

T H E S E

présentée à

L'UNIVERSITE DE CAEN

(U.E.R. des Sciences de la Vie et du Comportement)

pour obtenir le diplôme de

DOCTEUR DE SPECIALITE (3ème CYCLE)

EN BIOLOGIE ANIMALE

par

Bertrand POUVREAU

L'huitre plate *OSTREA EDULIS* L : maturité sexuelle  
contrôlée, élevage larvaire, croissance et mortalité,  
variabilité génétique.

Tome 1 : Texte

Soutenue le 15 juin 1977, devant la commission d'examen :

MM. P. LUBET	Président
W. STREIFF	Examineurs
P. SILBERZAHN	
N. WILKINS	Membre invité
	Professeur à l'Université de GALWAY - IRLANDE

Mes remerciements les plus sincères et les plus profonds s'adressent, en premier lieu, à Monsieur le Professeur LUBET, Directeur du Laboratoire maritime de LUC-sur-MER, qui m'a fait bénéficier à chaque instant de sa très haute compétence scientifique, de ses qualités pédagogiques et humaines, ainsi que de son aide désintéressée. Il m'a procuré les moyens nécessaires à la réalisation de ce travail.

Je remercie également Monsieur le Professeur STREIFF et Monsieur le Professeur SILBERZAHN, de l'Université de CAEN, qui m'ont fait l'honneur d'accepter de juger ce travail.

Je ne saurais oublier Monsieur le Professeur N. WILKINS de l'Université de GALWAY (Irlande) ainsi que son assistante, Madame le Dr. B. GOSLING, qui m'ont accueilli dans leur laboratoire pour m'initier à l'étude électrophorétique des isoenzymes.

Je leur exprime ma très vive reconnaissance.

Ma vive gratitude va aussi à Mr. le Dr. M. MASSON, maintenant Ingénieur au Commissariat de l'Energie atomique, qui m'a fait profiter de son expérience en matière de culture d'algues et d'élevage larvaire de Bivalves.

J'exprime ma profonde reconnaissance au Groupement des Ostréiculteurs et Mytiliculteurs de la Manche (GOMM), Messieurs ALLAIRE, LABADIE, LE FERON DE LONGCAMP, PINTEAUX, et tout spécialement à Monsieur HELIE, Président du C.I.C. qui a mis à ma disposition son matériel ostréicole, m'a toujours donné de judicieux conseils et fait bénéficier de son inestimable expérience dans le domaine de l'Ostréiculture.

Je remercie Mademoiselle DESVERGEE, Chef de Laboratoire de la Coopérative agricole de production de naissain (CAPRONA) à St-Vaast la Hougue, pour la réalisation de certaines expériences et pour son aimable collaboration. Elle a bien voulu me communiquer certains résultats inédits et m'autoriser à les faire figurer dans ce travail. Je lui exprime ma vive gratitude.

Je n'aurais garde d'oublier mes collègues du Laboratoire maritime de LUC-sur-MER qui m'ont, à différents titres, toujours facilité la tâche et en particulier à Monsieur et Madame LE GALL dont l'aide morale m'a été d'un très grand secours.

Je leur exprime mon amicale reconnaissance.

Enfin, je dois rappeler l'aide technique constamment fournie par Monsieur DESMASURES qui a réalisé de nombreux appareillages nécessaires à mes expériences ; je l'en remercie très sincèrement.

-----

# S O M M A I R E

---

## CHAPITRE I : MATERIEL & METHODES

I.- L'ESPECE ETUDIEE : <u>Ostrea edulis</u> (Linné) .....	p. 1
1.1. Position systématique	
1.2. Quelques éléments de la biologie de l'huître plate	
II - NUTRITION .....	p. 6
2.1. <u>Les méthodes d'investigation</u> .....	p. 7
2.1.1. Méthode directe	
2.1.2. Méthode indirecte	
2.2. <u>Les différents types d'alimentation</u> .....	p. 9
2.2.1. La matière dissoute	
2.2.2. La matière particulaire	
2.2.3. Les algues unicellulaires	
2.2.3.1. Espèces majeures	
2.2.3.2. Espèces mineures	
III - LES CULTURES d'ALGUES .....	p.13
3.1. <u>Les principaux paramètres à contrôler</u> .....	p.13
3.1.1. <u>L'eau</u>	
A) Filtrage - décantation	
B) Stockage	
C) Stérilisation	
a) Ultra-filtration	
b) Autoclavage	
c) Ebullition	
D) Enrichissement	
a) Milieux des algologues	
b) Milieux des éleveurs de larves	
c) Milieux des éleveurs d'animaux adultes	
3.1.2. <u>L'énergie lumineuse artificielle</u> .....	p.18
A) Lampe à incandescence	
B) Lampe mixte	
C) Lampe à fluorescence	
3.1.3. <u>Les récipients</u>	
3.1.4. <u>La salinité</u>	



3.1.5. L'aération

3.2. Méthodologie des cultures d'algues ..... p.22

3.2.1. La salle de culture

3.2.2. Les souches d'algues

3.2.3. La croissance contrôlée du phytoplancton

3.2.4. Le problème des écloseries

3.2.5. Le problème de l'automatisation

3.2.6. Le problème des pollutions bactériennes

IV - CONCLUSIONS

V - BIBLIOGRAPHIE ..... p.27

CHAPITRE II : LA MATURATION SEXUELLE CONTROLÉE OU CONDITIONNEMENT  
THERMIQUE des GENITEURS

I. LE CYCLE SEXUEL de L'HUITRE PLATE ..... p.33

II. LES GENITEURS ..... p.34

2.1. Origine

2.1.1. Manche

2.1.2. Atlantique

2.1.3. Méditerranée

2.2. Nettoyage

III. METHODOLOGIE du CONDITIONNEMENT THERMIQUE ..... p.37

3.1. Dispositif expérimental ..... p.37

3.1.1. L'expérience 1974-1975

3.1.2. L'expérience 1975-1976

3.2. Les paramètres à contrôler..... p.38

3.2.1. Eau

a) L'expérience 1974-1975

b) L'expérience 1975-1976

3.2.2. Air

3.2.3. Salinité

3.2.4. Température

a) L'expérience 1974-1975

b) L'expérience 1975-1976

3.2.5. Alimentation

a) L'expérience 1974-1975

b) L'expérience 1975-1976



- a) Par des produits chimiques
- b) Par des variations physiques du milieu
- c) Par des productions biologiques

