186 \pm 7\text{mg}$ ($n=3$). Ils ont exprimé à la suite d'un choc

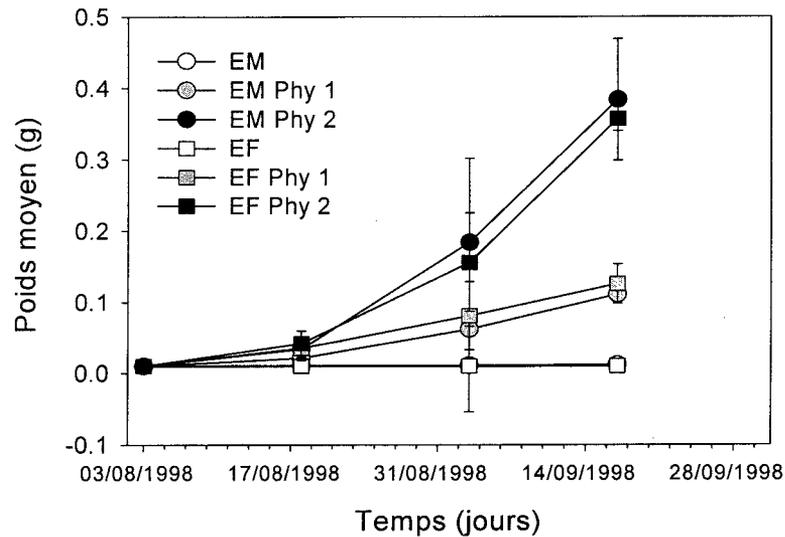


Figure 22 : Evolution de poids moyen individuel (mg) en fonction du temps, suivant différentes conditions d'élevage.

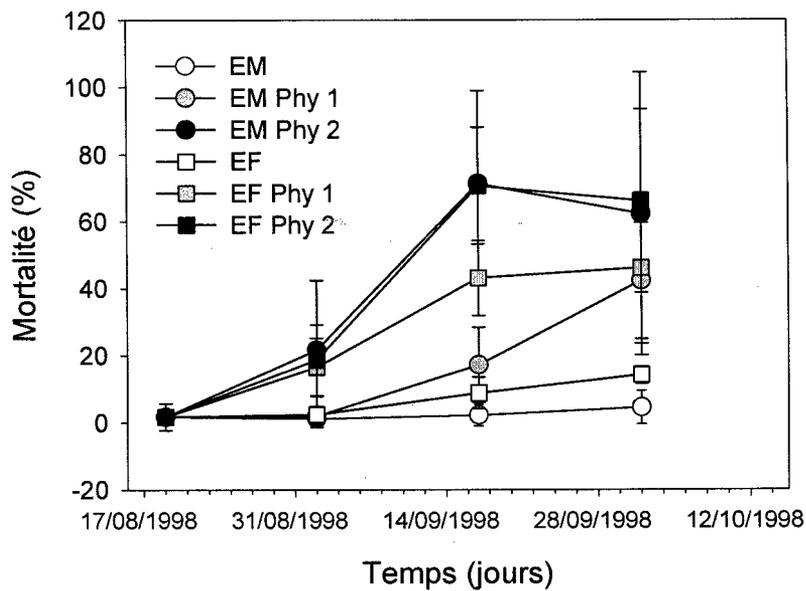


Figure 23 : Pourcentages de mortalité obtenus à la suite de 4 chocs thermiques, sur des individus placés dans des conditions d'élevage différentes.

