

Département ODE
Laboratoire Environnement-Ressources des Pertuis Charentais

Patrick SOLETCHNIK
Philippe. GEAIRON
Olivier LE MOINE
Stephane ROBERT

Année 2012 – R.INT. ODE / LER / LERPC 2012

Effets de facteurs environnementaux (émersion, ressource alimentaire, ...) sur la survie de naissains d'huîtres creuses dans les pertuis charentais



Fiche documentaire

Numéro d'identification du rapport : Diffusion : libre : <input checked="" type="checkbox"/> restreinte : <input type="checkbox"/> interdite : <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>		date de publication : 2012 nombre de pages : 61 bibliographie : dans le texte illustration(s) : 35 figures langue du rapport : FR	
Validé par : Jean François Pépin Adresse électronique : Jean.Francois.Pepin@ifremer.fr			
Titre de l'article : Estimation des stocks sauvages d'huîtres creuses dans les pertuis charentais en 2010			
Contrat n°		Rapport intermédiaire <input type="checkbox"/> Rapport définitif <input checked="" type="checkbox"/>	
Auteurs principaux : PATRICK SOLECHNIK, PHILIPPE. GEIRON, OLIVIER LE MOINE, STEPHANE ROBERT Contributeurs : PATRICE GUILPAIN, JEAN LUC SEUGNET		Organisme / Direction / Service, laboratoire IFREMER/ODE/LER/LERPC	
Encadrement(s) :			
Cadre de la recherche : Projet Développement Durable Pêche et Conchyliculture dans les Pertuis Charentais. Financement par la Région Poitou-Charentes (CPER 2007-2013) et par le FEDER.			
Destinataire : Archives institutionnelles Ifremer (Archimer)			

Résumé

Des observations faites en 2009 et 2010 en estuaire de la Seudre montrent que la survie du naissain d'huîtres sauvages s'échelonne de 90% à 10% sur une structure verticale en béton, selon l'altitude de fixation. Plusieurs hypothèses proposées alors, relèvent : de la sélection précoce, de la résistance physiologique, de l'exposition à de plus fortes températures, du temps de présence dans l'eau (contamination et ressource trophique), et de la relation des naissains avec le sédiment. En 2010 et 2011, des expérimentations seront réalisées pour tester ces différentes hypothèses ; En 2010, sur le site ostréicole d'Agnas (bassin de Marennes Oléron) l'expérimentation vise à préciser l'effet de l'altitude des parcs, de l'exposition et de la déplétion, par « enrobage » des naissains par des moules adultes dans des paniers. La mortalité moyenne est de l'ordre de 60%. Seule la condition standard d'élevage à un coefficient de parc de dépôt haut (coef 35) permet un gain de survie significatif de l'ordre de 20-22% par rapport aux conditions d'élevage, plus profondes, à coefficient de 55 ou 80. L'émersion réduit bien l'impact de l'épidémie sur les naissains. L'effet de déplétion trophique induit par les moules sur le site à coef. 55 est du même ordre de grandeur, vis à vis de la cinétique de mortalité, que la réduction d'impact des mortalités sur les huîtres dans des conditions d'émersion quotidienne et plus prolongée sur le site à coef. 35 (par rapport aux autres sites à coef. 55 et 80). A l'issue de l'expérimentation 2010, parmi les hypothèses formulées, le risque de contamination ou d'infection du naissain qui augmente avec le temps de résidence dans l'eau, semble bien être l'hypothèse la plus valide. Une des questions sous jacente à cette hypothèse est de savoir si l'émersion agit en réduisant le risque de contamination ou l'accès à la ressource trophique. En 2011, l'expérimentation est menée en écloserie sur la base d'un plan d'expérience à deux facteurs croisés : l'immersion (50% et 100%) et l'alimentation (complément en algues ou pas). Environ 150 naissains sont collés individuellement sur 16 plaques plongées chacune dans 16 bacs identiques. Les 4 conditions sont représentées en triplicata ; la 4^{ème} plaque de chaque condition servant aux prélèvements de naissains pour la recherche des organismes pathogènes : virus OsHV-1 et vibrio *V. aestuarianus* et *V. splendidus*. Dans cette structure expérimentale confinée (taux de renouvellement d'environ 200%), avec une température d'élevage toujours supérieure à 16-17°C, pour chacun des bacs, l'épidémie dure entre une semaine et 10 jours. Au terme de cette période la mortalité est insignifiante pendant près d'un mois, c'est à dire jusqu'à la date d'arrêt de l'expérimentation. A cette date, la mortalité moyenne des 12 bacs est de 52%. Les mortalités finales sont comprises entre 55 et 85% pour les 9 bacs sur 12. Malgré la forte contamination initiale des huîtres en virus OsHV-1, 3 bacs sur 12 ne vont pas développer d'épisode de mortalité; la mortalité reste comprise entre 1 et 13 % pour ces 3 bacs. Les naissains épargnés sont principalement issus de la condition à immersion 50% avec un faible apport alimentaire (pas de complément algal dans la ration) (2 bacs sur 3). La condition expérimentale : immersion 50% et apport complémentaire en algues, subit une mortalité de l'ordre de 57 % inférieure aux valeurs de 72-73% des conditions d'élevage en immersion permanente (avec et sans apport d'algues complémentaires). C'est donc bien l'émersion qui apparaît ici comme le facteur principal permettant un gain de survie des naissains. L'alimentation semble intervenir en interaction avec l'émersion ; le bénéfice lié à une émersion de l'ordre de 50% (équivalent à un parc de dépôt sur l'estran) disparaîtrait si l'apport alimentaire est conséquent ... Le processus de mortalité ne semble pas être en lien direct avec le processus de croissance. Ce ne sont pas les huîtres les plus « poussantes » qui meurent en premier quand le processus d'infestation est engagé. Par contre un phénomène d'affaiblissement (arrêt de croissance) en lien avec une infestation conjointe par le virus OsHV-1 et des bactéries du groupe *Vibrio splendidus* est bien observé à la fois sur des lots de naissains qui subissent un épisode de mortalité, et pour d'autres qui ne subissent pas de mortalité. Chez les huîtres survivantes des bacs d'élevage ayant subi un épisode infectieux avec une forte mortalité, la charge virale peut atteindre 10^6 , 10^7 copies/mg de chair. Chez les huîtres qui ne présentent pas ou peu de mortalité, la charge virale observée augmente jusqu'à des valeurs d'environ $5 \cdot 10^3$ copie par mg. Un ralentissement de croissance est également visible, mais la mortalité reste faible. On peut penser qu'il existe une interaction entre le virus OsHV-1 et *V. splendidus*, car quand la concentration du premier décroît très fortement au bout d'un mois d'élevage, la charge en *vibrio* augmente, à la fois pour les plaques (lots) ayant subi ou pas des épisodes de mortalité.

Mots-clés

Mortalité, naissain, huître creuse, *Crassostrea gigas*, pertuis charentais, pratiques culturelles

Sommaire

INTRODUCTION	7
OBSERVATIONS SUR LES MORTALITES DE NAISSAIN DE CAPTAGE SAUVAGE DANS LE SUD DU BASSIN DE MARENNES OLERON, EN SEUDRE (2009)	8
Résultats	8
Hypothèses	8
Conclusion.....	10
RECHERCHE DES PARAMETRES ENVIRONNEMENTAUX PERMETTANT UN GAIN DE SURVIE DU NAISSAIN AU COURS DE L'ELEVAGE.	11
I - TEST ZOOTECHNIQUE SUR ESTRAN (2010).....	11
Introduction	11
Matériel et méthodes	11
Résultats	12
Mortalité cumulée	12
Cinétique de mortalité	13
Taux de mortalité journalier et température	15
Croissance comparée.....	17
Environnement comparé selon les altitudes d'élevage.....	18
Discussion.....	18
Conclusion.....	21
RECHERCHE DES PARAMETRES ENVIRONNEMENTAUX PERMETTANT UN GAIN DE SURVIE DU NAISSAIN AU COURS DE L'ELEVAGE.	23
II - EFFET DE L'EMERSION ET DE LA REDUCTION DE L'APPORT ALIMENTAIRE EN ECLOSERIE EXPERIMENTALE (2011).....	23
Introduction	23
Matériel et méthode.....	23
Matériel biologique, structure d'élevage et plan d'expérience.....	23
Paramètres mesurés	26

Analyses statistiques.....	27
Résultats	27
Mortalité, cinétique et intensité	27
Croissance	31
Croissance et mortalité	33
Mortalité et présence d'organismes pathogènes : virus et vibrios.....	34
Discussion	39
Conclusion.....	41
TESTS ZOOTECHNIQUES.....	44
Essais de stress thermiques en vue d'améliorer la qualité initiale du naissain avant sa mise en élevage.....	44
Introduction	44
Matériel et méthode.....	44
Résultats	45
Essais d'élevage en « association ».....	46
Introduction	46
Matériel et méthodes	46
Résultats	47
Conclusion.....	48
DISCUSSION / CONCLUSION	49
Mortalités et conditions d'élevage.....	49
Synthèse.....	53
REFERENCES	56
LISTES DES FIGURES ET TABLEAUX.....	57
ANNEXE.....	60

Introduction

Depuis 2008, des mortalités exceptionnelles de naissains d'huîtres creuses (*Crassostrea gigas*), de l'ordre de 60 – 80 % touchent l'ensemble des écosystèmes conchylicoles français, dont les pertuis charentais, mettant en difficulté la profession ostréicole. Cette mortalité est principalement liée à un virus herpès (OsHV-1 variant μ var). Si, pour sortir de la crise, la recherche s'est engagée en sélection génétique d'huîtres résistantes, les pratiques culturales constituent également une voie d'investigation pour la recherche de solutions à ces mortalités. Ce rapport reprend un certain nombre de résultats obtenus par l'Ifremer - LERPC dans le cadre du Contrat de projets Etat-Région Poitou-Charentes.

Depuis 2009, l'herpès virus OsHV-1 est retrouvé dans plus de 90% des échantillons analysés (Cochennec-Laureau, Baud, 2011). En 2010, herpès virus OsHV-1 microvar (génotype variant μ var) dont la fréquence de détection et les charges virales associées augmentent considérablement dans le naissain avant les épisodes de mortalités apparaît bien comme la première cause de cette maladie infectieuse et de l'épidémie qui sévit (EFSA Journal 2010;8 (11):1894 ; Cochennec et al., 2011). Dans ce contexte épidémique d'origine virale, les pistes de sortie de crise concernent d'abord la sélection génétique (Dégremont, 2011) et dans une moindre mesure les pratiques culturales (Soletchnik et al., 2011). Les travaux présentés dans ce rapport s'inscrivent dans ce deuxième axe de recherche.

Ce rapport sur les surmortalités de naissains d'huîtres creuses *Crassostrea gigas* dans le bassin de Marennes Oléron présente d'abord des « Observations sur les mortalités de naissain de captage sauvage » réalisées en 2009, dans le sud du bassin de Marennes Oléron (à l'embouchure de la Seudre). Les observations de survie, très contrastées, selon l'altitude des naissains et indépendamment de toutes pratiques culturales (captage sauvage) ont conduit à effectuer en 2010, une première investigation : « Recherche des paramètres environnementaux permettant un gain de survie du naissain au cours de l'élevage. I - Test zootechnique sur estran » qui constitue la première partie de ce rapport. Faisant suite à ce travail, l'étude de 2011 teste l'effet de ces paramètres environnementaux en éclosion expérimentale : « Recherche des paramètres environnementaux permettant un gain de survie du naissain au cours de l'élevage. II - Effet de l'émersion et de la réduction de l'apport alimentaire en éclosion expérimentale ». La même année des tests sont effectués sur des traitements thermiques de naissain : « Essais de stress thermiques en vue d'améliorer la qualité initiale du naissain avant sa mise en élevage ».

Observations sur les mortalités de naissain de captage sauvage dans le sud du bassin de Marennes Oléron, en Seudre (2009)

Résultats

En 2009, le naissain de captage « sauvage » capté en embouchure de Seudre présente une mortalité comprise entre 10% et 90% selon son niveau bathymétrique de fixation, entre une cote à 3m et 0,5m d'altitude, indépendamment de toute pratique culturale (Figure 1).

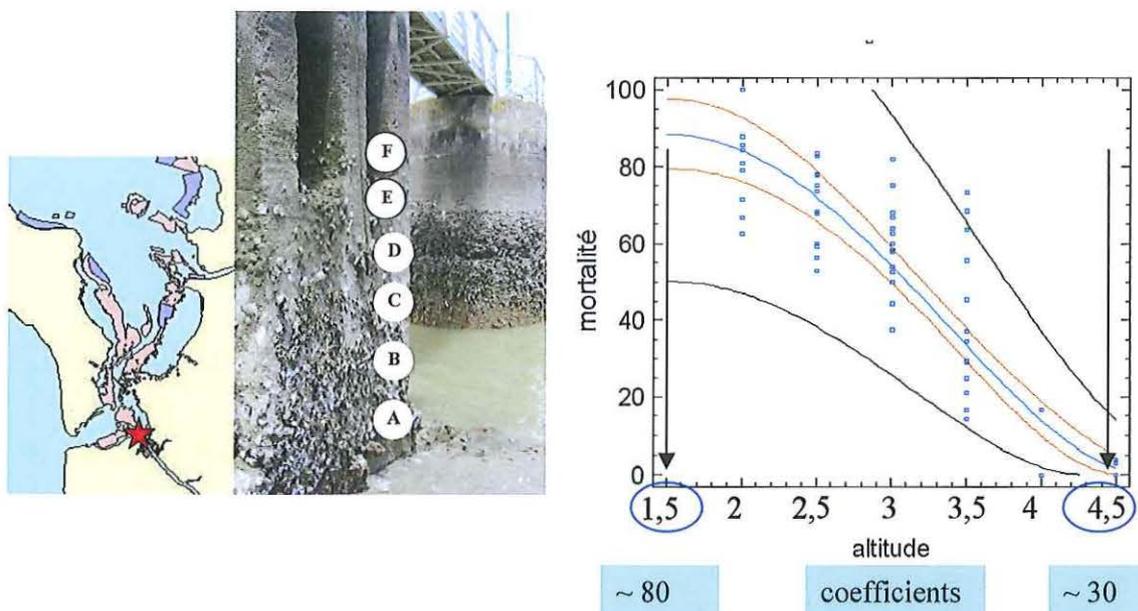


Figure 1. Sites de mesures de la mortalité de naissains sauvages sur le site de la cale de la Tremblade en Seudre (2009) entre 1,5 m d'altitude (A) et 4,5 m (F).

Selon l'altitude de fixation et indépendamment de toute pratique culturale (naissain « sauvage »), la survie peut s'échelonner entre 90% et 10%.

Hypothèses

Le taux de survie d'un lot de naissain mis en élevage va résulter de l'interaction entre ce lot et l'environnement de l'élevage. La bonne survie obtenue à des fortes altitudes (correspondant à des coefficients de parcs de dépôts), peut – être due à une conjonction de qualité de naissain et d'environnement. La qualité du naissain (ou statuts : sanitaire, génétique, physiologique, etc ...) ainsi que la qualité de l'environnement d'élevage (ou de croissance) sont passés en revue dans un document de synthèse sur les pratiques culturales (Soletchnik et al., 2011).

Plusieurs hypothèses sont émises pour discuter du contraste de survie. Elles concernent tout à fois la sélection précoce et l'adaptation physiologique qui se manifesterait à des stades

« précoces » après la fixation, et un ensemble d'hypothèses en lien avec la profondeur d'élevage (accès différentiel à la ressource alimentaire, différence dans le risque de contamination, inhibition thermique, etc ...) (Figure 2) :

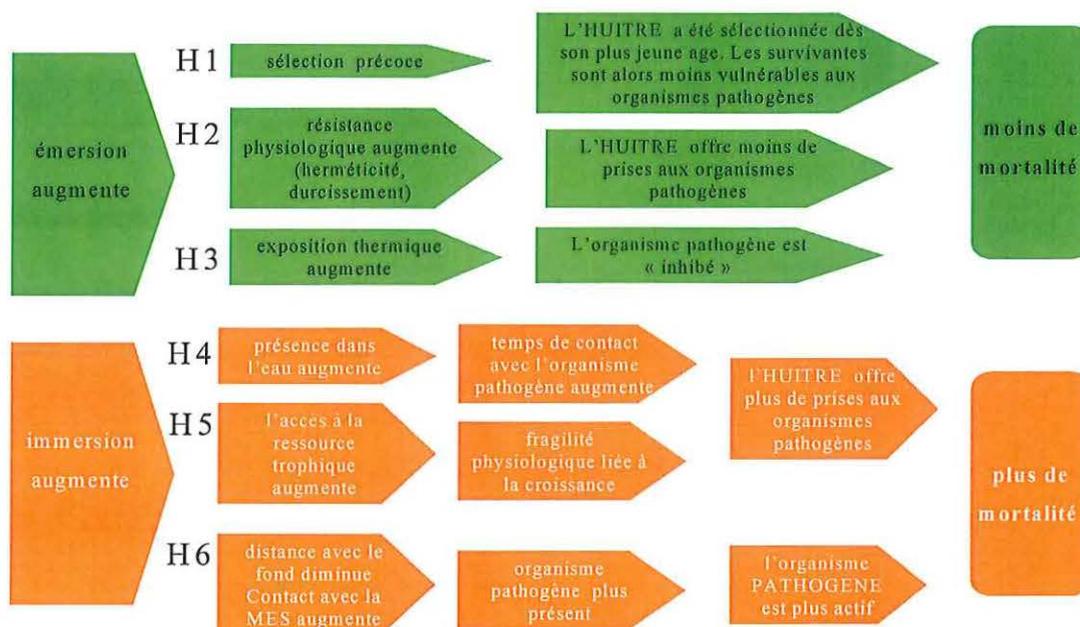


Figure 2. Hypothèses concernant l'amélioration de la survie du naissain lorsque l'émersion augmente au cours de l'élevage (et inversement).

Les hypothèses développées sont :

➤ **Moins de mortalité car plus d'émersion** (Figure 2, fond vert)

Hypothèse 1 : une sélection précoce liée aux conditions de survie plus difficiles sur les sites plus élevés sur l'estran, s'opère durant les premiers mois de fixation ; seules les huîtres les plus résistantes sont en place quand survient le virus. *Cette sélection est probable et expliquerait une partie de la différence de mortalité du naissain selon l'altitude.*

Hypothèse 2 : la résistance physiologique des huîtres augmente sur les hauts d'estran. *D'une façon plus générale, des techniques de « durcissement » de naissain, pratiquées en France et dans le monde (Corée, Japon, ...), permette d'améliorer la survie du naissain.*

Hypothèse 3 : l'exposition à de plus fortes températures sur les hauts d'estran, inhibe l'activité du virus.

➤ **Plus de mortalité car plus d'immersion** (Figure 2, fond orangé)

Hypothèse 4 : Plus le temps de présence de l'huître dans l'eau est important, plus la possibilité d'infection par le virus augmente par une plus grande probabilité de rencontre entre l'hôte et le virus. *Il semble difficile de préciser cette hypothèse sur le terrain.*

Hypothèse 5 : Pour le naissain, la croissance (et la maturation) est directement proportionnelle au temps d'accès à la ressource trophique, et donc à la durée de l'immersion. *La croissance cellulaire (et donc tissulaire) pourrait favoriser et la prolifération du virus.*

Hypothèse 6 : la distance diminuant avec le fond, induit un contact plus étroit entre l'huître et la matière en suspension & relation matière en suspension – substance toxique et (ou) virus. *Cette hypothèse rejoint des résultats (antérieurs à la déclaration de cette épidémie à OsHV-1 μ var) qui montrent que l'intensité de la mortalité augmente d'autant plus que les élevages se rapprochent du sédiment (Soletchnik et al., 2005; Azandegbe Afi, 2010).*

Conclusion

Selon l'altitude de fixation du naissain sauvage d'huîtres, sur une structure verticale en béton, dans l'estuaire de la Seudre, sa survie peut s'échelonner entre 90% et 10%. Ce constat fait en 2009 au cours de la vague d'épidémie qui frappe le naissain dans tout le bassin de Marennes Oléron, est observé à nouveau en 2010. Plusieurs hypothèses sont formulées pour tenter de comprendre ces résultats et relèvent de la sélection précoce, la résistance physiologique, l'exposition à de plus fortes températures, le temps de présence l'eau (contamination et ressource trophique), et la relation avec le sédiment du fond... Ces observations conduisent à travailler en 2010 et 2011 sur les facteurs de l'environnement susceptibles d'améliorer la survie des naissains.

Recherche des paramètres environnementaux permettant un gain de survie du naissain au cours de l'élevage.

I - Test zootechnique sur estran (2010)

Introduction

Les résultats issus d'observations faites à partir du naissain sauvage, en un même lieu, et indépendamment de toutes pratiques culturales, permettent d'émettre des hypothèses sur les effets (directs ou indirects) de l'émersion sur la survie (Figure 2). En 2010, l'objectif est d'expérimenter à partir d'un seul naissain de captage (origine Marennes Oléron), et de tenter de reproduire le contraste de survie observé naturellement en Seudre en 2009. La question posée est celle ci :

Peut-on, par des pratiques zootechniques, reproduire les conditions qui permettent naturellement une meilleure survie du naissain ?

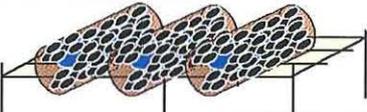
Matériel et méthodes

Le naissain utilisé en 2010 est un naissain de captage naturel d'Arcachon (captage 2009) dont les caractéristiques le 25 mars sont les suivantes : poids moyen 0,9g et détection d'organismes pathogènes : 0,7 % de virus OsHV-1 (1/150) ; 100% de bactéries du groupe *Vibrio splendidus* (150/150) et 0% de *Vibrio aestuarianus* (0/150) (Bedier, 2011).