2.6.2. Les méthodes de fixation en éclosérie

- a) Sur plaque
- b) Sur brisure

III - RESULTAT et CONCLUSIONS ..... p.71

- 3.1. Résultats
- 3.2. Conclusions

IV - BIBLIOGRAPHIE ..... p.74

CHAPITRE V : CROISSANCE et MORTALITE d'HUITRES d'ELEVAGE

I - ETUDE DE LA PERIODE DE PROTECTION ..... p.79

- 1.1. Elevage contrôlé (intensif).
- 1.2. Elevage en bassin (extensif)

II - ETUDE DE LA PERIODE DE CROISSANCE ..... p.82

- 2.1. Caractéristiques du parc d'élevage ..... p.82
  - 2.1.1. Type d'élevage
  - 2.1.2. Niveau d'élevage
  - 2.1.3. Milieu physico-chimique
- 2.2. Evaluation de la croissance et de la mortalité ... p.84
  - 2.2.1. Méthodologie des mesures ..... p.84
  - 2.2.2. Résultats ..... p.86
    - a) Période du 24 Juillet au 9 septembre 1975
    - b) " 9 septembre au 30 Octobre 1975
    - c) " 30 Octobre au 22 Janvier 1976
    - d) " 22 Janvier au 14 Avril 1976
    - e) " 14 Avril au 15 Juin 1976
    - f) " 15 Juin au 26 Août 1976
    - g) " 26 Août au 22 Octobre 1976
    - h) " 22 Octobre au 21 Décembre 1976
  - 2.2.3. Résultat global ..... p.88
    - a) Croissance
    - b) Mortalité
    - c) Rapport mortalité/croissance
    - d) Etudes comparées.

III - CONCLUSIONS ..... p.91

IV - BIBLIOGRAPHIE ..... p.93

CHAPITRE IV : ESSAI d'ANALYSE GENETIQUE de DIFFERENTES  
POPULATIONS d'Ostrea edulis

I -- MATERIEL & METHODES .....	p.95
1.1. Principe de la méthode	
1.2. Matériel utilisé	
1.3. Préparation des échantillons	
1.4. Préparation des gels d'amidon	
1.5. Electrophorèse	
1.5.1. Tension et intensité	
1.5.2. Durée	
II -- ETUDE ELECTROPHORETIQUE .....	p.98
2.1. Les isoenzymes étudiés	
2.1.1. les Isoenzymes de la glycolyse.....	p.98
- PGI	
- PGM	
2.1.2. Les peptidases .....	p.99
- LAP	
- Est F	
- MDH	
2.2. Utilisation des méthodes de statistique en génétique	p.101
a) Nombre d'animaux étudiés	
b) Liste et nombre des phénotypes	
c) Calcul de la fréquence des allèles	
d) Calcul du nombre théorique de phénotypes	
e) Conditions de validité	
f) Calcul du $\chi^2$	
g) Calcul du degré de liberté	
h) Calcul du nombre effectif d'hétérozygotes	
III -- RESULTATS et DISCUSSION .....	p.105
3.1. Résultats	
- PGI	
- PGM	
- LAP	
- Est <sub>F</sub>	
- MDH	
3.2. Discussion .....	p.107
a) Problème de la sélection	
b) Problème des éclosreies	
CONCLUSIONS .....	p.110
BIBLIOGRAPHIE .....	p.112
CONCLUSION GENERALE .....	p.115

## INTRODUCTION GENERALE

La pratique de la culture des huîtres et des moules est si ancienne que l'on a souvent tendance à oublier qu'elle représente la première tentative d'aquaculture marine.

L'ostréiculture s'est développée avec le succès que l'on sait depuis un siècle mais le problème de l'approvisionnement en naissain demeure souvent aléatoire, particulièrement pendant certaines crises graves détruisant les géniteurs (épidémies, intempéries, surexploitation des gisements naturels).

Depuis une vingtaine d'années, des essais plus ou moins fructueux se sont multipliés pour élever au laboratoire puis dans des établissements spécialisés nommés écloseries, des larves puis du naissain de mollusques. Aujourd'hui, les produits des écloseries sont entrés dans le circuit commercial et ce type d'aquaculture se signale par l'importance de ses tonnages et la qualité des individus produits.

Ce travail a été entrepris dans le cadre des Contrats CNEXO n° 74/1148 et 75/1395.

Nous nous sommes efforcés d'améliorer la connaissance des facteurs qui conditionnent la réussite de l'élevage des larves de l'huître plate (Ostrea edulis L.). En effet les écloseries industrielles effectuent souvent un travail de routine et répuignent à communiquer leurs méthodes d'élevage ou à comparer leurs résultats.

Il nous a paru important d'effectuer un travail de classement et d'analyse en essayant de proposer une méthode susceptible de la plus large application.

Les cultures d'algues unicellulaires, maintenant bien au point, nous ont permis de résoudre le problème fondamental de l'alimentation des larves et des animaux.

Nous avons essayé d'estimer ces besoins alimentaires afin de proposer des régimes adéquats.

Des essais ont été effectués au laboratoire afin de contrôler la maturation sexuelle des huîtres, dans le but d'obtenir des larves avant la saison de ponte et du naissain qui puisse effectuer une croissance importante avant l'hiver suivant.

Un essai d'augmentation du taux de fixation a été réalisé.