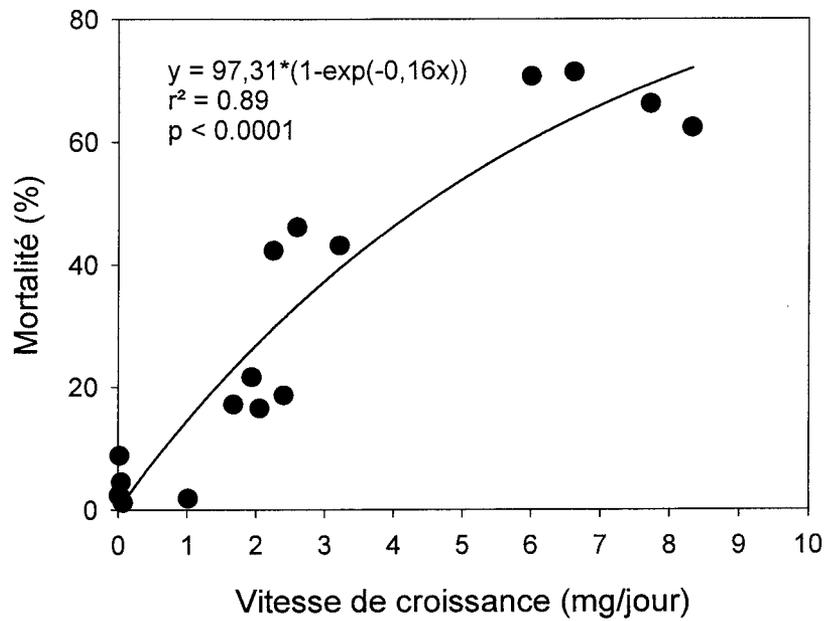


Figure 24 : Evolution du pourcentage de mortalité apparue après application d'un choc thermique en eau douce à 45°C, en fonction de la vitesse de croissance (mg/jour) des animaux.

Tableau 10 : Pourcentages de mortalité (%) observés sur estran suivant les familles et les différents sites (données SMIDAP).

	Baie de Bourgneuf La Couplasse	Entrée de Baie de Pen Bé	Sortie de baie de Pen Bé	Baie de Morlaix
S1	1,3	3,3	3,0	4,0
S2	0,0	2,0	3,0	1,0
SF	3,2	7,3	12,0	40,0
SG	0,0	6,0	10,0	5,0

thermique en eau douce à 45°C, des mortalités de respectivement $82,16 \pm 12,19$; $75,00 \pm 31,20$; $82,33 \pm 9,96$ et $73,83 \pm 14,34$ % (n=3).

Ces résultats se situent au-dessus des limites de validité du modèle et laisse donc présager une fragilité potentielle de ces lots.

Après la phase de prégrossissement en nurserie, ces lots ont été placés sur estran dans quatre sites différents (la baie de Bourgneuf (la Couplasse), l'entrée de baie de Penbé, la sortie de baie de Penbé et la baie de Morlaix). Les mortalités sur estran ont été suivies par les conseillers aquacoles du SMIDAP. Le 10 septembre 1998, les résultats ne coïncident pas avec ceux obtenus par choc thermique. En effet les mortalités naturelles sont relativement faibles à l'exception de celles apparues sur le lot SG (40%) dans la baie de Morlaix qui correspond au site le plus poussant (tableau 10).

2.4 DISCUSSION

Des recherches bibliographiques montrent que jusqu'à présent, peu d'auteurs scientifiques ont travaillé sur le problème de la réponse des juvéniles de *Crassostrea gigas* en matière de mortalité après l'application d'un stress standard (Kay, 1996, Tirard *et al*, 1995). Cette étude s'inscrit pleinement dans cette problématique et permet de mettre en évidence l'influence de différents facteurs sur la fragilité du naissain d'huître creuse par rapport à un choc thermique.

En considérant les performances de croissance de chaque échantillon, croissance rapide (CR), moyenne (CM) et lente (CL) à l'intérieur d'un même lot avant le stress, on constate une corrélation positive entre vitesse de croissance et fragilité. En effet, ce sont les juvéniles de *Crassostrea gigas* qui composent la classe CR, qui exprime la plus grande sensibilité au choc thermique. Ces résultats confirment donc la tendance observée en 1997 (Glemarec *et al.*, 1997). Ils ne permettent pas en revanche, de déterminer si cette fragilité accrue au stress est représentative d'un potentiel ou d'une vitesse de croissance du naissain d'huître creuse.

Ainsi est-il possible d'envisager que dans les conditions naturelles, les fractions de la population qui ont la croissance la plus forte, sont aussi celles qui présentent le moins de résistance au stress. Elles peuvent alors déclencher dans certaines conditions, un épisode de mortalité s'étendant à l'ensemble de la population. Les mortalités estivales étant la conséquence de stress environnementaux (Friedman *et al*, 1997), ceci pourrait donc permettre d'expliquer en partie leur apparition.

Parallèlement à cette plus grande sensibilité au stress des individus à croissance rapide, des chocs thermiques réalisés sur des individus issus de lignées parentales identifiées, ont également mis en évidence un effet familial sur la variabilité de réponse en terme de mortalité. Cependant, aucun effet sexe n'a pu être mis en évidence.

D'après ces résultats, il semblerait donc qu'une base génétique existe sur le caractère de sensibilité au choc thermique des jeunes huîtres creuses. De ce fait, des statuts différents vis à vis de la sensibilité au stress pourraient qualifier dès l'origine les juvéniles, en fonction du croisement parental.

De plus, pour une même origine, les résultats ont montré que la vitesse de croissance induite par la ration alimentaire, détermine une plus grande fragilité du naissain vis à vis d'un stress standard. Il semble donc que l'énergie dépensée par les juvéniles de *Crassostrea gigas* pour obtenir des taux de croissance élevés, soit allouée essentiellement à la croissance au détriment de la résistance au stress.