Des demi poches ostréicoles avec 120 naissains sont mises en élevage à 3 coefficients d'immersion différents (35, 55 et 80) (conditions poche_35, poche_55 et poche_80) correspondant à une condition d'élevage standard à 3 coefficients d'altitudes respectives d'environ 1,5m ; 2,5 m et 3 m. Ces 3 conditions visent à reproduire un gradient d'altitude, comme observé en Seudre en 2009, mais en lien avec les pratiques culturales (Tableau 1). A coefficient 55, 3 autres conditions sont déployées ; (1) des lots d'huîtres sont enveloppés de moules (moules_50) (apport trophique réduit); (2) des paniers sont mis à l'ombre de tuiles creuses (ombre_55) (insolation directe réduite) et (3) des lots de naissains sont collés directement sur des tuiles (expos_55) (pleine exposition). Ces 6 conditions sont mises en élevage sur des tables traditionnelles sur le site d'Agnas au centre du bassin de Marennes Oléron.

Le protocole mis en œuvre sur le site (site historique de surveillance régionale des huîtres depuis 1988) consiste à tester les facteurs émersion, ressource alimentaire, luminosité (en particulier) sur la survie du naissain (Tableau 1). Chaque condition expérimentale est répliquée en 3 lots (triplica). Chaque poche contient 120 naissains. Les échantillonnages ont lieu les 27 avril, 4, 14, 21, 26, 29 mai, 7, 19, 27 juin, 7, 20 juillet, 10 août, 8 septembre et 4 novembre 2010. Les huîtres vivantes et mortes sont comptées pour chacune des poches, à chaque échantillonnage. Les huîtres mortes sont rejetées hors de la poche.

Tableau 1. Conditions expérimentales

Structures		Conditions
	demi-poches traditionnelles contenant le naissain	poche_35 (à coef. 35) poche_55 (à coef. 55) poche_80 (à coef. 80)
	petite poche. naissains enveloppée de moules	moule_55 (à coef. 55)
	petite poche de naissains à l'ombre d'une tuile creuse	ombre_55 (à coef. 55)
	huîtres collées sur tuiles	expos_55 (à coef. 55)

Analyse statistique

Le taux de mortalité (TM) (%) est normalisé par transformation en asin [racine(TM)]. Les analyses de variance et tests non paramétriques de Kruskal Wallis sont réalisés avec le logiciel Statgraphics Centurion XV.II

Résultats

Mortalité cumulée

Au terme de 6 mois d'élevage, les taux de mortalité moyens sont de 44% (poche_35), 64% (poche_55), 66% (poche_80), 53% (ombre_55), 61% (expos_55) et 52% (moule_55) (Figure 3). Les mortalités « extrêmes » entre les poches sont comprises entre 33% (poche_35) et 69-70% (poche_55 ; poche_80 et moule_55).

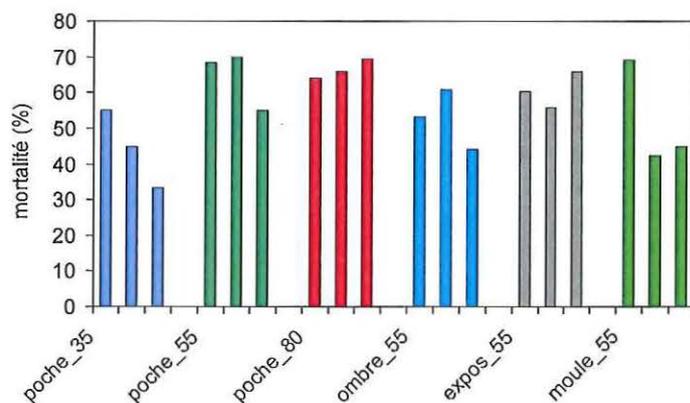
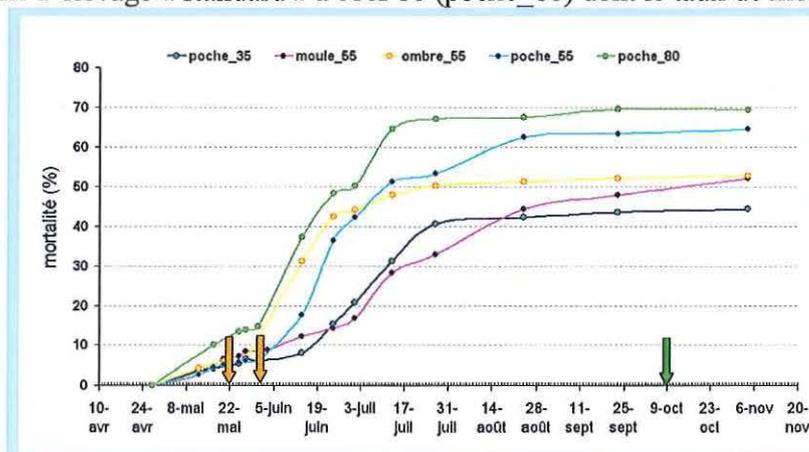


Figure 3. Mortalité comparée des 6 conditions d'élevage (conditions en triplicata).

Au terme de l'expérimentation en début novembre, et après 6 mois d'élevage, seule la condition d'élevage « poche_35 », à 44% de mortalité, se distingue de façon significative ($p < 0,5$) de la condition d'élevage « standard » à coef 80 (poche_80) dont le taux de mortalité



atteint près de 70% (

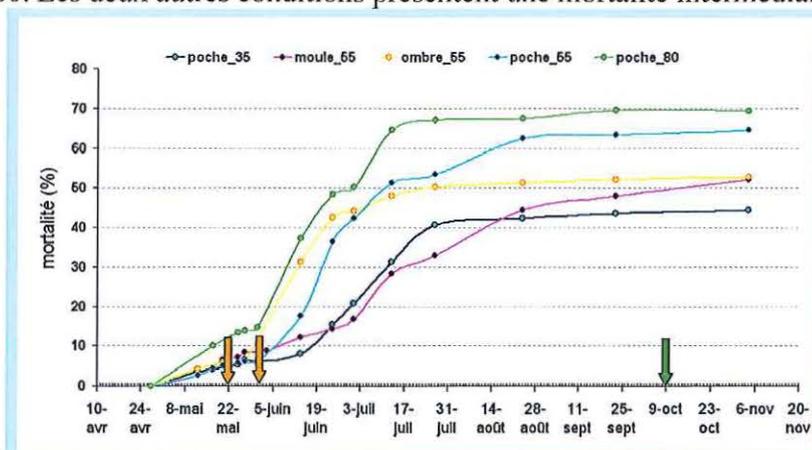
Figure 4). Toutefois, la procédure des différences significatives minimales de Fisher (LSD) montre aussi des différences significatives pour les moyennes suivantes : poche_35 - poche_55 et poche_35 - poche_80.

Dans le cadre de cette expérimentation, seule la condition standard d'élevage à un coefficient de parc de dépôt (coef 35) permet un gain de survie significatif de l'ordre de 20-22% par rapport aux conditions d'élevage standard, plus profondes (coef 55 ou 80). La différence d'altitude sur estran entre 1,5 m et 3m permet ce gain de survie. Ce résultat conforte les observations faites en 2009 sur le captage naturel en Seudre.

En 2008, c'est bien un gain de survie de l'ordre de 25-30% qui était enregistré sur le naissain sauvage en Seudre.

Cinétique de mortalité

Au bout de 2,5 mois d'élevage, la mortalité est d'environ 30% pour les conditions d'élevage à l'altitude des parcs de dépôts (coef. 35) contre 65% pour la condition d'élevage « témoin » à coef. 80. Les deux autres conditions présentent une mortalité intermédiaire de l'ordre de 50-



53% (

Figure 4).

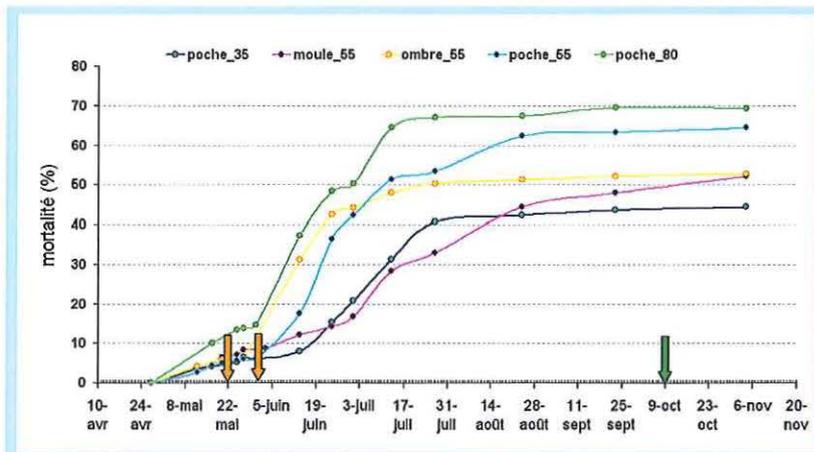


Figure 4. Mortalité cumulée comparée des 5 conditions d'élevage (Tableau 1). Les flèches indiquent la date en 2010 de franchissement du seuil de 16-17°C vers le haut (flèche orange) et vers le bas (flèche verte).

Les cinétiques de mortalité sont différentes selon les conditions, en particulier durant les deux premiers mois, entre deux groupes : (1) poche_35, moule_55 pour lesquels la mortalité évolue plus lentement au cours du printemps-été, et (2) les conditions poche_80, 55 et ombre_55 pour lesquelles la mortalité est plus brutale au cours du printemps essentiellement

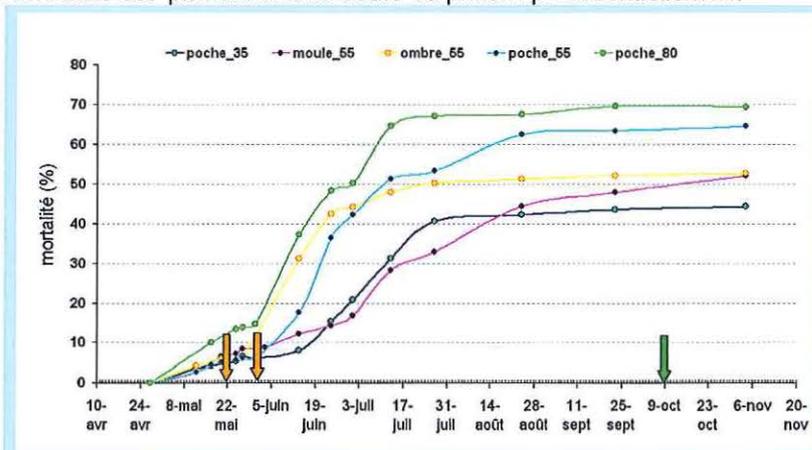


Figure 4).

En début novembre, les huîtres survivantes sont laissées en élevage sur même site d'Agnas, à coefficient 35. Un bilan de survie est effectué entre le 4 novembre 2010 et le 16 juin 2011. Les taux de mortalité de ces lots de « demi élevage » (2^{ème} année sur estran) sont de 3, 5 et 6 % respectivement pour les conditions ombre_55, poche_55 et poche_80. Ils sont par contre de 21% et 35% pour les lots poches_35 et moules_55 pour lesquelles la survie avait été meilleure en 2010.

En juin 2011, au terme de 14 mois d'élevage en poche ostréicole, ces huîtres de 22 mois présentent des taux de mortalité cumulée d'environ 55% pour les conditions : ombre_55 et poche_35, et des niveaux de mortalité de l'ordre de 66-69 % pour les autres conditions. On assiste donc au bout de 2 ans à un « rattrapage » de la mortalité par les lots ayant été préservés

en première année. C'est particulièrement le cas pour le naissain en élevage à coef 35. Les différences de survie, en 2^{ème} année sont au maximum de 10-15 % et ne peuvent être testées sur le plan statistique.

Le niveau moyen de mortalité cumulée est alors de 66-69%, proche du niveau national des observatoires.

Le « gain de survie » obtenu en première année, en particulier pour les lots : poche_35 et moules_55 » est en parti perdu au cours de la deuxième année (période de demi-élevage).

Taux de mortalité journalier et température

Les cinétiques de mortalité différentes selon les conditions d'élevage

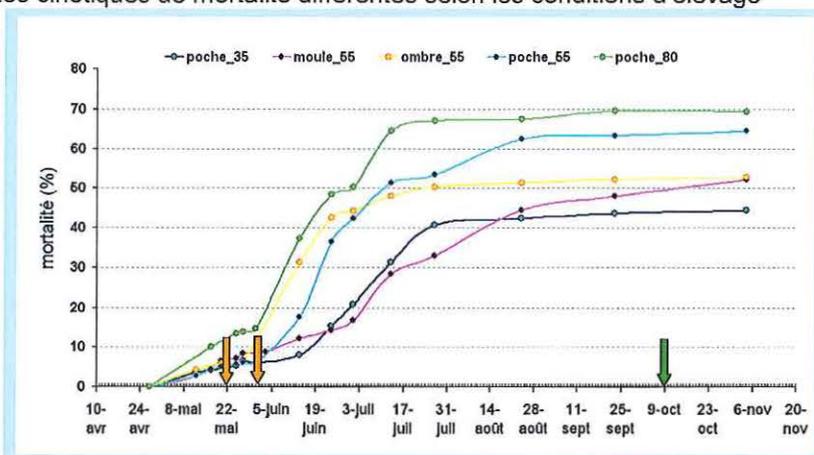


Figure 4), sont détaillées dans ce paragraphe.

Comparaison des 3 coefficients (altitudes) d'élevage

L'évolution des taux de mortalité journalier, centrés sur la période inter-échantillonnages, montre que la mortalité se manifeste en fait en plusieurs vagues au cours du printemps- été (Figure 5) ; La condition poche_80 (la plus immergée) connaît un premier pic de mortalité qui suit immédiatement le franchissement du seuil thermique de 16-17°C en fin mai, et pas les 2 autres conditions. Pour cette même condition poche_80, le deuxième franchissement du seuil de 16-7° s'accompagne d'une deuxième vague de mortalité, parfaitement synchronisée. Les pics de mortalité qui touchent les deux autres conditions : poche_55 et 35 se trouvent décalés, respectivement sur la mi-juin (poche_55) et la mi-juillet (poche_35) (Figure 5).

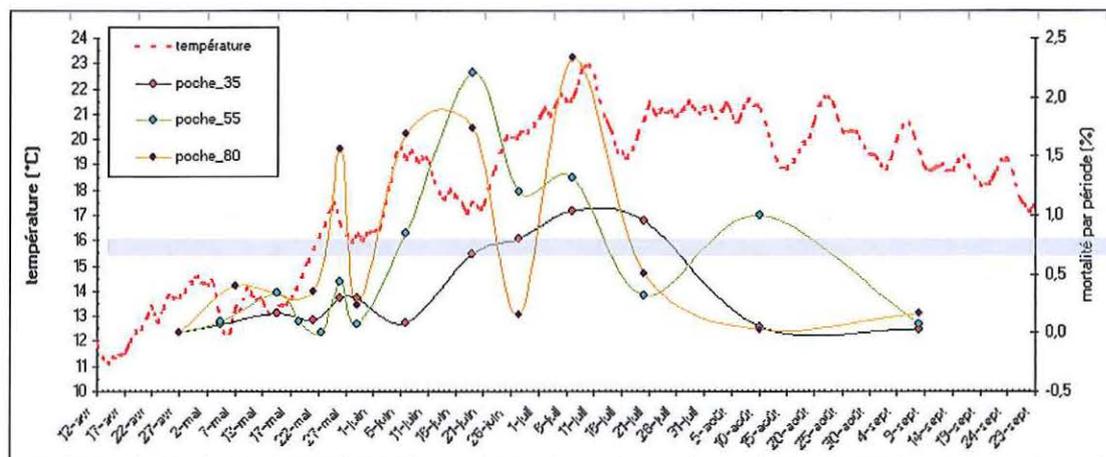


Figure 5. Taux de mortalité journalier des conditions d'élevage : poche_35, 55 et 80 (respectivement aux coefficients de parcs de 35, 55 et 80).

En 2010, les 3 « pics » de mortalité enregistrés à différentes altitudes d'élevage, succèdent bien à 3 phases montantes du cycle de température, à partir du franchissement du seuil thermique de 16-17°C ; les deux premiers pics survenant au cours des périodes de mortes eaux. Les mortalités touchent d'abord les naissains en élevage à coef 80. Elles se décalent ensuite progressivement vers les parcs plus hauts sur estran (coefficient 55, puis 35). L'émersion réduit bien l'impact de l'épidémie sur les naissains.

Comparaison des autres conditions expérimentales

D'un point de vue cinétique, la condition ombre_55 connaît un pic de mortalité aussi précoce que la condition poche_55 (Figure 5, Figure 6).

Réduire l'exposition des naissains à la lumière ne semble pas avoir d'effets sur la survie (ou sur la mortalité).

Les cinétiques de mortalité de poche_35 et moule_55 sont assez similaires, avec pour ces deux conditions un événement principal de mortalité vers la mi-juillet (Figure 6).

L'« enrobage » des huîtres par une population de moules, à coeff 50 ralentit considérablement la cinétique de mortalité sur le site à coeff 55.

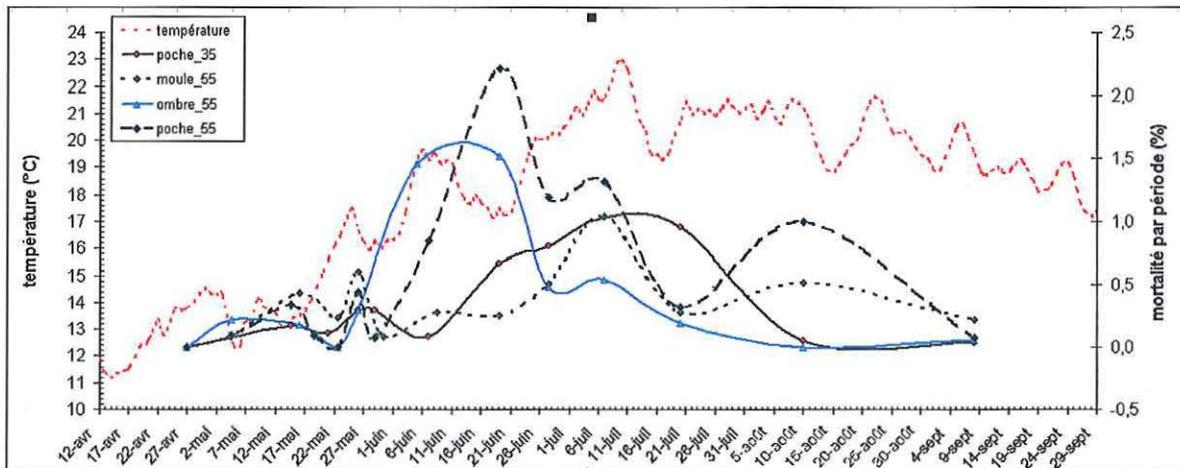


Figure 6. Taux de mortalité journalier des conditions d'élevage : poche_35, moule_55 et ombre_55 (dont la référence correspond au coefficient de parc).

L'effet de déplétion trophique induit par les moules sur le site à coeff 55 est du même ordre de grandeur, vis à vis de la cinétique de mortalité, que la réduction d'impact du virus (entre autres) sur les huîtres dans des conditions d'émersion quotidienne et plus prolongée sur le site à coeff 35 (par rapport aux autres sites à coeff 55 et 80).

Croissance comparée

En début novembre, au terme de 6 mois d'élevage, les poids moyens sont de 1,5g (moule_55), 13,3g (poche_35), 16,1 g (ombre_55), 20,8g (poche_55), 26,7g (poche_80) et 31g (expos_55) (Figure 7). Toutes les conditions sont différentes entre elles (niveau de probabilité de 1%), sauf pour ombre_55 et poche_35 qui forment un groupe homogène (Figure 7).

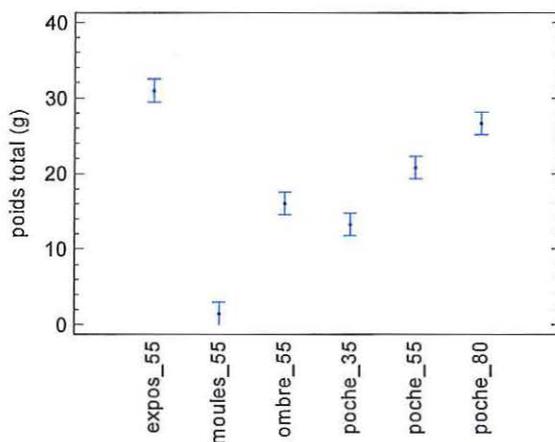


Figure 7. Croissance comparée des différentes conditions de naissain

Au bout de 6 mois d'élevage, la survie est bien améliorée pour certaines conditions (moule_55, coef.35), mais la croissance, réduite, peut gêner le rendement de l'élevage. Deux conditions : moule_55 et poche_35, avec des profils de mortalité très proches, montrent une forte différence de croissance (respectivement 1,5g et 13g).

Environnement comparé selon les altitudes d'élevage

Les différences de conditions d'émersion selon les 3 conditions sont à la fois qualitatives et quantitatives ; d'un point de vu qualitatif, seul le site « haut » sur estran (coef 35 correspondant à une altitude de parc de dépôt), connaît une émersion et immersion quotidienne (Figure 8). Dans les autres conditions, des plages de plusieurs jours, en périodes de mortes eaux, correspondent à des périodes pendant lesquelles les huîtres sont immergées en permanence.

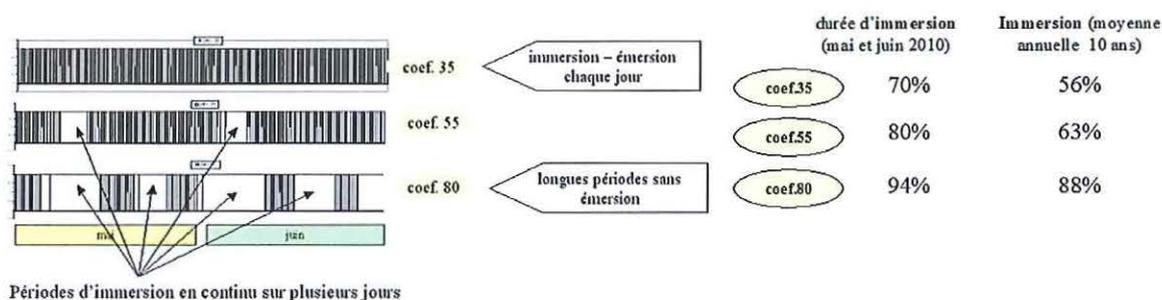


Figure 8. Alternance d'immersion et émersion pour les conditions poches_35, 55 et 80 (gauche) et durée d'immersion comparée (droite)

Au cours du printemps 2010 (période pendant laquelle l'épidémie survient), les durées d'immersion sont respectivement de 70%, 80% et 94% pour les conditions d'élevage à coefficients 35, 55 et 80 (poche_35, 55 et 80).