Les jeunes animaux obtenus après métamorphoses ont été élevés, dans des conditions les plus proches possibles de l'Ostréiculture traditionnelle. Nous nous sommes efforcés d'améliorer la technologie de cette culture, surtout au niveau du jeune naissain. Ces animaux ont été suivis deux années pendant lesquelles la croissance et la mortalité ont été estimées.

Enfin, le problème de la sélection des géniteurs se pose de façon évidente. Il importerait de retenir les animaux hétérozygotes les plus aptes à s'adapter aux différentes conditions de milieu.

Nous avons tenté, en étudiant le polymorphisme enzymatique au niveau de 5 loci génétiques, de donner une première approche de ce problème en faisant appel à des populations d'huîtres plates des côtes de France : Manche, Atlantique, Méditerranée.

CHAPITRE I

MATERIEL ET METHODES

## CHAPITRE I

### MATERIEL ET METHODES

#### INTRODUCTION :

Les biologistes qui désirent élever des espèces marines planctonophages sont souvent arrêtés ou handicapés dans leurs expériences par la difficulté de nourrir les animaux. En effet, les besoins alimentaires des animaux sont malconnus ou souvent totalement inconnus et l'eau de mer qui alimente les bass d'élevage ne contient pas suffisamment d'éléments nutritifs pour couvrir les besoins alimentaires des espèces élevées.

Pour les larves des Mollusques, il convient de fournir des algues unicellulaires de culture de façon à composer des régimes alimentaires adéquats. Il faut donc maîtriser la culture de ces algues au laboratoire (Production primaire). En effet, la plupart des échecs proviennent d'une mauvaise qualité de la nourriture ou d'un apport insuffisant.

Nous nous proposons dans ce chapitre, de donner une mise au point sur les méthodes de cultures d'algues unicellulaires employées pour la nourriture des larves d'huitres. En effet, l'application de ces techniques révèle leurs difficultés. Nous avons recherché les causes de ces aléas. Par ailleurs, les "recettes" employées dans les écloseries de naissain tiennent plus souvent de l'empirisme que d'études systématiques. Elles ne sont pas publiées car la plupart des éleveurs de naissain gardent jalousement leurs procédés. Nous pensons que cette mise au point rendra service aux biologistes qui désirent élever de petites quantités de larves de mollusques destinées à des recherches expérimentales.



I - L'ESPECE ETUDIEE : Ostrea edulis (Linné).

1-1 - Position systématique

L'huitre plate Ostrea edulis (Linné - 1766 Syst. nat. edit. XII p. 1148) appartient à la famille des Ostreidae. Le grand polymorphisme de la coquille des huitres et l'absence de dents à la charnière rend très difficile la systématique des Ostreidae actuels. En effet le seul examen du test ne permet pas toujours de différencier les espèces et de nombreuses variétés "ex forma" ou "ex colore" ont été souvent abusivement érigées en espèces ou sous espèces.

C'est à RANSON (1967) que revient le mérite d'avoir proposé une taxonomie fondée non seulement sur l'examen des coquilles mais aussi sur celui des parties molles et de la prodissoconque ou coquille larvaire. En effet, la morphologie de la prodissoconque est un bon caractère spécifique ainsi que la disposition et le nombre des denticules sur la charnière larvaire ou provinculum.

Cette étude des prodissoconques constitue donc chez les Ostreidae un élément important de la diagnose, car la prodissoconque est souvent conservée à l'apex de la coquille jeune. Elle permet également de déterminer les larves planctoniques.

RANSON (1967) distingue trois genres chez les Ostreidae :

- Genre Pycnodonta (Linné)

Diagnose : Prodissoconque équilatérale à apex central. Provinculum pourvu de 5 crénelures réparties sur toute la longueur. Ligament interne.

La coquille de l'adulte est inéquivalve et présente des chambres crayeuses. Valve gauche plus creuse que la valve droite qui est plate. Le rectum traverse le ventricule. Les femelles sont ovipares.

- Genre Ostrea (Linné)

Diagnose : Prodissoconque équilatérale à apex central.

Provinculum muni de 2 crénelures situées à chacune des extrémités. Ligament interne.

La coquille de l'adulte est inéquivalve et présente des chambres crayeuses à structure feuilletée.

Valve gauche plus creuse que la valve droite qui est creuse.

Le rectum ne traverse pas le ventricule. Les femelles sont larvipares.

- Genre Crassostrea (Lamarck)

Diagnose : Prodissoconque inéquilatérale. Provinculum muni de 2 crénelures à chacune des extrémités. Ligament interne de position antérieure, hors du provinculum.

La coquille de l'adulte est très inéquivalve, allongée et présente des chambres crayeuses à structure feuilletée.

Valve gauche parfois très profonde, valve droite très plate.

Le rectum ne traverse pas le ventricule et est situé dorsalement par rapport à ce dernier. Les femelles sont ovipares.

Récemment STENZEL (1971) a créé un nouveau genre distinct de Crassostrea en étudiant l'huitre de l'Océan Indien Crassostrea cucculata (Born). Ce genre Saccostrea se distinguerait du genre Crassostrea par une cavité umbonale plus profonde et sa tendance à donner des formes très creuses. Toutefois, comme le fait remarquer LUBET (1976), la prodissoconque de C. cucculata est du même type que celle des Crassostrea. Toutefois, les expériences d'hybridation interspécifiques effectuées par MENZEL (1967) ont montré un isolement génétique important de C. cucculata par rapport aux autres espèces du genre Crassostrea.

## 1-2 - Quelques éléments de la biologie de l'huitre plate.

### 1-2.1 - Répartition géographique.

Ostrea edulis L. possède une aire de répartition géographique très vaste allant de la Norvège à la Mer Noire (Mer du Nord, Atlantique, Méditerranée, Adriatique, Mer Noire).