Ainsi, la conjugaison de conditions d'élevage en éclosérie et en nurserie initiant de fortes croissances, pourrait renforcer la fragilité de certains lots lors du transfert sur estran, et d'autant plus si ces lots sont sensibles « génétiquement ».

Cependant, à la question, est ce que la survie de certaines populations par rapport à l'application d'un choc thermique permet de diagnostiquer un état de fragilité permanent ? Il semblerait que ce test ne soit pas prédictif et représente donc, plus un état ponctuel qu'un niveau de fragilité constant et permanent. Ces hypothèses doivent cependant, être mieux étudiées à terme.

Enfin, la possibilité d'obtenir des mortalités de juvéniles de *Crassostrea gigas* avec une technique standardisée permet d'envisager dans un proche avenir l'étude du déterminisme de ces mortalités. En effet, certaines études (Shamseldin *et al*, 1997 ; Clegg *et al*, 1998) montrent que des huîtres (*Crassostrea gigas*) exposées à un choc thermique non léthal (37°C pendant 1 heure) acquièrent une certaine tolérance à un deuxième choc prévu pour être léthal (43°C pendant 1 heure). Cette induction de la thermotolérance est corrélée avec la production de protéines de stress hsp-70 (Shamseldin *et al*, 1997) qui pourrait être également des protéines de résistance à certains stress physiques et biologiques environnementaux (Clegg *et al*, 1998).

Ainsi, des prolongements scientifiques dans les domaines génétiques, physiologiques et pathologiques peuvent être initiés afin de mieux comprendre les processus et les causes de mortalités induites par un choc thermique brutal et sublétal.

2.5 CONCLUSION GÉNÉRALE

Le choc thermique en eau douce a été choisi comme stress permettant la standardisation d'une méthode représentative d'un stress environnemental chez les juvéniles de *Crassostrea gigas*. Cette méthode permet de caractériser un degré de fragilité du naissain vis à vis de conditions extrêmes par l'intermédiaire d'une estimation de la survie sur différentes populations testées.

Une reproductibilité satisfaisante de cette technique peu coûteuse et simple à mettre en œuvre a été obtenue par l'établissement d'un protocole standard. Ce protocole est caractérisé par une phase d'acclimatation du naissain avant l'application du stress, par la durée du choc thermique, et par le temps de suivi des mortalités consécutives au choc thermique.

L'application de ce protocole standard a permis d'obtenir un modèle de mortalité obtenue sur une population de naissain pour des tailles de 15 mm (T10) à 26 mm (T14). Ce modèle permet de définir le temps d'application du choc thermique à 50°C, pour obtenir 50% de mortalité sur des juvéniles de *Crassostrea gigas* selon le poids moyen individuel.

Cet abaque a été réalisé dans le but de pouvoir tester du naissain de captage naturel. Même s'il caractérise bien la réaction du naissain à un choc thermique en eau douce à 50°C, il pose néanmoins des problèmes de précision dans son application.

Afin d'améliorer ce manque de précision, il serait donc utile d'élaborer un nouveau modèle en augmentant le nombre d'expérimentations et par conséquent le nombre de données. Le protocole expérimental pourrait également être modifié, en diminuant la température du choc thermique et/ou en modifiant l'échelle de temps d'application du stress.

La deuxième phase de cette étude a permis de tester la survie de différentes populations de naissain de *Crassostrea gigas* dont l'historique est connu, à l'aide de l'abaque 1997, applicable à un choc thermique de 45°C en eau douce. Le choc thermique calibré pour générer une mortalité de 50% de juvéniles sur un lot, a mis en évidence une variabilité de réponses s'étalant de 2 à 90%. Cette grande sensibilité des différentes populations testées serait due d'une part, à l'origine génétique des lots et d'autre part, à la vitesse de croissance des animaux. Cependant, cette méthode ne semble pas prédictive et révèle une fragilité plutôt ponctuelle que permanente du naissain d'huître creuse.

Cependant, ce stress standard, simple et peu coûteux, permet un diagnostic rapide et pourrait trouver son utilité dans plusieurs domaines.

Pour les professionnels tout d'abord, elle pourrait permettre d'évaluer le niveau de fragilité des populations de naissain. Elle constituerait alors un outil d'aide à la décision permettant au vendeur ou à l'acheteur, d'écarter certains lots suspectés d'être plus fragiles. De plus, de manière à ne pas fragiliser les animaux, il serait également intéressant pour le nurseur, de freiner ponctuellement les individus dans leur croissance.