Les différences liées à l'immersion, sur les 3 sites d'élevage, sont à la fois quantitatives (70% à 94% d'immersion) et qualitative ; Sur le site à coefficient 35 (poche_35), les naissains émergent 2 fois par 24 heures et tous les jours. Aux autres coefficients d'élevage (poche_55 et 80), les naissains peuvent passer plusieurs jours en immersion totale.

Discussion

Les hypothèses liminaires issues des observations de mortalité sur le captage naturel en 2009 en Seudre, présentées en introduction sont les suivantes :

Hypothèses

- Hypothèse 1 La sélection précoce plus importante sur les sites « hauts »
- Hypothèse 2 Durcissement sur les hauts d'estran
- Hypothèse 3 Les plus fortes températures inhibent l'effet du virus

Hypothèse 4	Le risque de contamination ou d'infection de l'huître augmente avec son temps de résidence dans l'eau.
Hypothèse 5	Durée d'immersion, disponibilité alimentaire, croissance et risque d'infestation sont liés
Hypothèse 6	Plus la distance avec le fond augmente, plus le risque d'infestation diminue

Etat des hypothèses d'après cette étude

Hypothèse 1	Non testée dans cette étude
Hypothèse 2	Peu probable en si peu de temps entre le placement sur estran et le début de l'épidémie (~15 jours)
Hypothèse 3	Pas mis en évidence par la condition expos_55 (effet contraire même) ; par contre effet exposition aux plus fortes températures de l'air sur le site 35 / 55 / 80 → reste une hypothèse faible
Hypothèse 4	Hypothèse forte qui prévaut à l'issue de cette expérimentation
Hypothèse 5	Pas de lien entre mortalité et croissance → hypothèse peu probable
Hypothèse 6	Peu probable en comparant résultats 2009 (naissain sauvage) et 2010 (manip Agnas)

Deux facteurs se trouvent corrélés, en lien avec l'émersion, et pouvant interagir dans le phénomène de surmortalité : la diminution d'accès à la ressource trophique et la réduction de la capacité de propagation du virus lors de l'émersion. Comme il n'y a pas de différence significative de survie entre la condition moule_55 et poche_55, malgré une très forte différence de croissance (et donc implicitement d'accès la ressource trophique), on peut penser que la ressource alimentaire n'est pas le principal facteur associé à l'infection ; L'hypothèse 5 est donc peu probable. On note également que les moules associées à la condition : « moule_55 » n'ont pas présenté de mortalité remarquable. L'espèce : *Mytilus edulis* ne semblent pas affectée par l'infection virale qui a sévit.

Les observations relatives à l'hypothèse H6 qui invalident l'augmentation du risque associé au virus en proximité du fond sont en phase avec les observations réalisées sur ce même site dans le cadre d'une autre étude (CIDAGINF, Saulnier *et al.*, 2011). Au cours de ce travail basé sur un suivi cinétique des agents infectieux, il a pu être montré que de l'ADN viral était détecté dans l'eau de mer et pas de les échantillons de sédiment sous les tables ostréicoles.

Conditions environnementales favorables aux mortalités provoquées par le virus OsHV-1. Eléments d'épidémiologie autour de l'hypothèse 4

Sur estran, le franchissement du seuil de 16-17°C en période de mortes eaux correspond en fait à une situation de risque épidémique majeur pour trois raisons principales :

- (1) Les huîtres (et le naissain en particulier) restent en immersion durant des périodes longues (plusieurs jours de suite)
- (2) L'hydrodynamisme, et en particulier les taux de renouvellement de l'eau, sont alors faibles dans le bassin de Marennes Oléron (Struski, 2005).
- (3) les périodes de mortes eaux, correspondent à des périodes de réchauffement de l'eau de mer³. Inversement, les vives eaux, qui font entrer dans les pertuis, à la période printanière, une eau de mer plus fraîche, en provenance du plateau continental, refroidissent l'eau du bassin donnant ainsi la forme chaotique propre aux courbes thermiques de l'eau de mer en cette saison (Figure 6).

³ Par effet direct du rayonnement sur l'eau dans les pertuis où l'eau circule moins, mais également grâce à la restitution calorifique des vasières à marée montante.

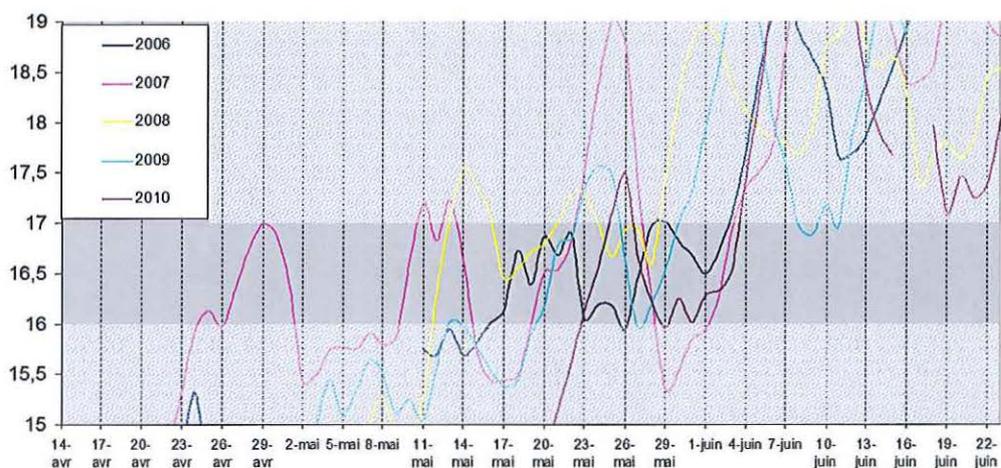


Figure 9. Exemple de cycles thermiques printaniers entre 2006 et 2010 sur le site d'Agnas dans le bassin de Marennes Oléron. *Le signal « en clair » est celui du franchissement du seuil thermique de 16-17°C au delà duquel la période épidémique touchant le naissain d'huîtres, commence.*

Ces deux premiers éléments (au moins) sont favorables à la propagation de l'épidémie ; l'importance du troisième reste à démontrer.

En période de vives eaux, à l'inverse, c'est à la fois l'alternance d'émersion et d'immersion sur les sites d'élevage, 2 fois par jour, et l'effet de chasse important qui ralentirait l'épidémie et de fait, la propagation et l'importance des mortalités.

Situation en 2010

Le cycle thermique de l'année 2010 (Figure 10) suit bien la tendance perçue (Figure 9). En fin de printemps et durant l'été 2010, les périodes de mortes eaux (faibles valeurs de coefficients de marée) sont également associées à un réchauffement de la masse d'eau, et les vives eaux à un refroidissement (Figure 10).

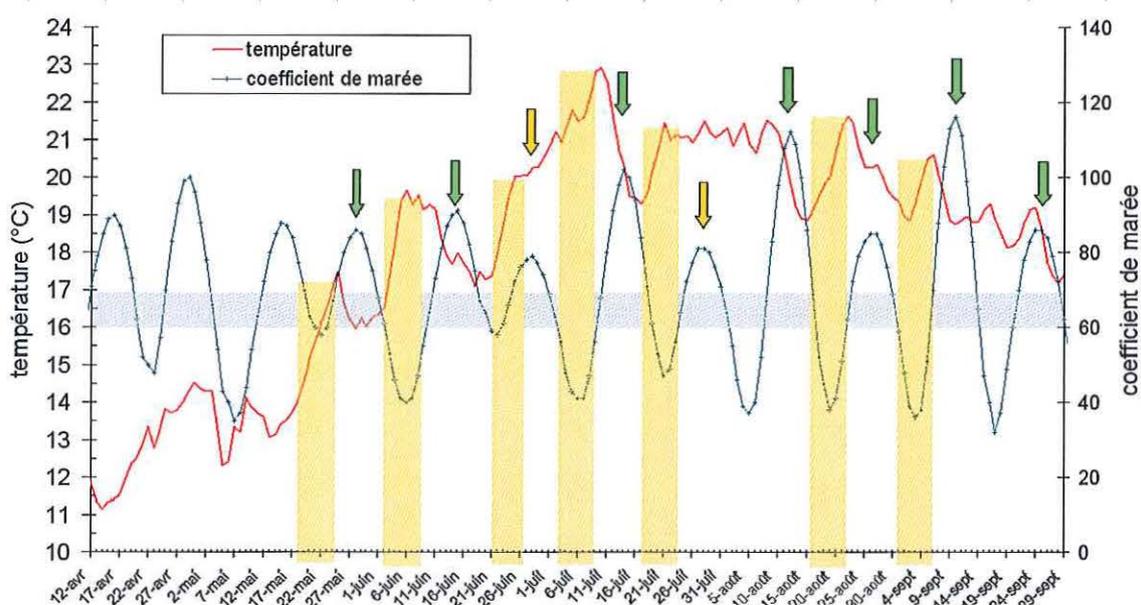


Figure 10. Relation entre cycle thermique et marégramme dans le bassin de Marennes Oléron. Les histogrammes orange représentent les périodes de hausses thermiques, et les flèches, les périodes de vives eaux.

Conclusion

Les pratiques zootechniques (culturelles ou d'élevage), expérimentées en 2010, peuvent permettre un gain de survie relativement modeste, sans commune mesure avec les écarts de survie de l'ordre de 80%, observés en Seudre, sur le captage naturel, en 2009. *Les raisons à avancer sont les suivantes : (1) L'altitude la plus élevée dans cette expérimentation était à coeff 35 (3,5m), alors que les meilleurs résultats de survie du captage naturel était obtenus à une altitude de plus de 4m en 2009 ; (2) les hypothèses 1 et 2, en lien une sélection précoce plus importante sur les sites « hauts » ou un durcissement sur les hauts d'estran ne sont pas pris en compte dans cette expérimentation.*

Une expérimentation est menée en 2010 sur estran, visant à préciser un certain nombre d'hypothèses concernant la meilleure survie du naissain d'huître à plus haute altitude. Les facteurs pris en compte sont : (1) l'altitude des parcs (coef. 35, 55 et 80) et, à une altitude moyenne (coef. 55), (2) l'exposition (ombre ou exposition max) et (3) l'effet de la déplétion, par enrobage des naissains par des moules.

Dans le cadre de cette expérimentation, seule la condition standard d'élevage à un coefficient de parc de dépôt (coef 35) permet un gain de survie significatif de l'ordre de 20-22% par rapport aux conditions d'élevage standard, plus profondes (coef 55 ou 80). La différence d'altitude sur estran entre 1,5 m et 3m permet ce gain de survie. Toutefois, ce « gain de survie » acquis en première année, en particulier pour les lots : poche_35 et moules_55 » est en parti perdu au cours de la deuxième année (période de demi-élevage). Réduire l'exposition des naissains à la lumière ne semble pas avoir d'effets sur la survie (ou sur la mortalité).

Sur le plan de la cinétique de mortalité, les 3 « pics » de mortalité enregistrés à différentes altitudes d'élevage, succèdent bien à 3 phases montantes du cycle de température, à partir du franchissement du seuil thermique de 16-17°C ; les deux premiers pics surviennent au cours des

périodes de mortes eaux. Les mortalités touchent d'abord les naissains en élevage à coef 80. Les mortalités se décalent ensuite progressivement vers les parcs plus hauts sur estran (coefficient 55, puis 35). Les différences liées à l'immersion, sur les 3 sites d'élevage, sont à la fois quantitatives (70% à 94% d'immersion) et qualitative. Sur le site à coefficient 35 (poche_35), les naissains émergent 2 fois par 24 heures et tous les jours. Aux autres coefficients d'élevage (poche_55 et 80), les naissains peuvent passer plusieurs jours en immersion totale. L'émersion réduit bien l'impact de l'épidémie sur les naissains.

L'effet de déplétion trophique induit par les moules sur le site à coeff 55 est du même ordre de grandeur, vis à vis de la cinétique de mortalité, que la réduction d'impact du virus (entre autres agents pathogènes) sur les huîtres dans des conditions d'émersion quotidienne et plus prolongée sur le site à coeff 35 (par rapport aux autres sites à coeff 55 et 80). Deux conditions : moule_55 et poche_35, avec des profils de mortalité très proches, montrent une forte différence de croissance (respectivement 1,5g et 13g).

Les perspectives dans ces études relèvent tout à la fois de la nécessité de comprendre comment se déclenchent les mortalités dans cette interaction complexe entre l'huître, l'environnement et le virus, mais aussi de chercher si des améliorations peuvent être proposées aux niveaux des pratiques culturelles.

Tester l'élevage encore plus haut sur estran pourrait permettre de gagner encore en première année sur la survie. Mais cette pratique comporte un vrai danger vis à vis du rendement biologique et économique.

Parmi les hypothèses testées (3,4,5 et 6), l'hypothèse 4, concernant le risque de contamination ou d'infection du naissain qui augmente avec son temps de résidence dans l'eau, semble bien la plus valide au regard de cette expérimentation.

De futures expérimentations pourraient être envisagées, en milieu contrôlé, pour mieux comprendre comment émersion et gain de survie sont liés. Une des questions qui se pose est bien de savoir si l'émersion agit en réduisant la capacité de contamination ou l'accès à la ressource trophique (lien avec la croissance).

Essayer de mieux comprendre la contribution de l'alimentation en lien avec l'isolement hydrodynamique : la croissance favorise-t-elle vraiment la contamination (et donc la mortalité) ? Comment interagissent isolement hydrodynamique et accès à la ressource alimentaire vis à vis de la mortalité du naissain, reste une question posée à l'issue de cette étude de terrain ?

Recherche des paramètres environnementaux permettant un gain de survie du naissain au cours de l'élevage.

II - Effet de l'émersion et de la réduction de l'apport alimentaire en éclosérie expérimentale (2011)

Introduction

Des observations menées en 2009, 2010 ont montrées qu'indépendamment de toutes pratiques culturales, la mortalité pouvait apparaître très contrastée (10 à 90%) entre les altitudes limites de captage de naissain sauvage, dans la zone intertidale (environ 1,5 m et 4,5 m) dans le sud du bassin de Marennes Oléron (site en Seudre) (Figure 1). A partir de ces observations, une expérimentation est conduite en 2010 pour tester les hypothèses sous jacentes à ces résultats (Figure 2). Son objectif était de voir si des conditions d'élevage spécifiques pouvaient être mises en œuvre pour reproduire ces résultats. A l'issue de cette expérimentation 2010 (chapitre précédent), il est montré que l'isolement hydrodynamique⁴ (Figure 2, hypothèse 4) semble bien être le facteur prévalant, permettant un gain de survie du naissain dans sa première année⁵. Plusieurs facteurs seuls ou en interaction peuvent être mis en cause pour expliquer un tel résultat : l'émersion quotidienne, la réduction de la ressource alimentaire, la diminution de l'impact potentiel du virus sur les cheptels, la diminution de la croissance.

En 2011, le but de l'étude mise en œuvre est donc bien de tenter de dissocier les effets de la ressource alimentaire et de l'émersion sur le processus infectieux et les mortalités qui en découlent.

Matériel et méthode

Matériel biologique, structure d'élevage et plan d'expérience

Le matériel biologique est constitué par du naissain de captage naturel (2010) issu du banc de la Mouclière (estuaire externe de la Charente dans le bassin de Marennes Oléron⁶). Le poids moyen du naissain est de 0,39g en début de manip le 21 avril 2011. La mortalité du lot est de 10% à cette date. Son état sanitaire en début avril montre une fréquence de détection d'OsHV-1 de 86% (analyse Ifremer – Repamo).

⁴ L'isolement hydrodynamique est en fait une variable « composée » qui intègre tout à la fois l'émersion (qui isole l'huître de l'eau) et les mouvements d'eau (hydrodynamique) propices à la propagation du virus dans l'eau (transmission horizontale du virus, démontrée tout à la fois en laboratoire, puis sur des sites d'élevage (claires ostréicoles, estran).

⁵ Toutefois, les moins bonnes conditions de survie en 2^{ème} année, pour ces lots relativement épargnés en première année, semble constituer aujourd'hui une limite à cette proposition zootechnique ; un deuxième inconvénient pourrait être celui du rendement des lots (croissance plus limitée sur les parcs hauts)

⁶ Ce naissain détroqué de tubes en début avril est placé en mer une dizaine de jour sur le site d'Agnas à coef 35 pour laisser passer la première vague de chaleur 2011 qui fait monter la température de l'eau de mer au delà des 16-17°C (fenêtre à risque ouverte)

La structure unitaire d'élevage est constituée d'une plaque PVC de 43 x 32 cm, placée dans un bac (60 x 40 x 30 cm) avec 40 litres de volume utile, et sur laquelle sont collés⁷ 150 à 160 naissains (Figure 11). Les débits sont de l'ordre de 80 l/heure.



Figure 11. Structure expérimentale

L'expérimentation est conduite entre le 22 avril et le 15 juin 2011 en éclosérie expérimentale de l'Ifremer La Tremblade.

Les conditions expérimentales :

L'alimentation⁸ en eau de mer est effectuée à partir de bassins extérieurs (condition SA) et à partir de cette même eau de mer avec un apport d'algues complémentaire (condition AA).

Une série de 17 échantillonnages d'eau de mer, réalisée entre le 22 avril et le 6 juin, donne des valeurs moyennes de matière organiques particulaire (MOP) de 2,35 et 4,19 mg/L, respectivement pour les conditions SA et AA. En fait, la condition d'alimentation « renforcée » de l'éclosérie est plus proche des valeurs de 8-9 mg/L comme le montre les pics de la Figure 12.

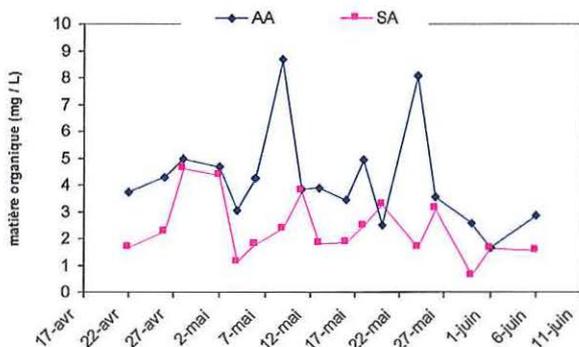


Figure 12. Ressource alimentaire comparée par la matière organique en suspension entre les deux conditions AA et SA des élevages

⁷ Les huîtres sont collées une à une sur des plaques en PVC (43 x 32cm) avec une colle « marine » mono composant (environ 150 huîtres par plaque).

⁸ L'eau de mer pompée au sud du bassin de Marennes Oléron, transite par des bassins de décantation de 300 m³ d'où elle est pompée vers les structures d'élevage. La production d'algues pour l'éclosérie résulte d'une production d'algue fourrage (*Skeletonema costatum*) en extérieur et d'un complément de diverses algues produites en salle d'algues.

Pour l'expérience, deux vannes électroniques sont ajoutées au réseau hydraulique de la structure expérimentale pour permettre d'exonder les huîtres deux fois par jour en reproduisant deux marées basses quotidiennes (immersion I. 50). Quatre autres bacs fonctionnent comme le reste de l'écloserie en immersion permanente (immersion I. 100) Deux sondes salinité (modèle TPS - NKE) sont immergées dans deux bacs de conditions I.50 et I.100 durant toute la durée de l'expérimentation pour contrôler l'immersion et l'émergence (Figure 13).

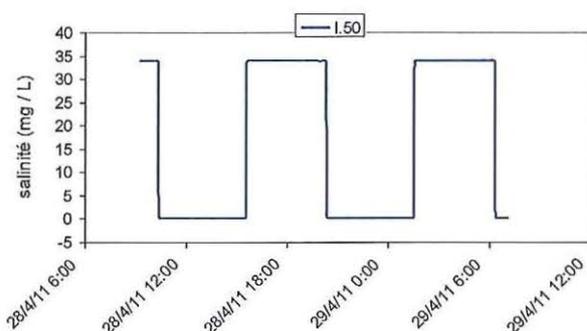


Figure 13. Exemple de signal de salinité dans un bac à immersion 50% (I.50). Deux marées basses sont simulées chaque jour.

Le plan d'expérience est ainsi constitué de 4 conditions expérimentales : la condition 1 (C1) de faible apport alimentaire (SA) et à immersion à 50% du temps (I.50), C2 de faible apport alimentaire (SA) et d'immersion 100% (I.100), C3 avec un apport complémentaire en algues standard à l'écloserie (AA) et I.50 et la condition C4 : AA et I.100 (Figure 14). Chaque condition expérimentale comprend un triplicata de bacs et de sous populations d'huîtres. Une 4^{ème} plaque sert pour le prélèvement des huîtres au cours de l'expérimentation. 9 prélèvements de 15 huîtres par condition sont effectués les 21, 26, 28 avril, 2, 9, 19 mai et 9, 14 juin à des fins d'analyse des organismes pathogènes⁹ : virus OsHV-1, *Vibrio splendidus* et *V. aestuarianus*.

bacs (B) ou plaques (P)	16	12	8	4
	15	11	7	3
	14	10	6	2
	13	9	5	1
conditions	C4 AA x I.100	C3 AA x I.50	C2 SA x I.100	C1 SA x I.50

Figure 14. Quatre conditions expérimentales avec référence des bacs (B) ou des plaques (P), de 1 à 16 pour les 4 conditions

La température est enregistrée par des sondes TPS - NKE dans un bac de chaque condition expérimentale. La ressource alimentaire est mesurée en entrée de bac pour les deux conditions d'élevage (AA et SA). Des prélèvements de matière organique en suspension sont effectués

⁹ Analyses réalisées par le laboratoire LDV-34 de l'Hérault.

par filtration (1 litre) sur filtres GFF, les 22, 26, 28 avril, 2, 4, 6, 9, 11, 13, 16, 18, 25, 29, 31 mai et le 5 juin.

L'expérimentation a lieu dans la salle de quarantaine de l'écloserie expérimentale de la Tremblade, eau de mer d'entrée non traitée aux UV.