Le polymorphisme de cette espèce et sa vaste répartition géographique ont incité les auteurs à créer des sous espèces qui ne sont plus valables aujourd'hui (BUCQUOY, DAUTZENBERG et DOLLFUS - 1887). Toutefois, certaines variétés "ex forma" se reconnaissent facilement. Tels sont par exemple le "pied de cheval" (ostrea hippopus - Lamarck 1819) de grande taille, caractérisant les huîtres âgées de gisements profonds ou les écophénotypes rencontrés en Méditerranée dans les baies peu profondes caractérisés par d'abondantes cotes lamelleuses sur la valve gauche (Ostrea edulis var. cristata (Born) - var. tarentina (Issel) var. adriatica (Lamarck)).

Il est toutefois vraisemblable que compte-tenu de sa vaste répartition géographique, l'huitre plate présente des populations différant par leurs exigences thermiques. Nous discuterons ultérieurement de ce problème qui pose l'existence de génotypes différents entre populations. En effet, il importe de savoir si ces différences sont de simples accommodats ou de véritables races génétiques.

### 1.2.2 - Répartition bathymétrique.

L'huitre plate se rencontre depuis les basses mers de vives eaux (Infralittoral supérieur) jusque dans le Circalittoral par des profondeurs pouvant atteindre - 50 m. Les huîtres sont fixées sur des substrats durs (rochers) mais les grands gisements naturels (bancs) se sont établis sur le détritique cotier, les jeunes larves se fixant de préférence sur la "dentelle" (jeune pousse de la coquille) des huîtres plus âgées.

Toutefois, il existe des individus qui peuvent se trouver à des profondeurs plus importantes. LUBET et AZOUZ (1969) ont signalé sur les côtes du Nord de la Tunisie des gisements situés au-dessous de - 50 m. Cette répartition bathymétrique anormale est peut être en rapport avec le fait que ces huitres restent ainsi dans une masse d'eau correspondant à leur préférendum thermique. (20-22°C en été); en effet les eaux superficielles peuvent atteindre des températures estivales de 25 à 28°C. La preuve a été apportée par ces auteurs qui ont introduit du naissain de ces huitres dans le Lac de Bizerte où la température estivale s'élève jusqu'à 28-29°C. Ces jeunes huitres sont mortes alors que des huitres d'origine italienne (Tarente) résistaient. Cela pose le problème des "races physiologiques". En effet, il existe le long des côtes d'Afrique du Nord, de Gibraltar au cap Bon (Tunisie) une lame d'eau d'origine atlantique. Ces huitres peuvent donc provenir de populations atlantiques aux préferendum thermiques différents de celui des populations méditerranéennes des côtes de l'Europe.

### 1.2.3 - Limites létales.

Les constatations précédentes posent le problème des limites létales. Celles-ci sont encore mal précisées.

a) Comme nous venons de le voir, certaines populations présentent vraisemblablement des préferendum thermiques différents.

La population que nous avons étudiée ("Pied de cheval" récoltée dans la Manche au large de St Vaast la Hougue) supporte mal les températures supérieures à 27-28°C. Elle est très sensible aux basses températures inférieures à 5°C. Elle est tuée par le gel. Son optimum thermique semble se situer entre 16 et 20°C. Ces données semblent être également valables pour d'autres populations de la Manche (Cancalle) ou de l'Atlantique (Auray, Arcachon).

b) Cette espèce est faiblement sténohaline. Son optimum salin se situe entre 32 et 36 ‰. Elle ne se reproduit pas dans les zones dessalées : (claires de Marennes). RENZONI (1962) situe les limites létales salines de l'huitre plate de Méditerranée entre 27 et 40 ‰ et celles de Hollande entre 23 et 35 ‰.

c) L'huitre plate réalise une meilleure croissance dans les zones moyennement agitées (faibles courants) et riches en phytoplancton. Elle ne supporte pas les eaux turbides et ne se rencontre pas dans les estuaires ou dans les eaux riches en apports tenigènes.

#### 1.2.4 - Sexualité.

L'huitre plate est hermaphrodite.

ORTON (1927 - 1933) a montré que l'huitre plate pouvait changer de sexe. On assiste ici à une maturation asynchrone de la lignée germinale, selon BACCI (1951). Toutefois, la majorité des individus des populations étudiées se comportent, au cours d'un cycle sexuel, comme des animaux gonochoriques, le changement de sexe intervenant ultérieurement. Nous précisons au début du Chapitre II (1 - les géniteurs) les séquences du cycle sexuel annuel des animaux étudiés.

Enfin nous rappelons que l'huitre plate est larvipare.

## II - NUTRITION

Mollusques filtrants ("suspension feeders"), les huitres se nourrissent de phytoplancton et de particules organiques retenues par les tractus ciliaires branchiaux. L'évaluation quantitative de la prise de nourriture par les animaux est difficile. Plusieurs types de méthodes expérimentales ont été mises en oeuvre.

## 2-1 - Les méthodes d'investigation.

2.1.1 - Les méthodes directes consistent à isoler par un montage le flux d'eau rejeté par l'animal (NELSON-1936, CHAPPUIS et LUBET-1966). Ces derniers auteurs déterminent ainsi un taux de pompage (= quantité d'eau traversant l'animal par heure et par gramme de poids sec du mollusque étudié) et un taux d'épuration (= quantité d'eau totalement épurée par heure et par gramme de poids sec du mollusque étudié). Le plus souvent, ces deux taux coïncident. Toutefois cette méthode est difficile à mettre en application et la contention imposée aux animaux fausse les résultats.

### 2.1.2 - Méthodes indirectes :

Cette méthode est fondée sur l'estimation de la diminution de la quantité de particules en suspension homogène dans l'eau, une partie de ces particules étant retenues par les mollusques filtrants. L'estimation de la diminution de la concentration en particules pendant un temps donné est obtenue par des mesures photométriques.

COLE et HEPPER (1954) emploient le rouge neutre qui forme une suspension colloïdale dans l'eau de mer mais le rouge neutre exerce après une heure une action toxique sur les animaux. MATHERS (1973) emploie des cellules végétales (algues unicellulaires) marquées au  $^{14}\text{C}$ . Il a pu ainsi apprécier la quantité d'aliment retenu pendant un temps donné.