Pour la recherche ensuite, la technique de choc thermique standard appliqué à l'huître creuse, pourrait être utile à la compréhension de modifications physiologiques, biologiques, cellulaires, et/ou à la stimulation de pathogènes consécutive à un stress.

De plus, compte tenu de l'apparition de mortalité estivale depuis 1995, il serait intéressant de pouvoir sélectionner des huîtres plus résistantes aux stress environnementaux. Le choc thermique standard, pourrait donc être utilisé si une base génétique existe, comme une aide à la sélection d'animaux plus « résistants » en réalisant des croisements entre les survivants.

Des études ultérieures doivent donc être menées dans ce sens, ainsi qu'un suivi de l'évolution des générations sélectionnées vis à vis des agressions environnementales en période estivale.

3 BIBLIOGRAPHIE

Barille-Goyer, A.L., Haure, J. et Baud, J.P. (1997) L'ostréiculture en Baie de Bourgneuf. Relation entre la croissance des huîtres *Crassostrea gigas* et le milieu naturel (1997) : Synthèse de 1986 à 1995. Rapport IFREMER DRV/RA/RST/97-16, 173 pp.

Baud, J.P. (1988) Mise au point d'une stratégie de prégrossissement intensif en nourricerie de naissains de palourdes (*Ruditapes philippinarum*) et d'huîtres creuses (*Crassostrea gigas*) dans la région de la Baie de Bourgneuf. Rapport IFREMER DRV 88.031-RA/Bouin, 83 pp.

Baud, J.P. (1991) Utilisation des eaux salées souterraines en Baie de Bourgneuf pour le prégrossissement intensif de mollusques filtreurs en nourricerie. Mémoire présenté le 20 décembre 1991 pour obtenir le diplôme de recherche universitaire de l'Université des Sciences de Nantes, 65 pp.

Baud, J.P., Fleury, P.G. et Mazurié, J. (1997) Outils d'appréciation de l'état de santé chez les bivalves. Communication orale et écrite, 5 pp. Journées du comité de programme RA/DRV, 26 et 27 juin à Erdeven.

Chiffolleau, Y. (1995) Déterminisme de la mortalité estivale de l'huître creuse *Crassostrea gigas* en condition d'élevage intensif. IFREMER, rapport de stage D.E.S.S. Caen/IFREMER, 58 pp.

Clegg, J.S., Uhlinger, K.R., Jackson, S.A., Cherr, G.N., Rifkin, E., Friedman, C.S. (1998) Induced thermotolerance and the heat shock protein-70 family in the pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 7(1), pp. 21-30.

Dhert, P., Lavens, P. and Sorgoloss P. (1993) Stress evaluation : a tool for quality control of hatchery-produced shrimp and fish fry. *Aquaculture Europe*, 17(2), pp. 6-10.

Friedman, C.S., Shamseldin, A., Pillai, M., Olin, P.G., Cherr, G.N., Jackson, S.A., Rifkin, E., Uhlinger, K.R., Clegg, J.S. (1997) Summer mortality and the stress response of the pacific oyster *Crassostrea gigas* thunberg. *National Shellfish Association. Abstract*, 1997 Annual Meeting, April 20-24, pp. 335.

Glemarec, Y.M. (1996) Influence des facteurs environnementaux sur la croissance et la mortalité de *Crassostrea gigas*. Rapport de stage DESS, LBBM/UFR Sciences de la vie, Université de Caen/IFREMER Bouin, 43 pp.

Glemarec, Y.M., Haure, J., Baud, J.P. (1997) Mise au point d'une méthode standardisée de stress chez *Crassostrea gigas*. Rapport de contrat IFREMER/SECTION CONCHYLICOLE RE-CENTRE OUEST, 45 pp.

Héral, M. (1986) Evolution et état du cheptel ostréicole dans le bassin de Marennes-Oléron : intérêt d'une régulation. Rapport IFREMER DRV-86-06 AQ/TREM, 35 pp.

Kay, R. (1996) Stress in juveniles of the pacific oyster (*Crassostrea gigas*) induced by exposure to air at high temperature. Report of Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. Laboratory Conwy. N. Wales., 12 pp.

Shamseldin, A., Clegg, J.S., Friedman, C.S., Cherr, G.N., Pillai M. C. (1997) Induced thermotolerance in the pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Journal of Shellfish Research*, Vol. 16, No. 2, pp. 487-491.

Tirard, C.T., Grossfeld, R.M., Levine, J.F. and Kennedy-Stoskopf, S. (1995) Effect of hyperthermia in vitro on stress protein synthesis and accumulation in oyster haemocytes. *Fish and Shellfish Immunology*, Vol. 5, pp. 9-25.