Paramètres mesurés

Mortalité et croissance

La mortalité est relevée tous les deux jours en identifiant sur les plaques les huîtres mortes qui sont ensuite éliminées de la plaque (Figure 15). Le contrôle de la survie est effectué environ tous les deux jours. La mortalité est ainsi spatialisée chronologiquement (Figure 16). Dans cet exemple, on constate un pic « épidémique » entre le 28 avril et le 2 mai 2011.



Figure 15. Plaque expérimentale avec huîtres survivantes.

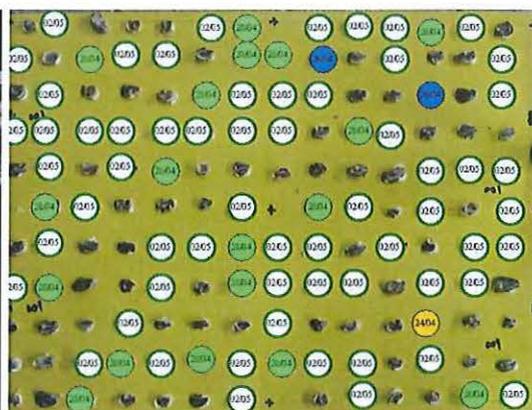


Figure 16. spatialisation et chronologie des mortalités de naissain (date mort supposée)

De manière originale, pour mesurer la croissance dans cette étude, des photographies numériques sont effectuées 2 fois par semaine pour chacune des plaques. Ces photos sont ensuite traitées sous SIG (ArcMap 9.3) et la croissance est déduite par comparaison des surfaces de chaque individu. (Annexe 1).

Contrôle de l'environnement des élevages

Le suivi de la ressource alimentaire s'effectue par des filtrations régulières en entrée des bacs d'élevage et assurer la qualité de la condition AA (apport alimentaire ++) versus SA (seulement eau de mer). Des sondes contrôlent l'émersion et l'immersion, et donc le bon fonctionnement des vannes hydrauliques et la bonne conduite du protocole. Des sondes thermiques sont également immergées pour les conditions I.50% versus I.100%.

Analyses des organismes pathogènes

Des prélèvements de 12-15 naissains par condition (plaques 1, 5, 9 et 13) sont réalisés les 26 avril, 28 avril, 02 mai, 9 mai, 19 mai et 9 juin sur les 4 conditions expérimentales, pour la recherche des organismes pathogènes : herpès virus OsHV-1, bactéries du groupe *Vibrio splendidus* et *V. aestuarianus* (sous traitance auprès du laboratoire LDV34).

Une recherche d'herpès virus OsHV-1 est également réalisée à partir de la matière organique contenue dans l'eau de mer retenue sur filtres GFF dont le vide de maille est compris entre 0,5 et 0,7 μm .

Analyses statistiques

Les analyses de variances sont effectuées à partir d'un taux de mortalité (TM) normalisé par une transformation en Asin [Racine(TM)] grâce au logiciel Statgraphics Centurion.

Résultats

Mortalité, cinétique et intensité

La mortalité cumulée est calculée par plaque (4 conditions et 3 triplicatas par condition + une 4^{ème} plaque pour l'échantillonnage) est comprise entre 1% et 88% selon les plaques (Figure 17). Les taux de mortalité par plaque sont les suivants : SA-I.50 : (1,3%) ; 0,6% ; 67,7% ; 0,6% ; SA-I.100 : (0,7%) ; 84,6% ; 61,7% ; 68,7% ; AA-I.50 : (54,8%) ; 51,3% ; 58,1% ; 51,7% ; AA-I.100 : (88,2%) ; 67,3% ; 68,4% ; 13,3% (Figure 17).

Ainsi, pour la condition à immersion et alimentation réduite (SA-I.50), la mortalité est quasiment nulle pour 3 plaques sur 4. Pour la condition SA-I.100, seule une plaque « échappe » à l'épidémie (plaque pour prélèvement). Pour condition AA-I.50, les 4 répliquas sont homogènes, et pour la condition AA-I.100, seul 1 répliqua sur 4 présente une faible mortalité¹⁰ (13,3%).

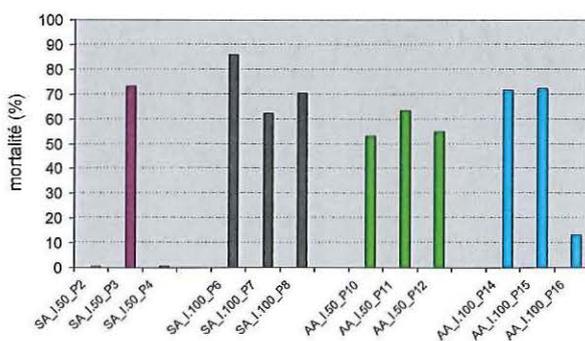


Figure 17. Mortalité cumulée, au terme de l'expérimentation, des différents lots (3 lots par condition : SA_I.50 ; SA_I.100 ; AA_I.50 ; AA_I.100). Bilan réalisé entre le 22 avril et le 15 juin.

Les cinétiques de mortalité à l'échelle de chaque plaque (P) (ou de chaque bac individuel) sont présentés sur les Figure 18 et Figure 19. Elles montrent que la mortalité a lieu durant le premier mois de l'élevage et que les cinétiques sont contrastées selon les conditions expérimentales. Au sein d'une même condition expérimentale, quelques sous population se distinguent : la SA_I.50_P3 et la AA_I.100_P16 en particulier.

¹⁰ Réponse probable due à un incident survenu au cours de l'expérimentation (voir développement en partie discussion).

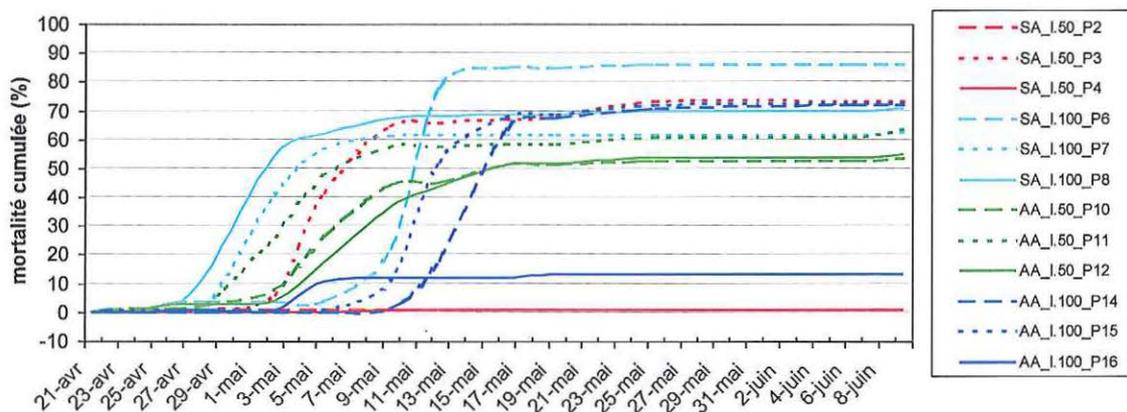


Figure 18. Mortalité cumulée des différents triplicatas (3 plaques par condition = couleur identique) pour les 4 conditions expérimentales (SA_I.50 ; SA_I.100 ; AA_I.50 ; AA_I.100)

Le naissain est mis en élevage en éclosérie le 21 avril. Au bout d'une semaine, un premier épisode de mortalité se déclare dans 2 bacs (Figure 19). La mortalité se déclare ensuite dans la plupart des bacs jusqu'au 19 mai, soit durant une période d'environ un mois. Quelques plaques présentent peu ou pas de mortalité : AA_I.100_P16, SA_I.50_P2 et SA_I.50_P4 (Figure 18). Ensuite, du 19 mai jusqu'au 14 juin (date d'arrêt en éclosérie), la mortalité est insignifiante (Figure 19). Chaque bac se caractérise par un épisode de mortalité apparaissant comme une « flambée infectieuse » étalée sur une durée de 10 à 14 jours. Les bacs ayant présenté les pics de mortalité les plus distants se situent à 14 jours d'intervalle (P8 le 2 mai et P14 le 16 mai).

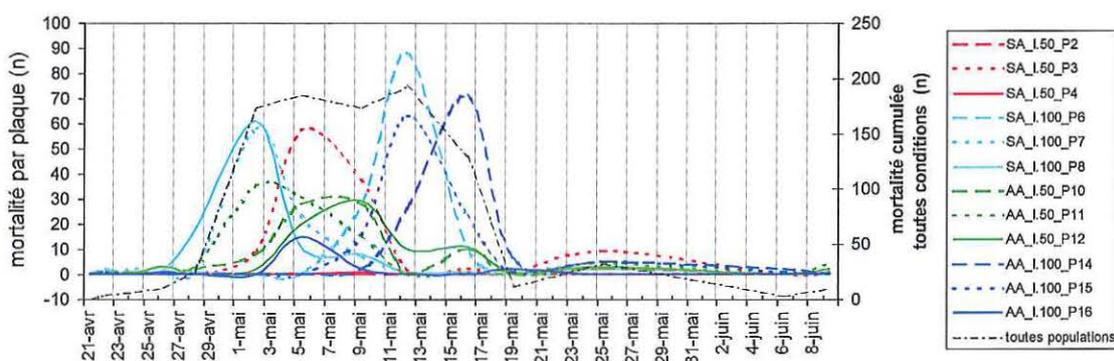


Figure 19. Taux de mortalité journaliers (TMJ) des différents triplicatas (3 plaques par condition = couleur identique) pour les 4 conditions expérimentales (SA_I.50 ; SA_I.100 ; AA_I.50 ; AA_I.100)

En éclosérie, un naissain sauvage, porteur à plus de 80% de virus OsHV-1 lors de la mise en élevage, développe une épidémie entre 1 à 3 semaines d'élevage, selon des conditions expérimentales variables. Malgré cette contamination initiale forte en virus, 3 bacs sur 12 (25%) ne vont pas subir d'épisode de mortalité (mortalité de 1-13 %).

Les répliqués de bacs ne sont pas tous « homogènes » vis à vis de la réponse « mortalité ».

Une analyse de variance sur la mortalité, effectuée le 20 mai au terme de la période de mortalité (Figure 18), selon les deux facteurs : immersion/émersion (I.100% et I.50%) et alimentation (avec algue : AA ou sans algues : SA) ou selon les 4 conditions expérimentales mises en œuvre, ne fait apparaître aucune différence significative de mortalité.

En analyse de variance traditionnelle, après normalisation des descripteurs, aucune différence n'apparaît selon les conditions expérimentales.

Comment interpréter la variabilité intra condition de la mortalité (Figure 17) ?

Deux hypothèses sont proposées :

- 1- Soit en s'en tient strictement à ces résultats en disant que dans 1 cas sur 11 (bac 3 / tous les autres bacs sauf le 16¹¹), « il se passe autre chose »... ce qui implique alors que le concept de base issu de Morest : « la mortalité est le résultat complexe d'une interaction entre l'huître l'environnement et les organismes pathogènes » n'est pas suffisant, et qu'il faut ajouter une composante « aléatoire »... (hypothèse 1).
- 2- Soit de dire ; « comme pour le Bac16, il est survenu sur le bac 3 un incident technique que l'on a pas vu, et qui a induit l'épisode de mortalité que n'ont pas connu les répliqués, un effet 'bac' (hypothèse 2).

Selon l'hypothèse 2, les résultats sont les suivants (Figure 20) :

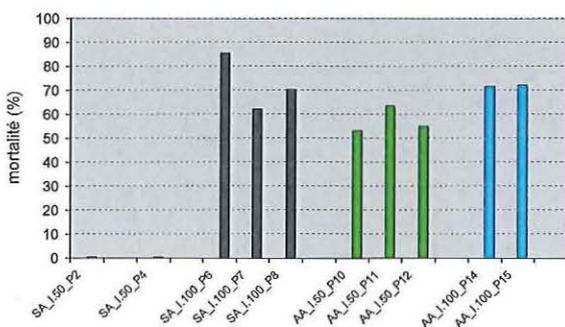


Figure 20. Mortalité cumulée, au terme de l'expérimentation, des différents lots (conditions : SA_I.50 ; SA_I.100 ; AA_I.50 ; AA_I.100), sans la plaque 16 (P16) (incident technique survenu) et sans la plaque 3 (P3) (résultat atypique non expliqué).

Ainsi, quand le naissain (porteur à plus de 80%) est immergé à 100%, quelque soit les conditions d'alimentation, l'épidémie se déclare et la mortalité atteint 72-73%. Quand le naissain est immergé à 50% du temps¹² sans algues, l'infection ne se déclare pas (mortalité < 1%); avec algues, l'infection se développe mais dans une moindre mesure (mortalité de 57%) (Tableau 2).

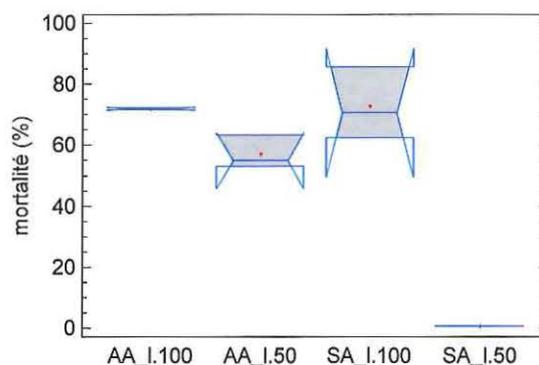
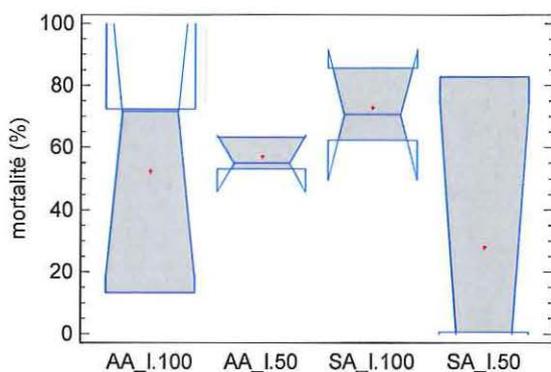
¹¹ Incident technique survenu sur ce bac et ayant induit de ce fait une bien meilleurs survie !

¹² Situation d'un parc de dépôt haut sur estran (coef 35 donne 56% d'immersion moyenne)

	immersion	
alimentation	100%	50%
avec algues	72%	57%
sans algues	73%	0,6%

Tableau 2. Taux de mortalité comparé selon les 4 conditions expérimentales mises en œuvre

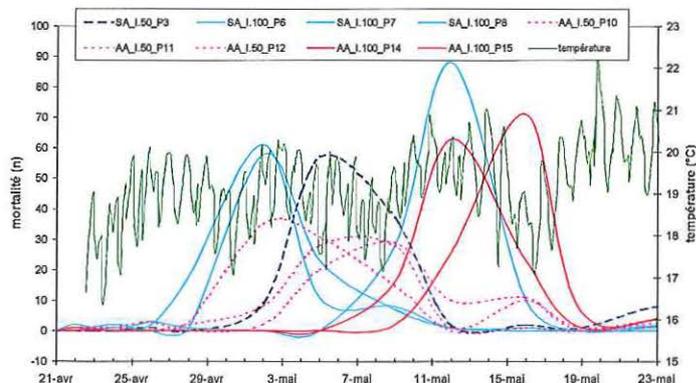
L'isolement hydrodynamique, et en particulier l'émergence régulière et longue (50% du temps) permet bien de préserver les naissains de l'infection à OsHV-1. L'alimentation interagit avec ce facteur d'isolement ; une alimentation limitée diminue l'impact de l'infection virale et donc la mortalité du naissain.



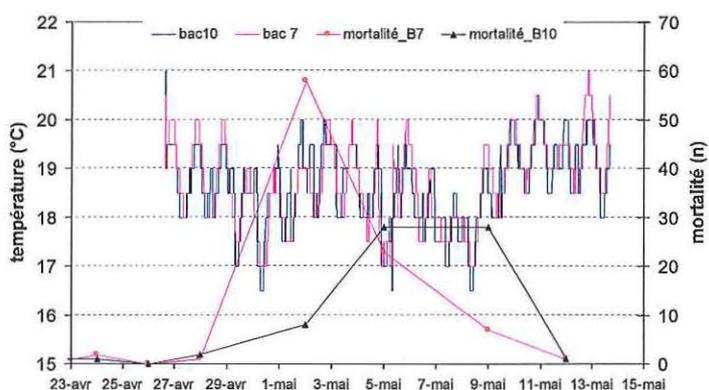
Cinétiques de mortalité et environnement des élevages

La température, toujours supérieure à 16°C durant l'élevage est peu différente quelques soient les conditions d'élevage (Figure 21 A). La température des deux environnements d'élevage : Immersion 100% et 50% est mesurée respectivement dans les bacs 7 et 10. Les médianes des deux conditions sont à 18,5°C entre le 26 avril et le 13 mai (Figure 21 B). Durant l'élevage, la température est comprise entre 16,5 et 21°C ; la température en émergence (50% du temps pour le bac 10) est très proche de la température de l'eau de mer durant la même période.

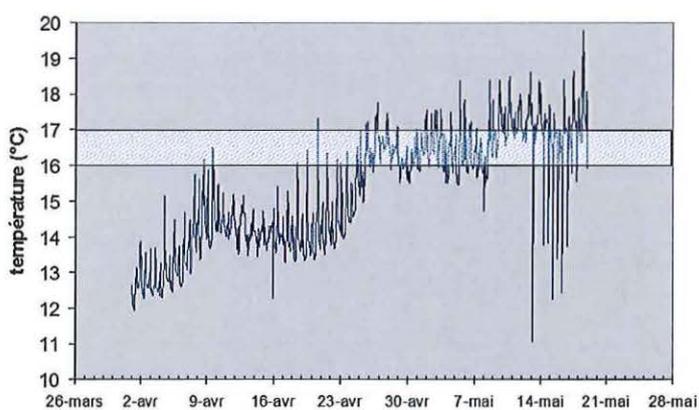
Donc : pas de différence dans les cycles thermiques (mesurés dans les bacs) entre deux élevages à immersion 100% et 50%



A



B



C

Figure 21. Température de l'eau de mer en lien avec les mortalités en éclosion (A), comparée entre les deux conditions d'immersion (50% et 100%) (B) et dans le bassin de Marennes Oléron sur le site d'Agnas (C) en avril – mai 2011

Croissance

La croissance par analyse de surface a été mise au point au LERPC par P. Geairon, et relève d'une adaptation des méthodes utilisées pour le géo référencement des photos aériennes (Annexe 1). La méthode consiste à redresser les images, puis à mesurer des surfaces d'huîtres, successivement au cours du temps. Les huîtres étant fixées et individualisées sur des plaques PVC, des taux de croissance, en surface d'huîtres et par jour, peuvent ainsi être calculés pour chaque condition expérimentale.

La croissance par analyse d'image est réalisée sur une plaque par condition ; soit les plaques 2, 5, 12, 15 respectivement pour les conditions SA_I.50, SA_I.100, AA_I.50 et AA_I.100. 30 huîtres sont ainsi suivies, une à une entre le 21 avril et le 10 juin (6 échantillonnages).

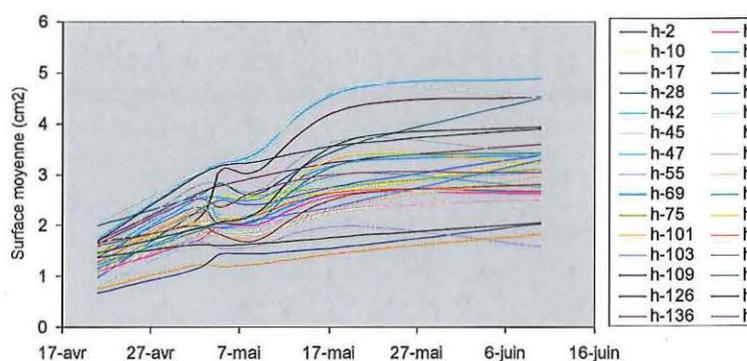


Figure 22. Suivi de croissance en surface d'une série de 30 huîtres issues de la plaque 2 (conditions SA_1.50) (pas de mortalité)

Un début de croissance apparaît entre le 21 avril et le 19 mai, plus marqué pour les 2 conditions à 100% d'immersion que 50%, suivie d'une période en « plateau », avec une reprise de croissance plus importante pour le naissain complémenté avec algues (AA) que celui qui ne l'est pas (SA) (Figure 23). Dès le deuxième échantillonnage, la croissance est meilleure pour les huîtres en immersion 100% et le demeurera par la suite.

Concernant les performances de croissance, le temps d'immersion prévaut devant le type d'alimentation (AA ou SA). La croissance est significative juste avant la phase épidémique, et après. La croissance « plafonne » pendant épisode de mortalité pour toutes les plaques analysées en croissance individuelle, y compris pour les plaques sur lesquelles aucune épidémie ne se déclare.