WALNE (1972) apprécie par photométrie la diminution de concentration d'une suspension d'algues unicellulaires. Plus récemment WINTER (1976) emploie une méthode très voisine mais avec dispositif expérimental beaucoup plus élaboré. Les animaux sont maintenus dans une eau de mer contenant une concentration connue d'algues unicellulaires. Cette concentration tend à baisser du fait de la prise de nourriture.

La baisse de concentration est enregistrée par un photomètre qui est en rapport avec une série complexe de relais électriques commandant l'introduction d'une solution algale de réserve qui rétablit la concentration initiale. Les quantités introduites sont enregistrées et l'on peut estimer ainsi très exactement la prise de nourriture en fonction de différents paramètres (âge, sexe ou état sexuel, température, salinité, teneur en O<sub>2</sub> dissous ). Mais cette technique n'a pas encore été appliquée chez les huitres.

Aucune des méthodes employées jusqu'ici chez les huitres n'a donné de résultats satisfaisants et même souvent comparables. Les quantités de nourriture retenues par heure sont rapportées par les auteurs aux animaux de façon globale (par exemple : huitre de 5 cm, moule de 6 cm) et non par gramme de poids sec ce qui permettrait des comparaisons.

Par ailleurs, de nombreux paramètres agissent sur la filtration. WALNE (1972) montre que la filtration augmente pour l'huitre plate jusqu'à 20°C puis diminue ensuite. La salinité agit également de façon importante. CHAPPUIS et LUBET (1966) ont déterminé chez les moules l'existence de salinités optimales pour lesquelles la filtration est maximale. Enfin, le pH de l'eau de mer, sa turbidité, la taille des particules, les conditions hydrodynamiques ou certains facteurs internes (âge, état sexuel) peuvent faire varier les résultats et introduire des erreurs.

Par exemple dans l'application de la méthode indirecte, l'addition d'algues à une concentration donnée de graphite colloïdal (Dag 554) fait augmenter le taux de pompage ; le glucose a le même effet. Les animaux sont capables de détecter de très faibles différences dans le régime alimentaire qu'on leur propose. MATHERS (1974) comparant le taux de filtration de Crassostrea anquilata et d'Ostrea edulis trouve que cette dernière filtre deux fois moins, 600ml/h contre 1500 ml/h.



Il faut également souligner que ces taux maximum sont atteints au bout de 3 à 4 heures pour l'Ostrea et 1 à 2 heures pour la Crassostrea.

Le tableau ci-dessous donne les résultats obtenus chez Ostrea edulis par les Auteurs employant différentes méthodes :

Longueur en mm	T°C	Méthode	Débit ml/H animal	Référence
19 - 39	17,5	Indirecte	200 1000	ALLEN (1952)
-	18,5	Directe	4000	DRINNAN (1969)
70 - 86	12 - 13	Indirecte	100 à 700	MATHERS (1973)

2-2 - Les différents types d'aliments.

2.2.1 - La matière dissoute.

En 1928, YONGE avait estimé le taux de glucose prélevé à 20 mg/h par Ostrea edulis. COLLIER et al. (1953) ont montré que le taux de filtration était proportionnel à la teneur en sucres de l'eau de mer. Plus récemment PEQUIGNAT (1973) a mis en évidence que les Invertébrés étaient capables de prélever par leurs téguments les acides aminés présents dans l'eau de mer. BAMFORD et GINGLES (1974) font absorber in vitro du D-glucose aux branchies de Crassostrea gigas.

SWIFT et al. (1975) démontrent que le glucose et l'orthophosphate sont assimilés ; corrélativement PARK (1975) trouve que le taux de phosphate diminue sur les bancs d'huîtres. L'assimilation de la matière dissoute est réelle mais l'appréciation quantitative difficile. Pour l'élevage larvaire, il est préférable d'éviter ces apports qui peuvent entraîner rapidement une pollution bactérienne.



### 2.2.2 - La matière particulaire.

Microphages, les huîtres captent toute particule d'un diamètre de 3 à 10 u avec un optimum voisin de 5 à 6 u. PAULMIER (1972) PASTEELS (1968) montrent une absorption branchiale par pino-cytose chez Mytilus edulis, mais l'essentiel des particules est transporté par les tractus ciliaires branchiaux et des palpes labiaux dans le tractus digestif.

Une nourriture sèche, artificielle, facilement stockable serait très intéressante et économique, malheureusement tous les essais faits à ce jour ne sont pas prometteurs.

KUWATANI et NISHII (1968) nourrissent des huîtres perlières avec de la poudre de riz. CASTELL et TRIDER (1974) ont repris en partie ces essais sur les larves de moule. La croissance est toujours très faible par rapport aux témoins conservés en mer et de l'ordre de 1/10ème. Enfin l'apport de chair de crabe de farine végétale ou animale ne peut qu'augmenter une population bactérienne déjà difficilement contrôlable.

GABBOTT (1975) pense qu'avec la microencapsulation il sera possible de déterminer les besoins nutritionnels exacts de ces animaux, mais la microencapsulation présente des difficultés techniques qui n'ont pu être surmontées jusqu'ici.

En conclusion, nous ne possédons pas encore d'aliment artificiel capable de nourrir de façon valable les mollusques filtrants ou leurs larves. Par ailleurs, l'estimation des besoins quantitatifs et qualitatifs nutritionnels de ces animaux est à déterminer. Les seuls essais couronnés de succès ont été obtenus en se rapprochant le plus des conditions "naturelles" d'alimentation des bivalves qui ont été nourris avec du plancton végétal de culture (algues unicellulaires). Toutefois, dans ce domaine aussi, l'empirisme reste le plus souvent la règle.

LES ALGUES UNICELLULAIRES.