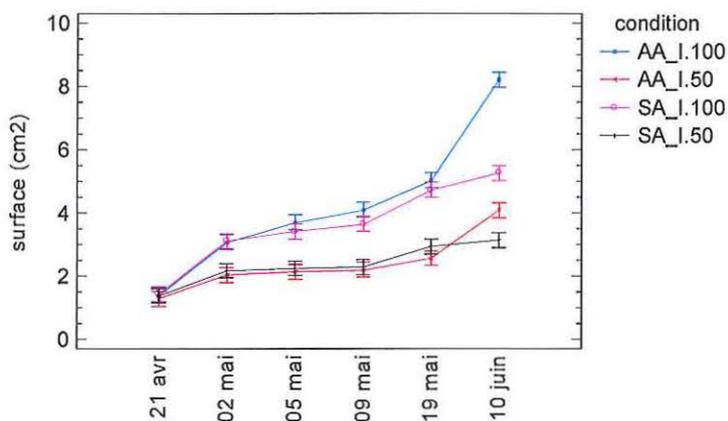


Figure 23. Croissance comparée des 4 conditions expérimentales au cours du temps (plaques 2, 5 12 et 15) respectivement pour les conditions SA_1.50, SA_1.100, AA_1.50 et AA_1.100

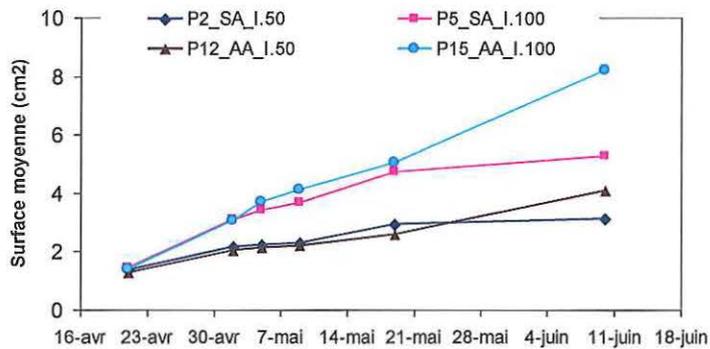


Figure 24. Croissance comparée des 4 conditions expérimentales au cours du temps (plaques 2, 5 12 et 15) respectivement pour les conditions SA_I.50, SA_I.100, AA_I.50 et AA_I.100

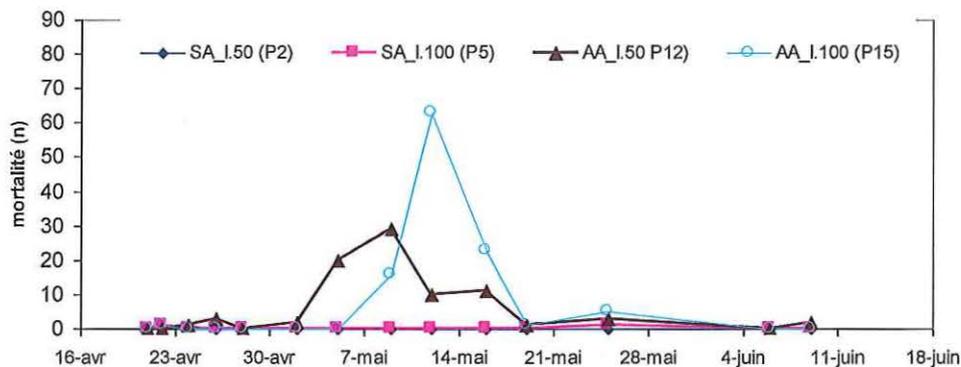


Figure 25. Mortalité de naissains des 4 bacs au suivi individualisé de croissance par analyse d'images (plaques 2, 5 12 et 15) respectivement pour les conditions SA_I.50, SA_I.100, AA_I.50 et AA_I.100.

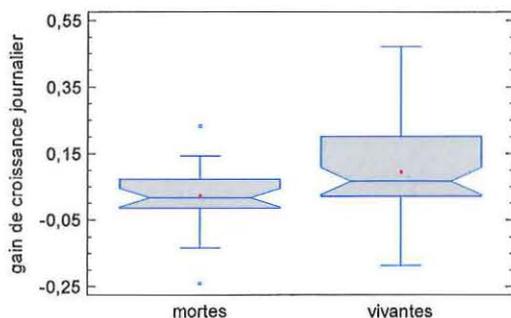
Croissance et mortalité

La question posée¹³ est de savoir s'il existe une relation entre la croissance et la mortalité.

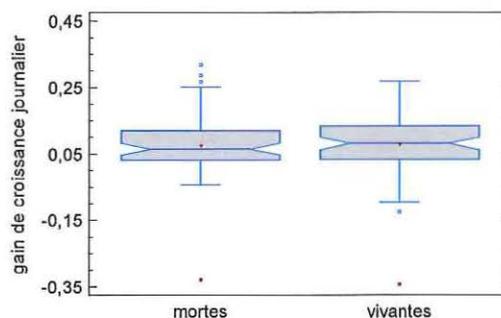
Le protocole mis en œuvre consiste à suivre la croissance des huîtres par analyse d'image en y associant la mortalité durant le premier mois de forte mortalité. Un gain de croissance quotidien (cm^2/jour) est calculé pour deux conditions différentes : la plaque 8 (condition SA, I.100 : pas d'apport en algues et immersion à 100%) et la plaque 15 (condition AA, I.100 : apport en algues et immersion à 100%) (Figure 17). L'étude permet ainsi de relier pour chaque plaque la mortalité (oui ou non) avec un taux de croissance journalier de la période précédente. Les deux séries de taux de croissance obtenues avec et sans mortalité sont alors comparées entre elles au moyen d'un test statistique (Kruskall – Wallis).

¹³ pour laquelle on a déjà des éléments de réponses (Figure 20, Tableau 2)

La première série (plaque 8) compare les performance de croissance qui ont précédée la mort de 24 huîtres avec les performance d'un groupe de 46 huîtres vivantes à l'issue de la même période (Figure 26). La probabilité de 0,016 confirme au seuil de 5% une croissance supérieure des huîtres vivantes par rapport à celle « destinées à mourir » (gain de croissance mesuré entre le 2 et le 5 mai). La deuxième série (plaque 15) compare 57 mortes et 70 vivantes. Aucune différence de croissance selon le devenir des naissains (morts ou vivants) n'apparaît au moment de la crise infectieuse du début mai (gain de croissance mesuré entre le 5 et le 9 mai) ($p = 0,388$) (Figure 26).



plaque 8



plaque 15

Figure 26. Gain de croissance en surface, comparée entre huîtres vivantes et mortes durant les quelques jours qui précèdent la mort : plaque 8 (condition SA-I.100) et plaque 15 (condition AA-I.100).

Ce résultat confirme et complète les résultats évoqués dans les paragraphes précédents, à savoir que le processus de mortalité ne semble pas être en lien direct avec le processus de croissance. Ce ne sont pas les huîtres les plus « poussantes » qui meurent en premier quand le processus d'infestation épidémique est engagé.

Mortalité et présence d'organismes pathogènes : virus et vibrios

Hormis les 3 plaques pour chaque condition expérimentale, une 4^{ème} plaque par condition est dédiée aux prélèvements de naissains pour analyses d'organismes pathogènes. Les taux de mortalité évalués sur ces plaques d'échantillonnage, au terme de l'expérimentation, sont de 1,3%, 1,4%, 35% et 49% respectivement pour les conditions SA_I.50 (P1), SA_I.100 (P5), AA_I.50 (P9) et AA_I.100 (P13) (Figure 27). Des échantillonnages de 10-15 naissains sont effectués les 26 et 28 avr., les 02, 09 et 19 mai et le 09 juin 2011 pour y rechercher les organismes pathogènes : virus OsHV-1 et Vibrios.

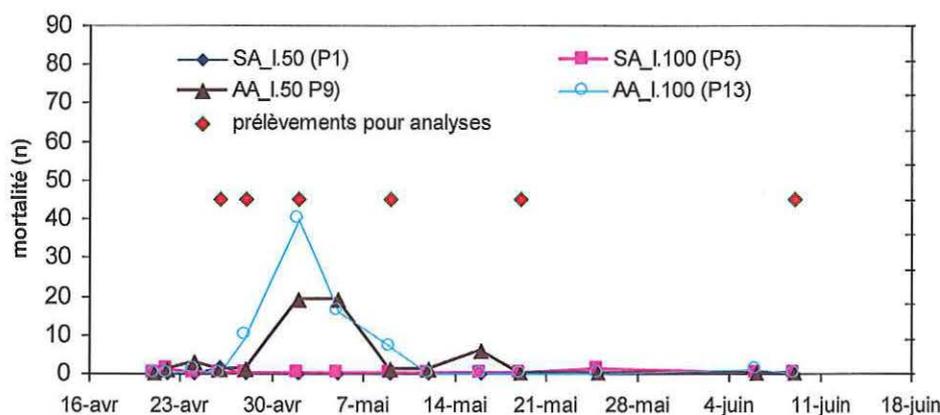


Figure 27. Mortalité de naissains dans les 4 bacs dédiés aux prélèvements d'huîtres pour les analyses d'organismes pathogènes (OshV-1). Les dates de prélèvements de naissain pour analyses sont marquées d'un petit losange orangé.

Seules les deux plaques P9 et P13 sur lesquelles les naissains échantillonnés présentent des charges en virus de plus de 10^4 copies d'ADN par mg sont touchées par les mortalités. En deçà de ce seuil, et jusqu'à des concentrations de $5 \cdot 10^3$ copies/mg, les huîtres semblent résister aux mortalités (Figure 27, Figure 28).

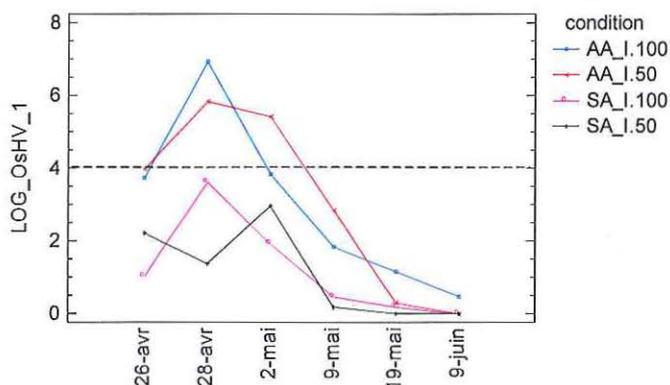


Figure 28. Charge moyenne en ADN viral [log (charge)] d'environ 15 huîtres par échantillonnage, pour les 4 plaques 1, 5, 9 et 13, associées aux conditions respectives suivantes : SA_I.50, SA_I.100, AA_I.50 et AA_I.100

Chez les huîtres vivantes des bacs d'élevage qui développent un phénomène épidémique, et une forte mortalité, la concentration en charge virale peut atteindre 10^6 , 10^7 copies/mg de chair. Chez les huîtres qui ne présentent pas de mortalité, la charge virale augmente jusqu'à des valeurs d'environ $5 \cdot 10^3$ copies par mg, un ralentissement de croissance se manifeste également, mais aucune mortalité importante ne se manifeste.

Après analyses, le virus OsHV-1 est détecté sur 171 huîtres sur 318 (54% des cas). Sur un ensemble des 80-85 huîtres analysées par condition, 65-70% sont infectées par le virus dans le cas des plaques 15 et 12 (avec de fortes charges atteintes en virus) et 35-45% seulement des naissains des plaques 5 et 2 (Figure 29, Tableau 3).

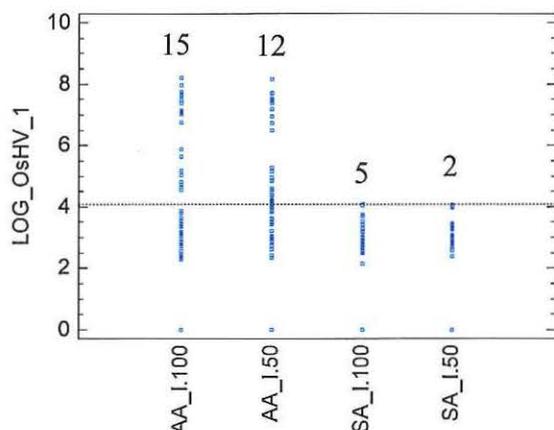


Figure 29. Charge en ADN viral [log(charge)] d'environ 80 huîtres pour chacune des 4 conditions : SA_I.50, SA_I.100, AA_I.50 et AA_I.100 correspondant aux plaques pour 1, 5 9 et 13.

conditions	détection OsHV-1 (%)
AA_I.100	70,7
AA_I.50	65,8
SA_I.100	44,6
SA_I.50	35,8

Tableau 3. Taux de prévalence en virus OsHV-1 des 4 conditions expérimentales d'élevage

Présence de Vibrios :

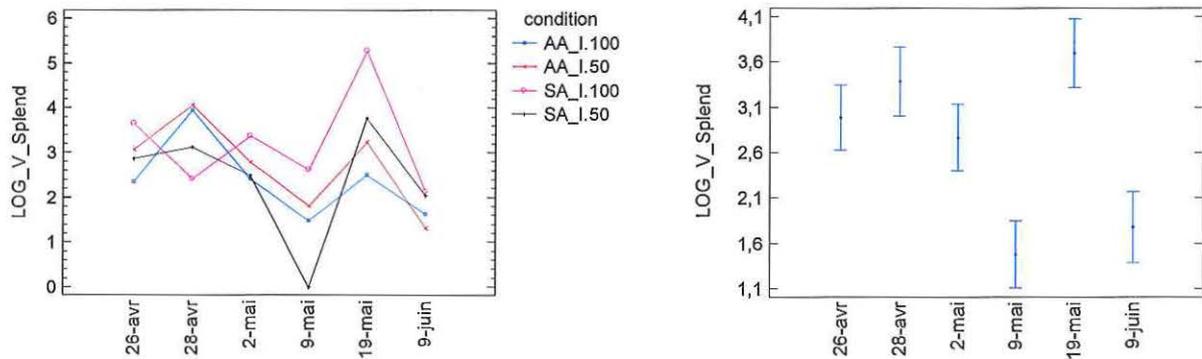
Vibrio aestuarianus n'est jamais détecté parmi les 318 naissains analysés. L'ADN de bactéries du groupe *Vibrio splendidus* pour sa part, est détecté sur 199 huîtres sur 318 (63% des cas) (Tableau 4). Sa présence importante chez le naissain, durant toute la période expérimentale ne semble pas liée à la mortalité de naissain. Le seul échantillon indemne de *Vibrio splendidus* est l'échantillon de la condition SA_I.50 le 9 mai (Figure 30 A).

dates	détection <i>vibrio splendidus</i> (%)
26/04/2011	71,4
28/04/2011	74,5
02/05/2011	63,6
09/05/2011	37,0
19/05/2011	83,0
09/06/2011	44,9

Tableau 4. Fréquence de détection de *Vibrio splendidus* au cours des différents échantillonnages (avril à juin).

L'analyse de variance à partir de la variable normalisée, montre que les échantillons du 9 mai et 9 juin (4 conditions regroupées), forment un groupe homogène de charges en Vibrio

d'environ $8 \cdot 10^3$ UFC/mg, plus faible que la moyenne des échantillons prélevés aux autres dates ($\sim 5,4 \cdot 10^4$ UFC/mg) (Figure 30 B).



A

B

Figure 30. Présence de *Vibrio splendidus* (UFC/mg), pour les 4 conditions expérimentales mises en œuvre (plaques 1, 5, 9 et 13, associées aux conditions respectives suivantes : SA_I.50, SA_I.100, AA_I.50 et AA_I.100, pour une quinzaine d'huîtres par échantillonnage (A). Moyenne et intervalle de confiance pour chacune des dates (B).

Relation virus - vibrio

La cinétique de développement des organismes pathogènes au sein des 4 bacs, ne semble pas totalement relever du hasard puisque les cinétiques s'accordent deux à deux pour les vibrio et les virus, entre les plaques 9 et 13, avec épisode de mortalité (bacs avec apport d'algues), et les plaques 1 et 5, sans épisode de mortalité (bacs sans apports d'algues) (Figure 31).

Seuls les échantillons de naissains, prélevés sur les plaques 9 et 13, avec mortalité présentent des fortes concentrations de virus et s'accompagnent également d'une élévation de la charge en *Vibrio splendidus*. Sur ces plaques, avec mortalité, la concentration en virus et en vibrio décroît progressivement jusqu'à la fin de l'épisode de mortalité, reste très basse ensuite pour le virus et réaugmente brutalement pour le vibrio (Figure 31 haut). Cette élévation de la charge en vibrio est encore plus forte dans les bacs 1 et 5 non touchés par les mortalités.

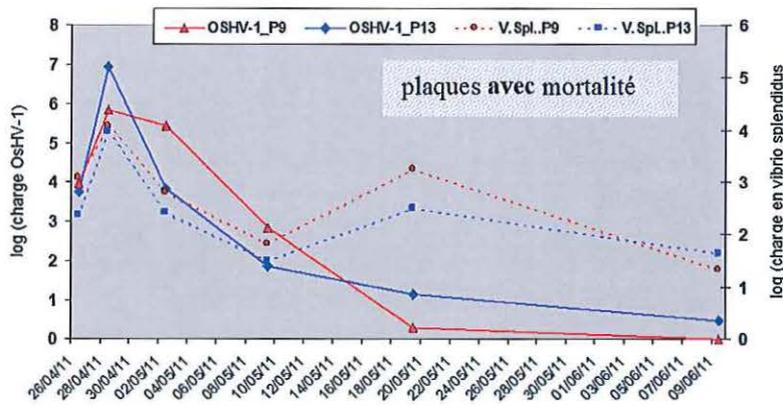
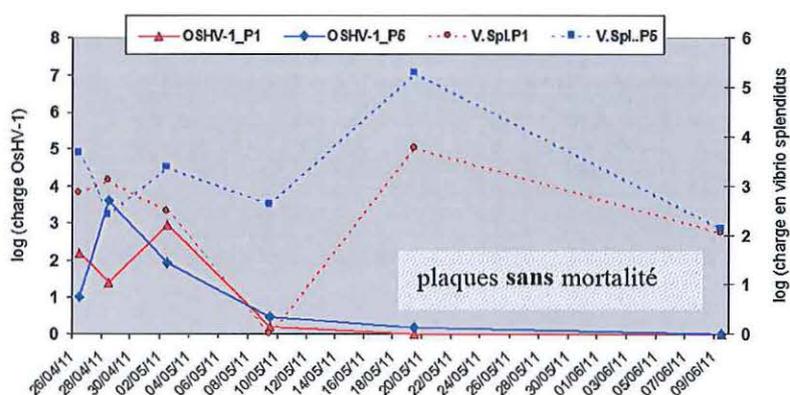


Figure 31 Concentration en *Vibrio splendidus* (UFC/mg) et virus OsHV-1 (copies/mg), sur 2 plaques avec épisode de mortalité : 9 et 13 associées aux conditions expérimentales AA_I.50 et AA_I.100 (haut), et sur 2 plaques sans épisodes de mortalité : 1 et 5 associées aux conditions SA_I.50, SA_I.100 (~ 15 huîtres par échantillonnage).



Détection de virus OsHV-1 dans l'eau de mer

Les analyses de virus OsHV-1 sur les filtres GFC ont été réalisées par le laboratoire LGP (J.F. Pépin, com. pers.).

Une première série d'analyses pour la recherche d'herpès OsHV-1 est réalisée sur :

- des échantillons d'eau de mer issus des bassins de 300m², réserve d'eau de mer pour les structure d'élevage, le 13 mai : Aucune détection d'ADN viral n'est faite.
- des échantillons d'eau de mer en entrée bac expérimentaux, selon les deux qualités d'apport : avec algues et sans algues (AA et SA). Une nouvelle fois, pas de détection d'ADN viral.
- de la matière particulaire retenue sur des filtres GFC (environ ¼ de filtre) ayant filtré 100 ml d'eau de la condition SA (eau en provenance des bassins de réserve) et de la condition AA (avec apport complémentaire d'algues). Dans les deux cas, l'ADN du virus OsHV-1 est détecté.

Ce premier résultat montre que l'eau, ou plus précisément la matière particulaire (morte ou vivante) en suspension dans cette eau, transporte de l'ADN viral d' OsHV-1.

Dans un deuxième temps, une succession d'analyses est réalisée à partir des filtres (1/4 de filtre) ayant filtré 100 ml d'eau d'entrée de type SA (sans apport d'algues) entre le 22 avril et le 6 juin. Ainsi, durant la période d'élevage expérimental (soit précisément au cours de 8 jours* répartis sur 1,5 mois d'élevage), de l'ADN du virus OsHV-1 a été détecté par PCR quantitative dans « l'eau de mer » en entrée des bacs expérimentaux (Tableau 5).

De l'ADN du virus OsHV-1 est retrouvé à partir de 8 échantillons d'eau de mer entrant dans la structure non traitée aux UV de l'écloserie, prélevés 8 jours différents, entre le 22 avril et le 6 juin 2011

date	copie/filtre
22-avr	1,10E+03
26-avr	1,00E+00
28-avr	1,68E+03
02-mai	4,52E+02
20-mai	7,79E+02
20-mai	1,84E+03
20-mai	2,17E+03
06-juin	5,10E+02
06-juin	1,53E+04
06-juin	1,58E+04

Tableau 5. Présence d'herpès virus (OsHV-1) dans l'eau de mer entrant en éclosion expérimentale (salle non traitée UV) entre le 22 avril et le 6 juin (*on peut rajouter les dates du 4 et 11 mai issues d'une série d'analyses antérieure).

Discussion

Mise au point technique pour la détection del'herpès virus OsHV-1 dans l'eau de mer

La détection a pu se réaliser grâce au détournement de l'usage des filtrations, destinés à l'analyse de la chlorophylle a., vers la détection d'ADN de l'herpès OsHV-1. Sans doute, le grand volume d'eau filtré (100 ml), permet-il la détection de l'ADN viral quand ce n'est pas le cas lors d'un prélèvement de quelques 200µl ponctionnés directement en pleine eau (limite de la détection). Parmi les hypothèses, soit une partie de l'ADN viral « libre » est piégé au cours de la filtration dans la matière particulaire retenue sur le filtre, soit cet ADN viral est déjà adsorbé ou intégré (?) dans du matériel particulaire inerte ou vivant. Quoiqu'il en soit, cette technique ouvre sans doute des voies d'investigation pour la recherche d'ADN viral dans les écosystèmes conchylicoles.

Pourquoi l'ADN viral est-il décelé après filtration dans les entrées d'eau de mer en éclosion dès le 22 avril alors que la vague épidémique ne touche pas encore le sud du bassin de Marennes (vague épidémique durant les premiers jours de mai ~ 2-6 mai) ?

Rôle de l'environnement dans l'interaction environnement-huître-organisme pathogène

Il est bien montré dans cette étude, qu'au sein d'une même population de naissains, la vitesse de croissance ne semble pas directement corrélée au risque de mortalité (hypothèse physiologique évoquée dans des études précédentes). Par contre, on peut tout à fait imaginer qu'en condition d'élevage confiné, une plus grande concentration d'algues induit un pompage et une filtration accélérés et donc un risque de contamination qui augmente. Une nouvelle fois, on peut considérer ici que l'apport alimentaire sous forme d'algues dessert l'isolement hydrodynamique qui lui, réduit les effets de l'épidémie et donc les mortalités de naissains. Par contre, le fait de constater une concentration de virus et de *V. splendidus* forte dans certaines populations de naissains qui ne subissent pas de mortalité, montre qu'il faut bien un « facteur supplémentaire » pour induire la mortalité au sein d'un lot de naissain (issu d'une même population génétique). De la même manière un incident technique, artefact de manip, a conduit à sauver un lot de naissain, alors que les 3 autres bacs de la même condition¹⁴ ont subi

¹⁴ Condition d'élevage à priori la plus défavorable : 100 d'immersion et apport d'algues conséquent

des mortalités fortes. L'incident a conduit à émerger accidentellement, et pendant près de 3 jours le lot de naissain... Quelles ont été les conséquences au niveau des populations pathogènes ? Peut-être les niveaux sont-ils tombés à des valeurs très basses ! Quoi qu'il en soit cette observation ouvre de nouvelles pistes à explorer via des tests zootechniques. Une nouvelle fois, le facteur impliqué est l'isolement hydrodynamique.