Bien que la croissance et la survie des larves de Lamelli-branches nourries avec des algues de culture soient inférieure à celles élevées avec du phytoplancton naturel, la culture d'algue est la seule solution apportée à ce problème nutritionnel au laboratoire ou en écloserie. Nous distinguerons les espèces algales majeures indispensables, cultivées toute l'année au laboratoire des espèces mineures, cultivées de façon accessoire. WALNE (1970) a donné une bonne étude des taux comparés de croissance du naissain d'huître nourri avec différentes souches d'algues (Tableau N° 1).

2.2.3.1 - Espèces majeures.

A la lumière des travaux de WALNE (1963-65-70) nous avons choisi une alimentation variée composée d'une algue verte, deux algues brunes et une diatomée.

PRASINOPHYCEAE : Tetraselmis suecica

HAPTOPHYCEAE : Isochrysis galbana

Monochrysis lutherii = Pavlova lutherii GREEN (1975)

BACILLARIOPHYCEAE : Skeletonema costatum

Tetraselmis suecica :

Algue verte à 4 flagelles de forme ellipsoïdale de 8 à 10  $\mu$  de long. Sa division se fait longitudinalement. Elle pousse très bien et se maintient en culture monospécifique pendant 4 à 5 mois. En automne la croissance est mauvaise ; il y aurait peut-être un changement dans la flore bactérienne ou des produits provenant des végétaux supérieurs, inhibant la division. Cette espèce peut se développer sur eau de mer synthétique. Très euryhaline, elle supporte des salinités de 10 à 60 ‰. Lors desensemencements on observe un arrêt de la fonction natatoire qui reprend après 2 ou 3 jours. La teneur en protéine est identique à celle de Monochrysis et supérieure à 50% du poids sec. (PARSONS et al. - 1961)

Isochrysis Galbana :

Algue flagellée jaune-brune de 4 à 6 u. Sa tenue en culture est de 2 à 3 mois. C'est l'aliment de référence pour WALNE (voir tableau n° 1). Bien étudiée par KAIN et FOOG (1958), elle exige de la cobalamine pour obtenir une croissance convenable.

Monochrysis lutheri :

Algue jaune-brune de 3 à 5 u à nage spirale. Sa tenue en culture est de 3 à 4 mois. Pour DAVIS et GUILLARD (1958), à forte concentration, elle réduirait la croissance des larves, ce qui serait peut-être dû à des produits toxiques qu'elle libèrerait.

Skeletonema costatum :

Diatomée en chaîne, brun-noir, de 5 à 7u de diamètre unitaire. Se divise toutes les treize heures. Un apport de silice de 40 mg/l est nécessaire. Elle contient avec le Monochrysis des hydrates de carbone très importants du point de vue nutritionnel.

2.2.3.2 - Les espèces mineures.

BACILLARIOPHYCEAE : Phaedactylum tricorutum

CHLOROPHYCAE : Chlorella stigmatophora

Dunaliella tertiolecta

Phaedactylum tricorutum :

Diatomée brun-noir en forme d'étoile à trois branches. Sa tenue est très bonne même sans apport de silice. Sa culture a été abandonnée à cause de son peu de valeur nutritive, l'irritation physique due aux épines de silice et par sa facilité à contaminer les autres souches.

Chlorella stigmatophora :

Algue verte de 1 à 2 u, non motile. Elle ne permet pas la croissance des larves, la membrane externe est trop épaisse pour être attaquée par leurs enzymes.

Dunaliella tertiolecta :

Algue verte flagellée ovoïde de 9 à 11 u au comportement voisin de celui de Tetraselmis. La croissance des larves est arrêtée si elles sont nourries exclusivement avec cette algue. En effet, CRAIGIE et coll. (1966) ont montré que Dunaliella excrétaient de l'hydrogène sulfuré.

Nannochloris sp.

Algue verte ronde, non motile, de petite taille (2 à 3 u). Elle permet la croissance des larves à forte concentration. De culture facile en eau stagnante, l'espèce est classée sous le nom de Diogenes sp. par BOURELLY (1972). ANTIA et coll. (1975) la classent parmi les EUSTIGMATOPHYCEAE.

Il faut signaler que la Navicula bleue (Navicula ostreariae) responsable de la coloration des huîtres de Marennes peut être également cultivée (DASTE et NEUVILLE - 1976) et la "marennine" ou pigment de l'algue est obtenue par un traitement simple.

III - LES CULTURES D'ALGUES.

3-1 - Les principaux paramètres à contrôler.

Ils sont nombreux et leur interaction n'est pas toujours évidente.

3.1.1. - Eau de mer.

Au laboratoire maritime de Luc-sur-Mer, l'eau de mer est prélevée à 300 mètres du rivage par pompage.

Le corps de pompe est en acier inoxydable et les canalisations en chlorure de polyvinyle. Stockée dans un réservoir en ciment, l'eau arrive à notre laboratoire chargée de débris d'algues et de boue. Aussi devons-nous la décantier et la filtrer. L'efficacité d'un filtre à sable dépend de sa surface de contact avec l'eau et de sa granulométrie ; seuls les cinq premiers centimètres sont efficaces. Nous avons conçu un filtre-décanteur pratique et peu coûteux. L'eau obtenue est claire, débarrassée de son zooplancton ; le débit est faible mais continu (20/lh).

#### A - Filtrage-décantation (Fig n°1)

L'eau arrive par la conduite distributrice, le robinet n°2 sert à régler le débit, le robinet n°1 à stopper l'écoulement. L'eau de mer se décante dans la partie  $D_1$  puis passe par la surverse  $S_1$ . Elle se décante dans la partie  $D_2$ , puis traverse la mousse de nylon et les 5 cm. de sable, une deuxième surverse  $S_2$  empêche le sable de passer par le siphon Sp. Le siphon alimente le réservoir  $D_3$  où un tube de sortie plus bas que la surverse  $S_2$  permet à l'eau filtrée de s'écouler librement. Le débit, fonction de la granulométrie du sable, est réglé de façon à ce que l'eau ne monte pas dans le compartiment F.