En fait, même dans les conditions les plus favorables à l'expression de l'infection supposées (100% d'immersion, alimentation en algues, température > 16-17°C), un lot de naissain issu d'une population « sensible » pourrait échapper (temporairement) à la mortalité grâce à une gestion adaptée des élevages. Le risque de mortalité semble bien associé à une vague épidémique saisonnière, identifiée même en éclosion.

Le rendement biologique peut-être calculé comme la biomasse résultante sur chacune des plaques au terme de l'expérimentation le 14 juin (Figure 32). La plaque P16 qui a subi l'incident de l'émersion durant 3 jours consécutifs est bien celle qui présente le meilleur rendement (Figure 32) !

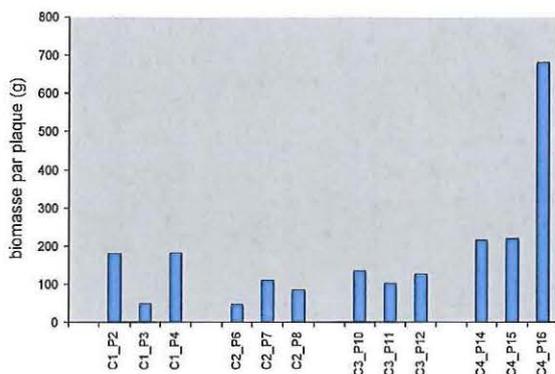


Figure 32. Rendement biologique représenté ici comme la biomasse (g) résultante dans chacun des bacs après au terme de l'expérimentation à mi juin.

Relation huître –organisme pathogène

Un ralentissement de croissance anormal de naissain, sans mortalité particulière, peut traduire un état d'infection « moyen », mais contenu par l'huître. Le virus est bien présent à un stade de multiplication, mais non létal pour l'huître (situation souvent observée au cours de périodes printanières dans le sud du bassin de Marennes Oléron).

Comment expliquer l'absence de *V. splendidus* le 9 mai alors qu'il y en a toujours par ailleurs à toutes les autres dates et que ce résultat ne relève pas d'un problème méthodologique ?

Comparaison des niveaux de mortalité sur un ensemble d'expérimentations

Le résultat de mortalité moyenne de 52% est relativement faible par rapport à celui de l'observatoire qui présente des taux de mortalité d'environ 70% en fin mai ; il est par contre plus proche des taux obtenus en raceway à la Tremblade durant les tests zootechniques de stress thermiques.

Les limites de l'impact « environnement » dans le déterminisme de la mortalité

Seulement 9 bacs sur 12 sont concernés par un épisode de mortalité violent correspondant à une « flambée infectieuse » survenue dans les bacs expérimentaux. Chaque flambée infectieuse dans un bac survient en quelques jours. La date d'apparition du pic de mortalité n'est pas en lien avec la condition expérimentale ; Ce résultat montre bien que le déterminisme qui sous tend le déclenchement de l'épisode de mortalité prévaut par rapport aux conditions d'élevage de nos essais.

Les 3 périodes de mortalité succèdent bien à une hausse sensible de température de 1 à 2 °C. Deux de ces périodes correspondent bien à des périodes de mortes eaux. Puis, il ne se passe plus rien de visible durant la deuxième période d'élevage, lors d'un autre « mordeau » associé à forte élévation de la température ; il reste pourtant en élevage quelques lots de naissain qui n'ont pas subi de mortalité. Pourquoi la mortalité ne se manifeste-t-elle pas alors ? Ces résultats montrent bien que dans le modèle d'interaction, la relation huître – organisme pathogène (?) est essentielle, mais qu'il existe un déterminisme lié à un timing (une saisonnalité ?) qu'il reste à préciser.

Relation : contamination – croissance

Durant la période épidémique, même les lots qui ne développent pas d'épisode de mortalité, marquent un ralentissement de croissance qui nuit bien évidemment au rendement biologique de l'élevage ; d'où l'intérêt d'avoir des lots qui ne permettent pas le développement pas du virus OsHV-1 (sélection génétique) et qui pourraient ainsi conserver un bon rendement.

Conclusion

En 2010 une expérimentation menée sur estran montre qu'un gain de survie du naissain de l'ordre de 25% peut être obtenu sur les parcs de dépôts (coef 25-35). Plusieurs facteurs seuls ou en interaction peuvent être mis en cause pour expliquer un tel résultat : l'émersion quotidienne, la réduction de la ressource alimentaire, la diminution de l'impact potentiel du virus OsHV-1 sur les cheptels, la diminution de la croissance. En 2011, une expérimentation plus fine est menée en écloserie, sur la base d'un plan d'expérience à deux facteurs croisés : l'immersion (50% et 100%) et l'alimentation (complément en algues ou pas). Environ 150 naissains sont collés individuellement sur 16 plaques plongées chacune dans 16 bacs identiques. Les 4 conditions sont représentées en triplicata ; la 4^{ème} plaque de chaque condition servant à la recherche des organismes pathogènes (ADN) : le virus OsHV-1 et les vibrio *V.aestuarianus* et *V. splendidus*. Dans cette structure expérimentale confinée (taux de renouvellement d'environ 200%), avec une température d'élevage toujours supérieure à 16-17°C, les premières mortalités se déclarent au bout de 7 jours (bac SA_I.100_P8) ou au bout de 22 jours (bac AA_I.100_P14); la vague de mortalité s'étale sur un peu plus de 15 jours entre le 28 avril et le 17 mai pour l'ensemble des 16 bacs isolés. Pour chacun des bacs, l'épidémie dure entre une semaine et 10 jours. Au terme de cette période la mortalité est insignifiante pendant près d'un mois, c'est à dire jusqu'à la date d'arrêt de l'expérimentation. A cette date, la mortalité moyenne des 12 bacs est de 52%. Les mortalités finales sont comprises entre 0,6% et 13% pour 3 bacs et entre 55 et 85% pour les 9 autres bacs. Malgré la forte contamination initiale des huîtres en virus OsHV-1, 3 bacs sur 12 ne vont pas développer d'épisode de mortalité ; la mortalité reste faible et comprise entre 1 et 13 % pour ces 3 bacs. Les données de mortalité observées permettent de dégager une tendance moyenne pour chaque

condition (moyenne des réplicats) sauf pour la condition « immersion 50% sans apport complémentaire en algues –SA- I.50- très hétérogène du fait probable d'un accident non identifié. Les naissains épargnés sont (principalement) issus de la condition : immersion 50% avec un apport alimentaire faible (pas de complément algal dans la ration). La condition expérimentale : « immersion 50% et apport complémentaire en algues » subit une mortalité de l'ordre de 57% inférieure aux valeurs de 72-73% des conditions d'élevage en immersion permanente. C'est donc bien l'émersion qui apparaît ici comme le facteur principal permettant un gain de survie des naissains. L'alimentation semble toutefois intervenir également vis à vis de la survie, mais en interaction avec l'émersion; le bénéfice lié à une émersion de l'ordre de 50% (parc de dépôt sur l'estran) disparaît si l'apport alimentaire est conséquent (résultat à confirmer)... Par contre, aucune relation n'est mise en évidence entre la vitesse de croissance, mesurée par analyse d'image et la mortalité. Concernant les performances de croissance, la durée d'immersion prévaut devant le type d'alimentation (AA ou SA). La croissance 'en coquille' est significative juste avant, et après, la phase épidémique. La croissance « plafonne » pendant l'épidémie pour toutes les conditions (plaques) analysées en croissance individuelle, y compris chez les lots de naissain pour lesquels aucune épidémie ne se déclare. Ce résultat confirme et complète les résultats évoqués dans les paragraphes précédents, à savoir que le processus de mortalité ne semble pas être en lien direct avec le processus de croissance. Ce ne sont pas les huîtres les plus « poussantes » qui meurent en premier quand le processus d'infestation épidémique est engagé. Par contre un phénomène d'affaiblissement (arrêt de croissance) en lien avec une infestation conjointe de virus OsHV-1 et de bactéries du groupe *Vibrio splendidus* est bien observé à la fois sur des lots de naissains qui subissent un épisode de mortalité, et pour d'autres qui ne subissent pas de mortalité. Chez les huîtres vivantes des bacs d'élevage qui développent un phénomène épidémique, et une forte mortalité, la concentration en charge virale peut atteindre 10^6 , 10^7 copies/mg de chair. Chez les huîtres qui ne développent pas d'épidémie, la concentration en charge virale augmente jusqu'à des valeurs d'environ $5 \cdot 10^3$ copie par mg, un ralentissement de croissance se manifeste également, mais la mortalité reste faible. Au delà d'une période « à risque majeur » où le naissain exprime ou n'exprime pas de mortalité, le virus est soit faiblement détecté, soit non détecté¹⁵ chez le naissain, et les charges en *V. splendidus*, très faibles. Enfin, des données suggèrent qu'il peut exister une interaction entre le virus OsHV-1 et *V. splendidus*, car il est observé dans les tissus que quand la concentration du premier décroît très fortement au bout d'un mois d'élevage, la charge en vibrio augmente fortement ; ce point nécessiterait d'autres investigations. Enfin, des analyses effectuées à partir de 8 échantillons d'eau de mer entrant dans la structure non traitée aux UV de l'écloserie, prélevés 8 jours différents, entre le 22 avril et le 6 juin 2011, montrent la présence d'OsHV-1 dans le milieu¹⁶. Ce résultat montre que l'eau, ou plus précisément la matière particulaire (morte ou vivante) en suspension dans cette eau peut être le vecteur du virus et transporte activement ou passivement de l'ADN viral d'OsHV-1.

Ainsi, dans des conditions d'élevage défavorables à la survie de naissain en situation épidémique (100% d'immersion, alimentation en algues, température >> 16-17°C), un lot de naissain issu d'une population « sensible » pourrait échapper (temporairement ?) à la mortalité (vague épidémique saisonnière -?- identifiée même dans l'écloserie expérimentale)

¹⁵ Dans la limite des sensibilités des méthodes d'analyse en cours par les laboratoires habilités à réaliser ces mesures.

¹⁶ L'eau de mer entrant dans les structures est filtrée sur filtre GFC, et c'est une partie de ce filtre qui sert de support à l'analyse pour la recherche virale (méthode développée par LERPC-LGP).

grâce à une gestion adaptée des élevages sensibles. C'est là un résultat expérimentale qui demande à être confirmé, mais qui montre que les pistes zootechniques de gestion des élevages, dans un contexte épidémique avéré, doivent pouvoir contribuer à améliorer la survie des naissains. Cette expérimentation confirme en particulier, les gains de survie mis en évidence en 2010, d'élevages soumis à différents niveaux d' « isolement hydrodynamique ».

Tests zootechniques

Essais de stress thermiques en vue d'améliorer la qualité initiale du naissain avant sa mise en élevage

Introduction

Des mortalités exceptionnelles associées à l'herpès-virose à OsHV-1 touchent le naissain d'huîtres creuses depuis quelques années et au delà des recherches en pathologie et en génétique, les pratiques culturales constituent également un thème de recherche appliquée à ne pas négliger. C'est dans cet axe que se positionne ce travail.

Les performances du survie du naissain mis en élevage dépend dans une grande mesure de sa qualité initiale, c'est à dire de son statut et son historique : génétique (produit d'écloserie, sélection, ...), sanitaire (portage de virus, de vibrio...), biologique (stade de maturité, ...) et physiologique (état des réserves, ...) (Soletchnik et al., 2011). Faisant référence à des « expériences » rapportées par des professionnels de la conchyliculture, de gains de survie obtenus par des stress thermiques non volontaires lors de transports de naissains par exemple, ce paragraphe présente des expérimentations exploratrices dans ce domaine ; Peut – on imaginer des stress thermiques, chaud ou froid, (réalisés avant la mise en élevage des naissains sur parcs) susceptibles par la suite d'améliorer la survie des naissains en élevage ?

Matériel et méthode

Le naissain retenu pour ces tests est un naissain issu de captage naturel 2010 dans le bassin de Marennes Oléron (base génétique non contrôlée) et porteur à plus de 80% d'herpès virus OsHV-1 (même cheptel que dans l'expérience du chapitre ci dessus). Des stress chauds, froids, ou chaud - froid sont appliqués sur les lots de naissains entre le 8 et le 15 avril, préalablement à leur mise sur estran le 18 avril (Tableau 6). Les stress chauds sont réalisés en étuves et les stress froids dans des enceintes réfrigérées : réfrigérateur et glacière calibrée avec des blocs froids pour atteindre les températures négatives requises. Un double stress, chaud et froid est également appliqué sur un lot. Deux lots sont mis en élevage en association avec des moules et des huîtres. Après stress, les élevages ont lieu à une altitude de parc de dépôts, haut sur estran (coef 35) dans des conditions d'émersion qui doivent déjà permettre un gain de survie des naissains (Soletchnik et al., 2011). L'expérimentation est conduite en triplicata, par lots de 150 naissains en demi-poches ostréicoles. Un lot témoin (3 poches) est mis en place à une altitude plus conforme aux élevages (coef. 55).

Tableau 6. Conditions expérimentales mises en œuvre : stress chauds, froids, mixtes, témoins à coefficient d'élevage de 35 et 55.

conditions de stress thermique		
ST01	Stress Thermique Froid : 8 heures à 0°C (frigorifère)	STF
ST02	Stress Thermique Chaud : 1h30 heures 40°C (étuve)	STC
ST03	Stress Thermique Chaud : 4 heures 40°C (étuve)	STC
ST04	pas de stress témoin à coef 35	T35
ST05	pas de stress témoin à coef 55	T55
ST06	pas de stress : Association avec huîtres adultes à coeff 35	AssH
ST07	pas de stress : Association avec moules à coeff 35	AssM
ST08	stress thermique froid : 8 heures à -5°C	STF
ST09	stress thermique mixte : 1 heure 40°C et 2 heures -5°C	ST
ST10	stress thermique chaud en émergence 8h	STC

Résultats

Le bilan de l'expérimentation par comptage des vivantes et mortes est réalisé à la mi juin. Les taux de mortalités « bruts » sont compris entre 6% (poche de condition ST07 – avec moules) et 42% (ST03 : stress thermique de 4h à 40°C) (Figure 33).

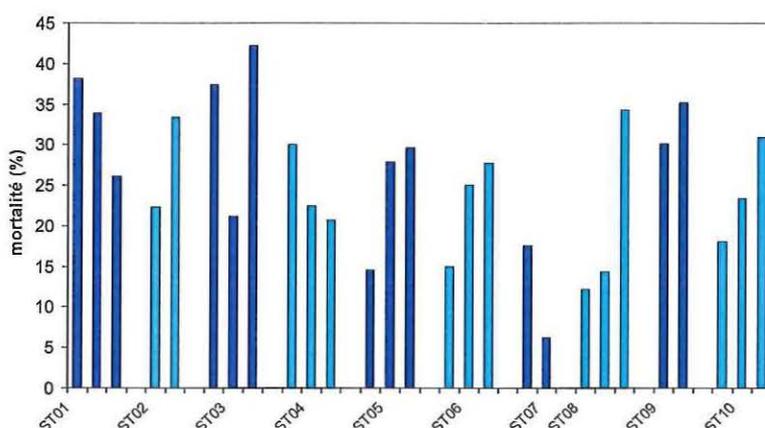


Figure 33. Taux de mortalité des triplicata des différentes conditions expérimentales (Tableau 6) ; 3 poches ont été perdues en ST2, 7 et 9)

Le taux moyen de mortalité pour cette expérimentation, avec ce lot de naissain de captage naturel du bassin de Marennes Oléron est de 25,5%. Le témoin « négatif » en élevage sur le site coef 55 (ST05) présente un taux de mortalité de 24%, pas différent sur le plan statistique des autres conditions expérimentales.

En considérant les 10 conditions expérimentales, seule la condition « association avec moules » (ST07) présente une différence significative avec quelques autres conditions (ST1, ST3 et ST9) (Figure 34).

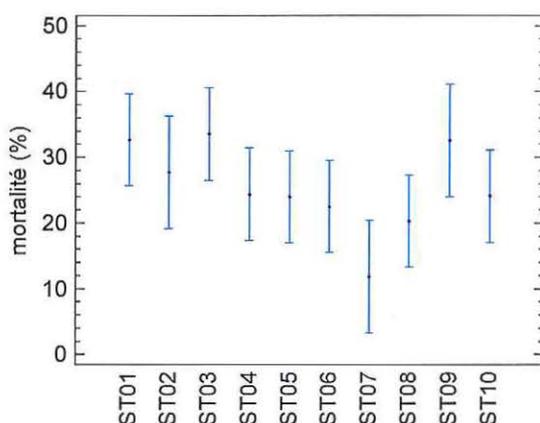


Figure 34. Mortalités comparées selon les conditions expérimentales (ST01 à ST10)

La mortalité moyenne, toutes conditions confondues est particulièrement faible à l'altitude des parcs de dépôts (~ 25%). Même le lot témoin à coef de 55 présente un taux de mortalité identique (24%). Dans ce contexte de faible mortalité (<45%), aucune des conditions de stress thermique chaud ou froid mises en œuvre ne permet de constater une amélioration de la survie des naissains par rapport aux témoins. Ce constat est à mettre en relation avec les particularités du protocole dans lequel il n'y a pas maîtrise ni contrôle des infections potentielles du naissain, le stress thermique étant réalisé hors d'eau. Ces éléments peuvent limiter l'influence du stress thermique.

Essais d'élevage en « association »

Introduction

En 2010, l'association de naissain d'huîtres « enrobé » de moules, a montré un gain de survie significatif des naissains durant la première phase de l'élevage, accompagné d'une très mauvaise croissance (double effet). En 2010, certains professionnels prétendent avoir de meilleures survies de naissains dans des claires en association avec des huîtres adultes ; Le fait d'associer une petite population d'huîtres ou de moules adultes avec du naissain d'huîtres, peut – il contribuer à améliorer la survie de ce naissain ?

Matériel et méthodes

L'expérimentation est conduite entre le 20 avril et le 10 juin 2011, en raceway extérieur à l'écloserie expérimentale de l'Ifremer La Tremblade. Chaque condition d'élevage est réalisée en triplicata dans 3 poches ostréicoles traditionnelles. Chaque poche comprend 3 petites poches avec chacune 330 naissains. Les 3 conditions sont les suivantes : (1) 330 naissains avec un lot de 15 huîtres adultes (poids moyen d'environ 30 grammes), (2) 330 naissain avec un petit lot d'une 50^{aine} de moules (population « tout venant » prise sur le site d'Agnas), (3) 330 naissains seuls (control du test).

Dès le 27-28 avril 2011 la température franchit le seuil des 16-17°C, marquant l'ouverture de la fenêtre à risque de mortalité pour le naissain d'huîtres sensibles au virus OsHV-1 (Figure 1).

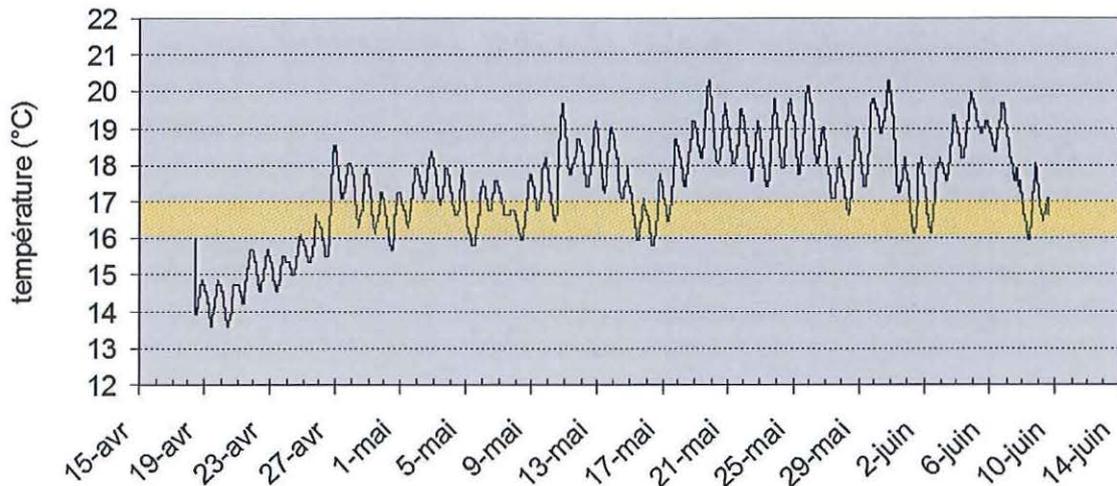


Figure 1. Cycle thermique en raceway extérieur de l'écloserie de la Tremblade (avril – mai 2011)

Résultats

Les taux de mortalité moyens (TM) sont respectivement de 43 % pour les naissains seuls et les naissains avec huîtres adultes et de 46% pour les naissains en élevage associés à des moules.

L'analyse de variance réalisée après transformation de variable [asin (racine TM)] montre qu'il n'y a aucune différence significative de mortalité selon les 3 conditions testées (t de Fisher = 1,15 et p = 0,377).

Le taux de mortalité moyen de 46% pour cette population issue de captage naturel sur l'Estrées (sud Charente) est faible au regard des 70% de mortalité enregistrée au mois de mai dans le bassin de Marennes Oléron (FIM 15). La condition d'élevage en RW correspond pourtant à un environnement sensible (confiné, plus chaud, ...). Le même naissain mis en élevage sur deux sites de l'Observatoire Conchylicole National présente une mortalité de 70% à la fin mai. Quels sont les facteurs responsables de telles différences de survie pour un même naissain, selon les expérimentations, stress environnemental ?, densités ?, apport en agents infectieux ?