#### Nettoyages du filtre-décanteur.

##### - Nettoyage partiel.

En fermant le robinet  $R_3$ , l'eau monte dans la partie F. Lorsque le trop plein  $Tp$  fonctionne, on désamorce le siphon et on ouvre les nables 1, 2 et 3. Toute la boue accumulée dans la partie basse conique, est chassée par l'eau. La remise en service s'effectue en rebouchant les nables et en réamorçant le siphon dès que l'eau passe sur la surverse  $S_2$ .

- Nettoyage total.

On ouvre directement les nables, puis on sort le panier F afin de nettoyer le sable et la mousse de nylon à l'eau douce.

B - Stockage de l'eau filtrée

L'eau sortant du filtre-décanteur par un tube en PVC gris se déverse dans un fût en plastique alimentaire de 250 litres. Ce fût hermétique est recouvert de feuilles de plastique noires. Une pompe électrique, immergée à 10 cm. du fond assure la distribution à la demande. Un trop-plein nous protège des débordements. Ce réservoir est nettoyé de temps en temps, aucune poussée de phytoplancton n'a été enregistrée avec un tel système.

C - Stérilisation de l'eau.

Nous avons trois possibilités pour purifier bactériologiquement l'eau de mer :

- a) Ultra filtration forcée à l'air comprimé sur une membrane SARTORIUS de 10  $\mu$  puis de 0,2  $\mu$  qui retient les germes.
- b) Stérilisation par 10 ou 20 litres à l'autoclave 15 minutes à 120°C.
- c) Ebullition de l'eau en continu à 100°C par une résistance électrique de 500 W, débit de 5 à 8 litres par heure.

a) La première solution est coûteuse, de par l'achat d'un filtre Sartorius de grand diamètre et sa maintenance, le fût de 20 litres en inox a une tenue en eau de mer d'un an environ. Les filtres et pré-filtres sont chers. On ne peut filtrer qu'une cinquantaine de litres d'eau par jour. Si le fonctionnement est discontinu, le filtre constitue alors un foyer bactérien important.

Il est nécessaire d'avoir une alimentation en air comprimé à forte pression ( $7 \text{ Kg/cm}^2$ ). Les manipulations sont fastidieuses. D'autre part le filtre sert aussi à l'alimentation en eau des larves.

b) La deuxième solution nécessite l'acquisition d'un autoclave dont la tenue est d'environ 3 ans en atmosphère marine. La main d'oeuvre est importante pour une faible quantité d'eau stérilisée.

c) La dernière méthode, en service depuis 1976, nous permet de couvrir largement nos besoins à peu de frais. La salinité passe de 32-33‰ à 35-36‰, mais les algues employées sont euryhalines et poussent très bien à cette salinité. Méthode la moins coûteuse, elle nécessite peu de main d'oeuvre.

#### D - Enrichissement de l'eau.

Pour faire croître et multiplier des algues à forte densité, il faut enrichir l'eau de mer en sels minéraux et en vitamines. Les milieux de culture sont très nombreux, on peut distinguer :

a) Les milieux des algologues DROOP (1973), ANTIA et coll. (1975), KUENZLER et KETCHUM (1962), UKELES et ROSE (1976) qui travaillent en petit volume dans des conditions axéniques et avec des milieux riches en substances inductrices de la croissance ou de la multiplication comme le glyco-colle, les glycérophosphates, l'inositol, l'acide folique, et.c... qui apportent les atomes de carbone lors d'une croissance hétérotrophique mais dont les besoins sont différents pour chaque espèce.



b) Les milieux des éleveurs d'organismes planctoniques larvaires phytophages ; DAVIS (1958), WALNE (1963), PROVASOLI (1957), MATTHIESSEN et TONER (1966) qui travaillent sur des cultures algales non axéniques mais contrôlant la prolifération des bactéries et la valeur alimentaire des algues.

c) Les milieux des éleveurs d'animaux phytophages adultes ne tenant pas compte des bactéries présentes (ALFREDO de la CRUZ et ALFONSO -1975) : milieu à base de farine de poisson et de tournesol, de levure de bière, de nitrate et de phosphate, à ciel ouvert et en grand volume.

En général les expériences faites sur ces milieux ne sont pas reproductibles, les diatomées (Phaeodactylum) et les Navicules envahissant progressivement les cultures. On préfère enrichir l'eau de mer avec des engrais agricoles. DUNSTAN et MENZEL (1971) et RYTHER et coll. (1975) enrichissent l'eau de mer par des eaux résiduaires. La production est directement dépendante de l'intensité de la lumière solaire, de la température et de la richesse de l'effluent. L'urée est dégradée par les bactéries et les algues RYSZARD et coll. (1975) ; elle a également été utilisée.

De façon générale ces milieux contiennent :

du Fer  $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{FeSO}_4$ ,  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$   
de l'acide borique  $\text{H}_3\text{BO}_3$   
du chlorure de manganèse  $\text{MnCl}_2$   
des Phosphates  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$   
un chélateur EDTA- $\text{Na}_2$ , Tris (HCl)  
des vitamines  $\text{B}_{12}$ ,  $\text{B}_1$ , Thiamine  
des oligoéléments : Cu, Mo, Co, Zn, V  
de la silice ( $\text{Na}_2\text{SiO}_3$ ) pour les cultures de diatomées.



D'après MEISCH et BIELIG (1975) le vanadium à raison de 20 Mg/l augmenterait 6 à 6 fois la croissance des algues vertes en influençant la formation d'un précurseur de la chlorophylle.

Au laboratoire nous avons testé les milieux de ERD-SCHREIBER, PROVASOLI et WALNE. Ce dernier nous a donné de bons résultats. Ce milieu se conserve bien à 4°C et il est d'un emploi facile. Sa composition est donnée en annexe dans le tableau n° 2.

### 3.1.2. - Energie lumineuse artificielle.

La synthèse chlorophyllienne ne peut se faire qu'en présence de lumière. L'absorption par la chlorophylle est surtout intense dans la région du spectre comprise entre 3500 et 7600 Å avec deux maxima à 4300-4400 Å (Bleu et violet) et 6500 Å (Orange et rouge).