Le fait d'associer une petite population d'huîtres ou de moules adultes avec du naissain durant la période épidémique ne permet pas d'améliorer la survie du naissain ; dans le cadre de cette expérimentation, la mortalité est comprise entre 43 et 46 %

Conclusion

En 2011, des stress thermiques chauds et froids appliqués sur les naissains avant leur mise en élevage sur estran et des essais d'élevages de naissains en « association » avec des moules ou des huîtres adultes, ne permettent pas d'améliorer significativement la survie des naissains ; Les mortalité de 24-25 % sur estran pour les lots ayant subi les stress thermiques, et de 43-46 % pour les naissains en association avec les moules ou huîtres adultes sont faibles au regard de la mortalité moyenne des naissains de captage naturel mis en élevage sur estran en 2011 (70-72% de mortalité).

Discussion / conclusion

Mortalités et conditions d'élevage

Contrastes de mortalités d'un même lot de naissains selon les conditions d'élevage en 2011 (comparaison avec 2010)

- Au printemps - été 2011, le lot de naissain issu du captage naturel d'embouchure de Charente, et utilisé par l'observatoire national de l'Ifremer, est également utilisé pour un ensemble de tests et d'expérimentations. Ce lot, porteur à près de 80% par le virus OsHV-1 en avril 2011, donnera des résultats de survie compris entre 25% et 70-75% (Tableau 7). Indépendamment de toute sélection, ces résultats montrent une nouvelle fois que les pratiques culturales (au sens large et en incluant l'expérimentation) sont à même d'induire des gains de survie conséquents (au moins à l'échelle expérimentale) et que cette piste ne doit pas être négligée.

Tableau 7. Comparaison des taux de mortalité d'un lot de naissain issu du bassin de Marennes Oléron (NES_BMO_2011) et mis en œuvre dans un ensemble d'expérimentations en 2011

Expérimentation / testage	TM (%)	Réf manip
manip « out » / LERPC	25% (6% à 42% selon les poches)	2011_M1
manip « extra » / LERPC	43% - 46%	2011_M2
manip « in » / LERPC	46% (1% à 88% selon les plaques)	2011_M3
Observatoire National Ifremer site LOIX / Ifremer	97%	2011_M4
Observatoire National Ifremer site AGNAS / Ifremer	78%	2011_M5
Clares ostréicoles, Floride ou Agnas (lots de référence « témoins » des lots de sélection (LGP / Dégremont, com. pers.)	70-75 %	2011_M6, 7,8

Les stress concernant la manip « out » (2011_M1) ont été réalisés entre le 8 et le 18 avril en laboratoire, en stockant les lots « traités » dans les dégorgeoirs expérimentaux avant la mise sur estran qui a eu lieu le 18 avril. A cette date de mise sur estran, la mortalité ne sévit pas encore dans le bassin de Marennes Oléron et la température est toujours inférieure à 16-17°C. Qu'est ce qui a fait que ce lot a si peu souffert de la mortalité (~ 25 %), y compris les lots témoins, alors que ce même lot mis en élevage dans d'autres conditions, a subi des niveaux de mortalité de l'ordre de 70% (2011_M4, 5...)? Dans une moindre mesure, le même lot, mis en élevage secondairement en raceway avec ou sans moules et huîtres, et maintenu en raceway pendant le test, présentait seulement 43-46% de mortalité (2011_M2). Même interrogation concernant les causes à même de produire ce « gain » de survie. Ces causes sont-elles à rechercher dans les manipulations, et en particulier les conditions d'émersion particulières durant ces expérimentations, dans les faibles densités de naissains mis en œuvre expérimentalement, dans l'isolement des lots (1 seul lot par manip ; pas de proximité avec d'autres lots ? ...), les effets sites ? le niveau de filtration/apport en algues ?

- En éclosion, à l'échelle expérimentale, les facteurs expérimentaux mis en œuvre sont à même d'induire des différences de mortalité importantes également ; abstraction faite de 2 bacs dont l'un a subi un incident de gestion, les 10 autres, issus de 4 conditions expérimentales donnent des résultats de mortalité compris entre 73% et 1% (Tableau 8).

Tableau 8. Comparaison des taux de mortalité d'un lot de naissain issu du bassin de Marennes Oléron (NES_BMO_2011) selon différentes conditions expérimentales mises en œuvre en éclosion

conditions expérimentales	mortalité (%)
avec apport d'algues d'éclosion / immersion 100%	72 %
sans apport d'algues d'éclosion / immersion 100%	73 %
avec apport d'algues d'éclosion / immersion 50%	57%
sans apport d'algues d'éclosion / immersion 50%	< 1%

Cette expérimentation révèle sans conteste l'importance première de l'isolement hydrodynamique pour préserver les naissains, et combien l'apport alimentaire interagit avec l'émersion ; un apport alimentaire important venant en partie faire perdre le bénéfice de survie lié à l'émersion 50%. Si l'émersion 50% est couplée à un faible apport alimentaire, alors les naissains peuvent échapper à l'épidémie. Ces résultats montrent combien l'interaction hôte-virus-environnement est complexe.

- En 2010, 6 expérimentations et testages ont eu lieu simultanément sur le site ostréicole d'Agnas entre le mois d'avril et le mois de novembre 2010 (Tableau 9).

Tableau 9. Comparaison des taux de mortalité d'un lot de naissain issu du bassin de Marennes Oléron (NES_BMO_2010) et mis en élevage sur le site d'Agnas dans le sud du bassin de Marennes Oléron .

Intitulés des expérimentations conduites sur le site d'Agnas	Facteur	TM (%)	Réf. manip
Test des hypothèses sur la relation entre la mortalité et l'altitude	poche coeff. 80	66	THOMA / LERPC / R1
	poche coeff. 55	64	
	Exposition soleil	61	
	Ombre	53	
	Enrobage moules	52	
	poche coeff. 35	44	
Etude de la cinétique de mortalité en lien avec l'infestation par les organismes pathogènes : Vibrios et virus OsHV-1		56	CIDAGINF / LGP / R4
Etude de la survie du naissain de captage naturel selon sa date de captage durant la saison de fixation : « précoce ou tardif »		72	CAPRETAR / LGP / R5
Suivi régional des lots de naissain de l'observatoire national		77	Observatoire National / LERPC / R6

A partir d'un seul lot de naissain en 2010, comme en 2011, les taux de mortalité sont compris dans une gamme large de valeurs : 44-77 % en 2010 et 2-97 % en 2011 **montrant bien là combien les pratiques culturales ou zootechniques peuvent agir sur le taux de mortalité** (Figure 35).

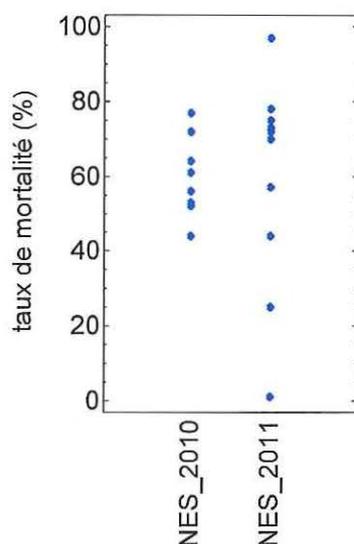


Figure 35. Comparaison des niveaux de mortalité atteints à partir d'un même lot de naissain selon plusieurs conditions d'élevage et de testage : sur le site d'Agnas en 2010 à partir d'un lot de naissain d'Arcachon, et dans le bassin de Marennes Oléron en 2011, à partir d'un lot de naissain du bassin de Marennes Oléron.

Modalités d'infestation en lien avec l'environnement / processus infectieux

Dans l'étude réalisée en laboratoire (2011), les naissains en élevage à 100% d'immersion et avec apport en algues ne présentent de mortalité qu'au bout de 3 semaines après le début de la mise en élevage alors que dans d'autres conditions l'épidémie va se déclarer au bout de quelques jours seulement. Dans cette structure expérimentale où l'eau de mer n'est pas traitée aux UV, tout se passe comme s'il avait fallu un déclencheur supplémentaire (co-facteur ?) pour initier la mortalité dans les bacs de cette condition à 100% d'immersion et apport d'algues. La crise épidémique dans ces bacs et la mortalité intense qui l'accompagne est concomitante avec l'apparition des mortalités dans le sud du bassin de Marennes Oléron et en Seudre en particulier (du 2 au 5 mai 2011 – COMOR 2011). Ce résultat est à éclairer et à rapprocher des données obtenues dans l'écloserie expérimentale de la Tremblade en 2010 (Dégremont, com pers) : Dans cette expérience, (TRANS2, Dégremont et Pépin, 2010), sont mis en élevage en condition isolée ou en cohabitation, des juvéniles : résistants (R_2N, porteurs à 4%), sensibles (S_2N, porteurs à 46%) et des naissains témoins (T_2N), « naïfs » et non contaminés par OsHV-1. Par hypothèse, les animaux porteurs d'OsHV-1 pouvaient générer potentiellement la transmission horizontale de la maladie. L'objectif majeur de cette étude était de conduire un essai pour induire une infection virale à partir d'animaux porteurs vis à vis de naissain 'sain' élevé en cohabitation, en conditions contrôlées. L'expérimentation a lieu de mars à juin 2010, simultanément en eau chaude (20-22°C) et dans une eau au cycle thermique « naturel ». Les réseaux d'eau sont traités aux UV. Les lots d'huîtres 'sensibles' : S_2N ou T_2N en cohabitation, n'exprimèrent pas de mortalité en écloserie en milieu contrôlé avant le 17 mai 2010 malgré une température largement supérieure à 17°C (condition chaude : 20-22°C). Les mêmes lots maintenus isolés à température chaude ou naturelle n'ont présenté aucune mortalité jusqu'en juin ! On note ainsi que ce n'est que lorsque l'épidémie fut déclarée dans le sud du bassin de Marennes Oléron (données REPAMO et Flash Info Maline n°9) que de manière concomitante les huîtres naïves en cohabitation avec des huîtres sensibles

et porteuses d'OsHV-1 ont présenté une première vague de mortalité, sous l'action conjointe : (1) des virions libérés par huîtres S_2N porteuses ; (2) d'un possible co-facteur (?) présent dans l'eau malgré les UV ; (3) d'une température favorable > 16°C. Le fait que les lots maintenus isolés entre eux ne présentent pas de mortalité jusqu'en juin démontre l'efficacité des UV mis en amont des bacs vis à vis des agents infectieux et relativise l'effet éventuel d'un co-facteur véhiculé par l'eau provenant du milieu extérieur. En effet, dans la mesure où le lot S_2N pourtant porteur d'OsHV-1 et sensible à l'infection n'a pas présenté de mortalité en condition isolée laisse fortement suspecter plutôt un effet néfaste de l'élevage en mélange de lots d'origine et de statut différents que l'influence d'un co-facteur externe. De fait, le lot 'naïf' maintenu isolé n'a pas été contaminé par l'eau et n'a pas connu de mortalité.

Dans le cas de l'expérimentation « evivas » en 2011, avec une eau non traitée UV cette fois ci, tout ce passe comme si pour la condition : 100% d'immersion et apport en algues), il avait également fallu attendre le déclenchement de la mortalité dans le sud du bassin de Marennes Oléron (effectivement durant les premiers jours de mai) pour que la mortalité se déclare dans les bacs de cette condition là. Tout se passe comme si il manquait un facteur, qui apparaît lorsque la vague épidémique se déclare dans le milieu naturel, et qui permet : (1) la sur-contamination d'un naissain déjà porteur, resté indemne de mortalité jusqu'alors (LERPC, 2011). Il y a dans ces deux résultats obtenus en 2010 et 2011 des analogies : (1) des naissains sensibles sont en élevage avec une source contaminante (adultes ou naissain) dans des conditions thermiques où la mortalité devrait s'exprimer, et ne s'exprime pas forcément à l'échelle de temps des suivis réalisés (2) au cours de la même expérimentation, dans des conditions expérimentales différentes la mortalité s'exprime ... comme attendue ; (3) un facteur « surinfection virale » survenant lors de l'épidémie en mer (dans la zone de pompage de l'eau mer pour l'écloserie), et sensible aux UV, qui permet (ou provoque) le déclenchement soudain de l'épidémie (cf. ADN viral détecté sur filtres).

Donc : il semble qu'il puisse co-agir un facteur biotique « surinfection virale » qui peut affecter une population porteuse et un naissain naïf pour provoquer la contamination du naissain, et un facteur abiotique, l'élévation thermique brutale ou une variation soudaine de quelques degrés (dans le cas d'un cycle thermique « naturel ») qui constitue un facteur déclencheur (résultats mis en évidence dans le cas de Morest, avec une température de 19°C, et dans le cas de l'épidémie qui sévit depuis 2008, avec la température de 16-17°C).

Multiplication virale (liée à la température) + stress (et/ou facteur surcontamination et/ou cohabitation en mélange) = mortalité

Donc, en 2011, un même naissain, très contaminé en début d'expérimentation (porteur à près de 80% de virus - Bédier, com. pers) peut :

- déclarer l'épidémie quelques jours après son immersion dans les structures expérimentales de l'écloserie où l'eau est chauffée au delà de 17°C sans UV (SA - 100% Im. & AA – 50% Im.).
- déclarer l'épidémie quelques 2 semaines plus tard, lorsque l'épidémie se déclare dans le milieu naturel (sud du bassin de Marennes Oléron) et que les élevages sans UV en écloserie subissent (comment ?) l'impact de cette vague d'épidémie ! (AA – 100% Im.).

- échapper à l'épidémie (SA – 50% Im. – 2 bacs / 3).

Un incident expérimental qui bloque l'arrivée d'eau dans le bac 16 (immersion 100% et apport en algues) maintient le naissain hors d'eau 4 jours entre le 28 avril et le 2 mai et lui permet d'échapper également à l'épisode de mortalité. Cette période accidentelle correspond juste à la période pendant laquelle les huîtres subissaient l'épidémie en Seudre. Remis en eau à partir du 2 mai, ces naissains ne vont pas développer d'épisode de mortalité jusqu'à la fin de l'expérimentation. Le facteur « surinfection » serait un facteur « temporaire » présent en début de crise épidémique uniquement.

Ces résultats expérimentaux montrent, une nouvelle fois que les pistes zootechniques de gestion des élevages, dans un contexte épidémique avéré, doivent pouvoir contribuer à améliorer la survie des naissains, même non sélectionnés. Ces expérimentations confirment en particulier les gains de survie mis en évidence en 2010, d'élevages soumis à différents niveaux d'« isolement hydrodynamique ».

Synthèse

Des observations faites en 2009 et 2010, suite aux épisodes d'épidémie à OsHV-1 μ var qui frappe le naissain dans tout le bassin de Marennes Oléron, montrent que selon l'altitude de fixation du naissain sauvage d'huîtres sur une structure verticale en béton, (cas de l'estuaire de la Seudre) sa survie peut s'échelonner de 90% à 10%. Plusieurs hypothèses formulées pour tenter d'expliquer ces résultats relèvent : de la sélection précoce, de la résistance physiologique, de l'exposition à de plus fortes températures, du temps de présence dans l'eau (contamination et ressource trophique), et de la relation des naissains avec le sédiment.

Ces observations conduisent à travailler en 2010 et 2011 sur les facteurs de l'environnement susceptibles d'améliorer la survie des naissains. En 2010, l'expérimentation est menée sur estran sur le site expérimental d'Agnas dans le sud du bassin de Marennes Oléron. Parmi les hypothèses évoquées ci-dessus, cette expérimentation vise à préciser l'effet de l'altitude des parcs (coefficients d'élevage de 35, 55 et 80), l'effet de l'exposition (naissain à l'ombre ou exposés sur tuiles) et l'effet de la déplétion (aliment et diminution de la contamination ?), par « enrobage » des naissains par des moules adultes dans des paniers. La mortalité moyenne est de l'ordre de 60 %. Seule la condition standard d'élevage à un coefficient de parc de dépôt haut (coef 35) permet un gain de survie significatif de l'ordre de 20-22% par rapport aux conditions d'élevage, plus profondes, à coefficient de 55 ou 80. Toutefois ce « gain de survie » acquis en première année, en particulier pour les lots élevés en poches traditionnelles à coef. 35 ou « enrobés » avec des moules à coef. 55, est en partie perdu au cours de la deuxième année (période de demi-élevage). Réduire l'exposition des naissains à la lumière ne semble pas avoir d'effet sur la survie (ou sur la mortalité). L'enrobage des naissains par des moules limite bien dans un premier temps la mortalité, mais réduit considérablement la croissance des naissains. Sur le plan de la cinétique de mortalité, les 3 « pics » de mortalité enregistrés à différentes altitudes d'élevage succèdent bien à 3 phases montantes du cycle de température à partir du franchissement du seuil thermique de 16-17°C ; les deux premiers pics survenant au cours des périodes de mortes eaux. Les mortalités touchent d'abord les naissains en élevage à coef. 80. Les pics de mortalité se décalent ensuite progressivement vers les parcs plus hauts sur estran, à coefficient 55, puis 35, montrant bien l'importance de l'immersion dans le processus de mortalité (infection, contamination ?). Les différences liées à l'immersion sur les 3 sites d'élevage sont à la fois quantitatives (entre 70% à 94% de temps d'immersion selon

l'altitude) et qualitatives. Sur le site à coefficient 35, les naissains émergent 2 fois par 24 heures et tous les jours. Aux autres coefficients d'élevage (55 et 80), les naissains peuvent passer plusieurs jours en immersion totale. L'émergence réduit bien l'impact de l'épidémie sur les naissains. L'effet de déplétion trophique induit par les moules sur le site à coef. 55 est du même ordre de grandeur, vis à vis de la cinétique de mortalité, que la réduction d'impact des mortalités sur les huîtres dans des conditions d'émergence quotidienne et plus prolongée sur le site à coef. 35 (par rapport aux autres sites à coef. 55 et 80). Toutefois, ces deux naissains présentent de fortes différences de croissance (poids respectifs de 13g et 1,5g au bout de 6 mois d'élevage), et la mortalité de la condition « avec moules » va progresser entre le 3^{ème} et le 6^{ème} mois d'élevage, probablement du à l'affaiblissement extrême des naissains de cette condition expérimentale. A l'issue de l'expérimentation 2010, parmi les différentes hypothèses formulées, le risque de contamination ou d'infection du naissain qui augmente avec le temps de résidence dans l'eau, semble bien être l'hypothèse la plus valide. Une des questions sous-jacente à cette hypothèse est de savoir si l'émergence agit en réduisant le risque de contamination ou l'accès à la ressource trophique. Dans le deuxième cas, il existerait alors une relation entre la contamination-mortalité et la vitesse de croissance des naissains qui reste à démontrer.

En 2011, l'expérimentation est menée en éclosion sur la base d'un plan d'expérience à deux facteurs croisés : l'immersion (50% et 100%) et l'alimentation (complément en algues ou pas). Environ 150 naissains sont collés individuellement sur 16 plaques plongées chacune dans 16 bacs identiques. Les 4 conditions sont représentées en triplicata ; la 4^{ème} plaque de chaque condition servant aux prélèvements de naissains pour la recherche des organismes pathogènes : virus OsHV-1 et vibrio *V. aestuarianus* et *V. splendidus*. Dans cette structure expérimentale confinée (taux de renouvellement d'environ 200%), avec une température d'élevage toujours supérieure à 16-17°C, les premières mortalités se déclarent au bout de 7 jours pour le bac 8 (sans apport d'algues et immersion 100%) ou au bout de 22 jours pour le bac 14 (apport d'algues et immersion 100%); la mortalité s'étale sur un peu plus de 15 jours entre le 28 avril et le 17 mai pour l'ensemble des 16 bacs isolés. Pour chacun des bacs, l'épidémie dure entre une semaine et 10 jours. Au terme de cette période la mortalité est insignifiante pendant près d'un mois, c'est à dire jusqu'à la date d'arrêt de l'expérimentation. A cette date, la mortalité moyenne des 12 bacs est de 52%. Les mortalités finales sont comprises entre 55 et 85% pour les 9 bacs sur 12. Malgré la forte contamination initiale des huîtres en virus OsHV-1, 3 bacs sur 12 ne vont pas développer d'épisode de mortalité; la mortalité reste comprise entre 1 et 13 % pour ces 3 bacs. Les naissains épargnés sont principalement issus de la condition à immersion 50% avec un faible apport alimentaire (pas de complément algal dans la ration) (2 bacs sur 3). La condition expérimentale : immersion 50% et apport complémentaire en algues, subit une mortalité de l'ordre de 57 % inférieure aux valeurs de 72-73% des conditions d'élevage en immersion permanente (avec et sans apport d'algues complémentaires). C'est donc bien l'émergence qui apparaît ici comme le facteur principal permettant un gain de survie des naissains. L'alimentation semble intervenir en interaction avec l'émergence ; le bénéfice lié à une émergence de l'ordre de 50% (équivalent à un parc de dépôt sur l'estran) disparaîtrait si l'apport alimentaire est conséquent ... Par contre, aucune relation n'est mise en évidence entre la vitesse de croissance, mesurée par analyse d'image, et la mortalité. Pour la croissance, la durée d'immersion prévaut devant le type d'alimentation (avec ou sans compléments d'algues). La croissance est significative juste avant, et après, la phase épidémique. La croissance « plafonne » pendant l'épidémie pour toutes les conditions analysées en croissance individuelle, y compris chez les lots de naissain pour lesquels aucune épidémie ne se déclare. Ce résultat confirme et complète les résultats évoqués dans les paragraphes précédents, à savoir que le processus de mortalité ne semble pas

être en lien direct avec le processus de croissance. Ce ne sont pas les huîtres les plus « poussantes » qui meurent en premier quand le processus d'infestation est engagé. Par contre un phénomène d'affaiblissement (arrêt de croissance) en lien avec une infestation conjointe par le virus OsHV-1 et des bactéries du groupe *Vibrio splendidus* est bien observé à la fois sur des lots de naissains qui subissent un épisode de mortalité, et pour d'autres qui ne subissent pas de mortalité. Chez les huîtres survivantes des bacs d'élevage ayant subi un épisode infectieux avec une forte mortalité, la charge virale peut atteindre 10^6 , 10^7 copies/mg de chair. Chez les huîtres qui ne présentent pas ou peu de mortalité, la charge virale observée augmente jusqu'à des valeurs d'environ $5 \cdot 10^3$ copie par mg. Un ralentissement de croissance est également visible, mais la mortalité reste faible. Au delà de la période épidémique où le naissain présente ou ne présente pas de mortalité, le virus est soit faiblement détecté, soit non détecté¹⁷ chez le naissain, et les charges en *V. splendidus* sont très faibles. Enfin, on peut penser qu'il existe une interaction entre le virus OsHV-1 et *V. splendidus*, car quand la concentration du premier décroît très fortement au bout d'un mois d'élevage (post infection et mortalités ???), la charge en *vibrio* augmente, à la fois pour les plaques (lots) ayant subi ou pas des épisodes de mortalité. Enfin, des analyses effectuées à partir de 8 échantillons d'eau de mer en entrée de la structure expérimentale de l'écloserie (eau non traitée aux UV), prélevés 8 jours différents, entre le 22 avril et le 6 juin 2011, révèle la détection d'ADN viral laissant fortement suspecter la présence d'OsHV-1 dans le milieu¹⁸. Ce résultat montre que l'eau, ou plus précisément la matière particulaire (morte ou vivante) en suspension dans cette eau, transporte de l'ADN viral d'OsHV-1.

En annexe du travail résumé ci dessus, des essais zootechniques ont été réalisés en 2011 ; des stress thermiques chauds et froids avant la mise en élevage des naissains sur estran, et des essais d'élevages de naissains en « association » avec des moules ou des huîtres adultes. Ces tests ne mettent pas en évidence de condition de stress ou d'élevage permettant une amélioration significative de la survie. Les niveaux de mortalité sont faibles (au regard de la mortalité attendue), de l'ordre de 24-25 % sur estran pour les lots ayant subi les stress thermiques et les témoins, et entre 43-46 % pour les naissains en association avec les moules ou huîtres adultes et les témoins.

¹⁷ dans la limite des sensibilité des méthodes d'analyse en cours par les laboratoires habilités à réaliser ces mesures.

¹⁸ L'eau de mer entrant dans les structures est filtrée sur filtre GFC, et c'est une partie de ce filtre qui sert de support à l'analyse pour la recherche virale (méthode développée par LERPC-LGP).

Références

- Azandegbe Afi, 2010. Etude de la structure des communautés bactériennes du sédiment et de l'écologie de *Vibrio aestuarianus* pathogène de l'huître creuse *Crassostrea gigas* dans deux sites ostréicoles. PhD Thesis, Université Européenne de Bretagne.
<http://archimer.ifremer.fr/doc/00032/14277/>
- Bedier, E., 2011. Observatoire national Conchylicole. Campagne 2010. IFREMER, pp. 93.
- Cochennec-Laureau, N., Baud, J.P., 2011. Bilan des surmortalités des huîtres creuses *Crassostrea gigas* depuis 2008. Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentaire 42, 4.
- Cochennec-Laureau N., Baud J.-P., Pepin J.-F., Benabdelmouna A., Soletchnik P., Lupo C., Garcia C., Arzul I., Boudry P., Huvet A., Pernet F., Bachere E., Bedier E., Petton B., Gaussem F., Stanisiere J.-Y., Degremont L. (2011). Les surmortalités des naissains d'huîtres creuses, *Crassostrea gigas* : acquis des recherches en 2010.
<http://archimer.ifremer.fr/doc/00033/14423/>
- Degremont, L., 2011. Evidence of herpesvirus (OsHV-1) resistance in juvenile *Crassostrea gigas* selected for high resistance to the summer mortality.
- EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW); Scientific Opinion on the increased mortality events in Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). EFSA Journal 2010;8, 1894.
- Saulnier D., Pepin J.-F., Guesdon S., Degremont L., Faury N., Haffner P., Renault T., Travers M.-A., Tourbiez D., Geairon P., Le Moine O., Seugnet J.-L., Soletchnik P. (2011). Mortalités massives de l'huître creuse - Rapport final du programme de recherche sur l'étude de la cinétique de détection d'agents infectieux associés à des épisodes de mortalités de naissains d'huîtres creuses *Crassostrea gigas* sur un site ostréicole de Marennes-Oléron.
<http://archimer.ifremer.fr/doc/00058/16920/>
- Soletchnik, P., Lambert, C., Costil, K., 2005. Summer Mortality of *Crassostrea gigas* (Thunberg) in relation to environmental rearing conditions Journal of Shellfish Research 24, 197-208.
- Soletchnik, P., Mazurie, J., Allain, G., Bedier, E., Benabdelmouna, A., Blin, J.-L., Bouquet, A.-L., Cochet, H., Degremont, L., Gaussem, F., Gervasoni, E., Glize, P., Petton, B., Roussel, P.-Y., Pernet, F., 2011. Les pratiques culturales peuvent-elles permettre de réduire la surmortalité du naissain d'huîtres creuses? Récapitulatif des essais d'élevage et expérimentations zootechniques menés sur le territoire français entre 2008 et 2010. Ifremer, pp. 24.
- Struski, C., 2005. Modélisation des flux de matière dans la baie de Marennes-Oléron : couplage de l'hydrodynamisme, de la production primaire et de la consommation par les huîtres. , UMR 10 CNRS/IFREMER. La Rochelle La Rochelle pp. 334.

Listes des figures et tableaux

Figure 1. Sites de mesures de la mortalité de naissains sauvages sur le site de la cale de la Tremblade en Seudre (2009) entre 1,5 m d'altitude (A) et 4,5 m (F).	8
Figure 2. Hypothèses concernant l'amélioration de la survie du naissain lorsque l'émersion augmente au cours de l'élevage (et inversement).....	9
Figure 3. Mortalité comparée des 6 conditions d'élevage (conditions en triplicata).	12
Figure 4. Mortalité cumulée comparée des 5 conditions d'élevage (Tableau 1). Les flèches indiquent la date en 2010 de franchissement du seuil de 16-17°C vers le haut (flèche orange) et vers le bas (flèche verte).....	14
Figure 5. Taux de mortalité journalier des conditions d'élevage : poche_35, 55 et 80 (respectivement aux coefficients de parcs de 35, 55 et 80).....	16
Figure 6. Taux de mortalité journalier des conditions d'élevage : poche_35, moule_55 et ombre_55 (dont la référence correspond au coefficient de parc).	17
Figure 7. Croissance comparée des différentes conditions de naissain.....	17
Figure 8. Alternance d'immersion et émersion pour les conditions poches_35, 55 et 80 (gauche) et durée d'immersion comparée (droite)	18
Figure 9. Exemple de cycles thermiques printaniers entre 2006 et 2010 sur le site d'Agnas dans le bassin de Marennes Oléron. <i>Le signal « en clair » est celui du franchissement du seuil thermique de 16-17°C au delà duquel la période épidémique touchant le naissain d'huîtres, commence</i>	20
Figure 10. Relation entre cycle thermique et marégramme dans le bassin de Marennes Oléron. <i>Les histogrammes orange représentent les périodes de hausses thermiques, et les flèches, les périodes de vives eaux.</i>	21
Figure 11. Structure expérimentale	24
Figure 12. Ressource alimentaire comparée par la matière organique en suspension entre les deux conditions AA et SA des élevages.....	24
Figure 13. Exemple de signal de salinité dans un bac à immersion 50% (I.50). Deux marées basses sont simulées chaque jour.	25
Figure 14. Quatre conditions expérimentales avec référence des bacs (B) ou des plaques (P), de 1 à 16 pour les 4 conditions.....	25
Figure 15. Plaque expérimentale avec huîtres survivantes.....	26
Figure 16. spatialisation et chronologie des mortalités de naissain (date mort supposée).....	26
Figure 17. Mortalité cumulée, au terme de l'expérimentation, des différents lots (3 lots par condition : SA_I.50 ; SA_I.100 ; AA_I.50 ; AA_I.100). Bilan réalisé entre le 22 avril et le 15 juin.	27
Figure 18. Mortalité cumulée des différents triplicata (3 plaques par condition = couleur identique) pour les 4 conditions expérimentales (SA_I.50 ; SA_I.100 ; AA_I.50 ; AA_I.100).....	28
Figure 19. Taux de mortalité journaliers (TMJ) des différents triplicatas (3 plaques par condition = couleur identique) pour les 4 conditions expérimentales (SA_I.50 ; SA_I.100 ; AA_I.50 ; AA_I.100).....	28
Figure 20. Mortalité cumulée, au terme de l'expérimentation, des différents lots (conditions : SA_I.50 ; SA_I.100 ; AA_I.50 ; AA_I.100), sans la plaque 16 (P16) (incident technique survenu) et sans la plaque 3 (P3) (résultat atypique non expliqué).	29

Figure 21. Température de l'eau de mer en lien avec les mortalités en éclosérie (A), comparée entre les deux conditions d'immersion (50% et 100%) (B) et dans le bassin de Marennes Oléron sur le site d'Agnas (C) en avril – mai 2011.....	31
Figure 22. Suivi de croissance en surface d'une série de 30 huîtres issues de la plaque 2 (conditions SA_I.50) (pas de mortalité).....	32
Figure 23. Croissance comparée des 4 conditions expérimentales au cours du temps (plaques 2, 5 12 et 15) respectivement pour les conditions SA_I.50, SA_I.100, AA_I.50 et AA_I.100.....	32
Figure 24. Croissance comparée des 4 conditions expérimentales au cours du temps (plaques 2, 5 12 et 15) respectivement pour les conditions SA_I.50, SA_I.100, AA_I.50 et AA_I.100.....	33
Figure 25. Mortalité de naissains des 4 bacs au suivi individualisé de croissance par analyse d'images (plaques 2, 5 12 et 15) respectivement pour les conditions SA_I.50, SA_I.100, AA_I.50 et AA_I.100.....	33
Figure 26. Gain de croissance en surface, comparée entre huîtres vivantes et mortes durant les quelques jours qui précèdent la mort : plaque 8 (condition SA-I.100) et plaque 15 (condition AA-I.100).....	34
Figure 27. Mortalité de naissains dans les 4 bacs dédiés aux prélèvements d'huîtres pour les analyses d'organismes pathogènes (OsHV-1). <i>Les dates de prélèvements de naissain pour analyses sont marquées d'un petit losange orange.</i>	35
Figure 28. Charge moyenne en ADN viral [log (charge)] d'environ 15 huîtres par échantillonnage, pour les 4 plaques 1, 5, 9 et 13, associées aux conditions respectives suivantes : SA_I.50, SA_I.100, AA_I.50 et AA_I.100.....	35
Figure 29. Charge en ADN viral [log(charge)] d'environ 80 huîtres pour chacune des 4 conditions : SA_I.50, SA_I.100, AA_I.50 et AA_I.100 correspondant aux plaques pour 1, 5 9 et 13.....	36
Figure 30. Présence de <i>Vibrio splendidus</i> (UFC/mg), pour les 4 conditions expérimentales mises en œuvre (plaques 1, 5, 9 et 13, associées aux conditions respectives suivantes : SA_I.50, SA_I.100, AA_I.50 et AA_I.100, pour une quinzaine d'huîtres par échantillonnage (A). Moyenne et intervalle de confiance pour chacune des dates (B)....	37
Figure 31 Concentration en <i>Vibrio splendidus</i> (UFC/mg) et virus OsHV-1 (copies/mg), sur 2 plaques avec épisode de mortalité : 9 et 13 associées aux conditions expérimentales AA_I.50 et AA_I.100 (haut), et sur 2 plaques sans épisodes de mortalité : 1 et 5 associées aux conditions SA_I.50, SA_I.100 (~ 15 huîtres par échantillonnage).....	37
Figure 32. Rendement biologique représenté ici comme la biomasse (g) résultante dans chacun des bacs après au terme de l'expérimentation à mi juin.....	40
Figure 33. Taux de mortalité des triplicata des différentes conditions expérimentales (Tableau 6) ; <i>3 poches ont été perdues en ST2, 7 et 9</i>).....	45
Figure 34. Mortalités comparées selon les conditions expérimentales (ST01 à ST10).....	46
Figure 35. Comparaison des niveaux de mortalité atteints à partir d'un même lot de naissain selon plusieurs conditions d'élevage et de testage : sur le site d'Agnas en 2010 à partir d'un lot de naissain d'Arcachon, et dans le bassin de Marennes Oléron en 2011, à partir d'un lot de naissain du bassin de Marennes Oléron.....	51

Tableau 1. Conditions expérimentales	11
Tableau 2. Taux de mortalité comparé selon les 4 conditions expérimentales mises en œuvre	30
Tableau 3. Taux de prévalence en virus OsHV-1 des 4 conditions expérimentales d'élevage	36
Tableau 4. Fréquence de détection de <i>Vibrio splendidus</i> au cours des différents échantillonnages (avril à juin)	36
Tableau 5. Présence d'herpès virus (OsHV-1) dans l'eau de mer entrant en éclosion expérimentale (salle non traitée UV) entre le 22 avril et le 6 juin (<i>*on peut rajouter les dates du 4 et 11 mai issues d'une série d'analyses antérieure</i>)	39
Tableau 6. Conditions expérimentales mises en œuvre : stress chauds, froids, mixtes, témoins à coefficient d'élevage de 35 et 55	45
Tableau 7. Comparaison des taux de mortalité d'un lot de naissain issu du bassin de Marennes Oléron (NES_BMO_2011) et mis en œuvre dans un ensemble d'expérimentations en 2011	49
Tableau 8. Comparaison des taux de mortalité d'un lot de naissain issu du bassin de Marennes Oléron (NES_BMO_2011) selon différentes conditions expérimentales mises en œuvre en éclosion	50
Tableau 9. Comparaison des taux de mortalité d'un lot de naissain issu du bassin de Marennes Oléron (NES_BMO_2010) et mis en élevage sur le site d'Agnas dans le sud du bassin de Marennes Oléron	50

Annexe

Annexe 1. Le suivi de la croissance par analyse SIG

Dans le cadre des travaux menés par le laboratoire Environnement Ressources des Pertuis Charentais de la Tremblade, des suivis de croissance et de mortalité sont fréquemment réalisés sur les bivalves en élevage dans le bassin de Marennes Oléron. L'une des étapes de ces suivis consiste à effectuer des mesures biométriques sur les individus. La longueur, la largeur et l'épaisseur sont les paramètres mesurés classiquement à l'aide d'un pied à coulisse. Lors d'une étude sur le naissain, la prise de mesure au pied à coulisse s'avère peu pratique à mettre en œuvre. Nous avons donc testé la possibilité d'effectuer ces mesures sur des photographies numériques d'animaux à l'aide d'un logiciel de SIG. Ce système a l'avantage d'être peu stressant et assez précis pour les huîtres de petite taille à condition que les photographies numériques aient été intégrées sous le même référentiel.

L'expérimentation sur le naissain s'est déroulée en écloserie dans 16 bacs de 50 litres alimentés en eau de mer. Des lots de 150 individus faisant l'objet du suivi sont placés dans chaque bac. Pour faciliter le comptage et la prise de clichés, les animaux sont collés sur des plaques en pvc pouvant s'extraire aisément des bacs d'élevage. Les photographies numériques permettent un suivi individuel sans aucun marquage sur les huîtres, sous réserve que les clichés de chaque plaque se superposent parfaitement. Lors de la prise de vue des plaques, l'appareil (objectif) ainsi que la position de l'appareil (hauteur et inclinaison) par rapport à la plaque peuvent générer des déformations assez importantes sur les clichés. Une solution pour corriger ces défauts est de « redresser » ces photographies sous SIG et leurs d'attribuer une échelle réelle: c'est la rectification.

Elaboration des plaques support d'élevage.

Toutes les plaques en PVC sont découpées à une dimension identique soit 44 par 32 centimètres. Sur une plaque, on définit un repère orthonormé et l'on place 8 repères autour de la plaque et un point au centre. A l'aide d'une perceuse munie d'un petit foret les repères sont percés et reportés sur toutes les autres plaques. Les coordonnées réelles (en centimètre) par rapport au repère d'origine (bas et gauche de la plaque) sont enregistrées dans un fichier excel.

Procédure de rectification des photographies numériques des plaques avec le logiciel ArcMap9.3

Tous les traitements d'images sont effectués à l'aide du logiciel de SIG (Système d'Information Géographique) d'Esri ArcMap version 9.3. Ce logiciel permet de réaliser des géoréférences d'image numérique, comme par exemple des photographies aériennes numérisées. Cet outil va être utilisé pour traiter les photographies de plaques. Les 9 repères percés sur la plaque vont servir de points de contrôles et permettre de modéliser et d'attribuer une échelle réelle et identique à tous les clichés. La première étape est de créer un projet ArcMap avec un système de coordonnées orthonormé métrique, dans notre cas le Lambert_2_étendu. La photographie est ensuite importée dans une vue ArcMap (figure 1).

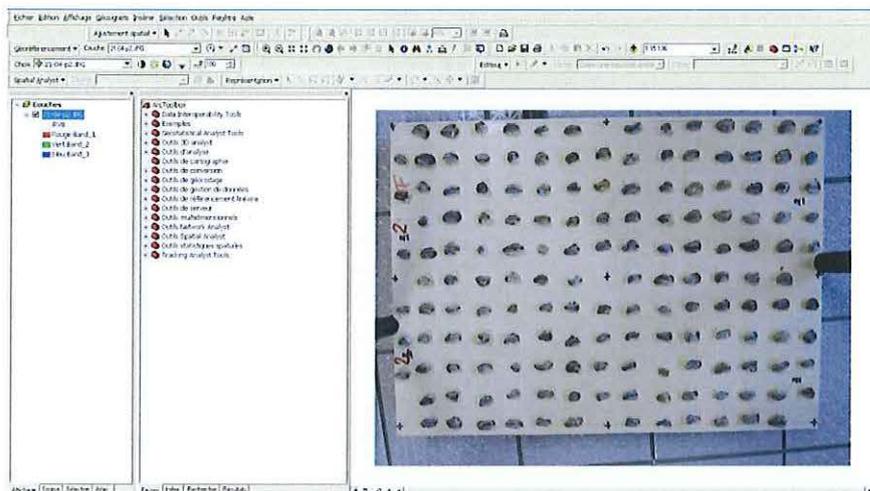


Figure 1. Photo de plaque PVC, avec huîtres collées, importée dans une vue ArcMap

Le fichier Excel contenant les valeurs des repères est chargé à l'aide de l'outil « ajouter des données xy ». Les 9 points apparaissent à l'écran, entourant la plaque (Figure 2). Ils vont servir de points de contrôle pour le référencement et permettre la rectification du cliché grâce au module de géoréférencement d'ArcMap 9.3.

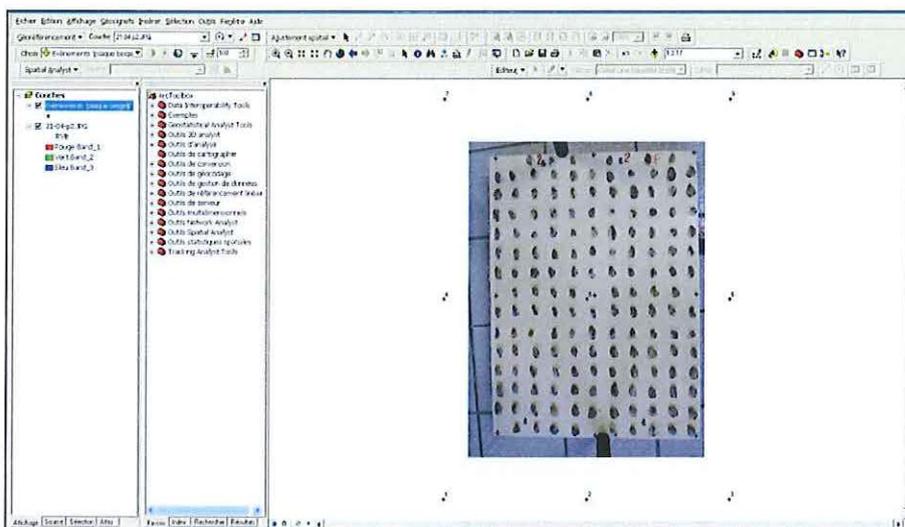


Figure 2. Affichage des points de contrôle et du cliché pour la rectification de l'image

Vérification du système

Le procédé a été vérifié en réalisant plusieurs clichés d'une même plaque sous différents angles de prise de vue. Après rectification, ces photographies de plaque sont importées dans une vue d'un projet ArcMap. Des outils permettent, par transparence ou balayage, de vérifier la superposition des animaux entre plusieurs plaques. Un autre outil permet de prendre des mesures, on peut alors comparer des mesures réelles effectuées au pied à coulisse sur des huîtres de la plaque à des mesures effectuées avec l'outil sur la photographie. Dans les deux cas la concordance spatiale entre les huîtres est très satisfaisante, les animaux se superposent parfaitement et ont les mêmes mensurations.

Identification des individus et estimation des surfaces.

A partir de la photographie rectifiée, on crée un fichier vectoriel de points ; chaque point correspondant à une huître précise dans la table attributaire. Ensuite un nouveau fichier vectoriel de polygone est défini. Une nouvelle entité est créée en entourant chaque huître de la plaque (Figure 3). Un champ surface est créé et les valeurs de surface sont calculées (outil « calculer la géométrie »).

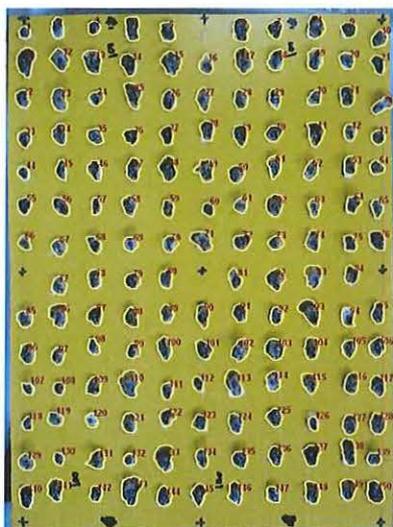


Figure 3 : Chaque huître identifiée précisément est entourée vectoriellement

Les différents fichiers d'une même plaque peuvent être très facilement liés (jointures et relations) et les surfaces de chaque individu comparées au cours du déroulement de l'étude. Il est alors possible de déterminer les évolutions de croissance et mortalités selon les dates et les différentes conditions de l'expérimentation.

L'originalité de ce travail est d'avoir adapté une technique de modélisation spatiale et géostatistique (calcul de surface) à une problématique de biologie en lien avec la croissance.

Vu la variabilité des formes des huîtres, l'estimation de leur croissance surfacique est plus précise que les longueurs, largeurs. Seul l'interprétation de l'imagerie numérique permet cela.