- Les lampes à incandescence émettent surtout dans le rouge et le proche infrarouge. L'énergie émise dans l'ultra-violet et le violet visible (3000-4400 Å) est très faible. Par ailleurs, leur durée de vie est faible, leur prix de revient est peu élevé mais la consommation à éclairage égal est plus forte qu'avec les autres sources. Leur échauffement est très important.

- Les lampes mixtes : Halogène - incandescence : leur spectre est assez bien équilibré ; il se compose de deux rayonnements : l'un émis par la décharge, riche en radiations bleues et l'autre émis par le filament, riche en radiations rouges. Leur prix de revient est plus important que pour les lampes à incandescence mais leur durée de vie est plus longue (x6) et l'échauffement est similaire.

- Les lampes fluorescentes : le maximum de leur émission se situe dans le jaune autour de 5500 Å. Les progrès de la technique ont permis de mettre sur le marché des lampes à spectre se rapprochant de la lumière solaire.

Leur durée de vie est importante, la consommation faible et elles dégagent peu de chaleur.

Nos unités de production sont constituées par quatre tubes fluorescents de 120 cm. de long, placés à 10 cm. des ballons de culture d'algues (40 à 80 litres). L'intensité lumineuse est de 4 x 40 W soit environ 3000 à 4000 lux, la majorité des espèces ayant leur optimum à partir de cette intensité (QURAIISHI et SPENCER - 1971). Les lampes à fluorescence donnant les meilleurs résultats sont : Gros Lux, True lite et Sylvania lumière du jour et d'horticulture (NATURA). Bien que l'énergie lumineuse artificielle donne de piètres résultats par rapport à l'énergie naturelle, elle a l'avantage d'être toujours présente et de donner des résultats prévisibles. L'énergie lumineuse est le facteur limitant de nos cultures. En effet, à partir d'une certaine densité de cellules, la lumière ne pénètre plus dans la culture, c'est le "Self-shading" des Auteurs anglo-saxons. Le manque de CO<sub>2</sub> n'est pas limitant (MYERS et coll. - 1951). Une minuterie règle la durée de l'éclairage (D/L=8/16) car nous estimons qu'un rythme nyctheméral est nécessaire pour permettre un repos physiologique aux algues.

### 3.1.3. - Les récipients.

La production primaire dépend directement de l'énergie lumineuse. Le captage de cette énergie est fonction de la surface d'éclairage. Seuls les récipients offrant une grande surface d'éclairage sont appropriés pour ce type de culture. Le nombre de cellules algales par microlitre est toujours plus important dans les petits volumes que dans les grands. Ceci se conçoit si l'on étudie le rapport :

$$\frac{\text{Surface éclairée en cm}^2 \text{ (S)}}{\text{Volume de la culture en L (V)}}$$

A mesure que le volume de culture augmente la surface éclairée diminue. Il est raisonnable de s'en tenir à un rapport S/V voisin de 100, c'est-à-dire un volume unitaire ne dépassant pas 20 litres, représentant un maximum pour une manutention facile.

Réipients	Eprouvette	Erlen	Erlen	Ballon	Ballon	Ballon
Volume total	50 cc	500	1000	6000	10 L	20 L
Volume utile	20 cc	250	500	5000	8 L	18,6
Rapport S/V	1284	520	415	174	129	92

Nous avons fait faire sur mesure par la Société DURAN SCHOTT, des ballons à col large pour faciliter leur nettoyage. Ces ballons de 20 litres en verre pyrex sont équipés de quatre tubes en verre (12/8mm.) traversant un bouchon de caoutchouc, l'ensemble est stérilisable. Le nettoyage se fait uniquement à l'eau et au sable, le rinçage à l'eau distillée. Aucun tube n'est coudé pour faciliter le nettoyage ; ils sont rodés et protégés par un tuyau en caoutchouc à leur embase. (Fig. n° 3) Tous les tuyaux de raccordement sont en rodhorsyl résistant à 120°C.

#### 3.1.4. - La salinité.

Toutes les espèces cultivées sont euryhalines. FAVERIS (1976) a étudié de façon systématique la dynamique de population cellulaire d'Isachrysis galbana, Monochrysis lutheri, Tetraselmis suecica et Chlorella stigmatophora à différentes salinités. Les résultats de ces recherches menées au Laboratoire Maritime de Luc sur Mer ont montré que la croissance s'effectuait de façon presque comparable entre les salinités de 20‰ et de 36‰.

Les rendements sont parfois accrus pour les basses salinités mais alors la teneur en protéines totales des algues est plus faible ce qui leur confère une valeur alimentaire moins importante que pour les cultures réalisées entre 30 et 36‰. MAC LACHLAN (1961) montre en effet une corrélation inverse entre la teneur en chlorophylle et la salinité. Le facteur salinité serait toutefois, d'après STRYRON (1976) plus important que la température mais une basse température limite selon MURCHELANO et BROWN (1969), la prolifération des bactéries.

Nos milieux de culture ont été réalisés à une salinité comprise entre 32 et 35 ‰, suivant le mode de stérilisation de l'eau de mer. Ces salinités se sont révélées excellentes pour la culture des souches algales employées.

### 3.1.5. - Aération des Cultures.

Le maintien d'une teneur satisfaisante en oxygène dissous, proche de la saturation, est assuré par le bullage d'air provenant du compresseur général du Laboratoire. Cet air est purifié sur filtre WHATAN de 0,2 u de porosité. Aucun dispositif d'injection de gaz carbonique n'a été utilisé, les travaux de GRANT et TURNER (1969) ayant montré l'inutilité d'un tel apport pour le *Tetraselmis*. Le CO<sub>2</sub> n'est pas un facteur limitant, sa mise en service onéreuse et les dispositifs peu fiables. L'aération pourvoit aux brassages de la culture, empêche la sédimentation des espèces non motiles et réduit le phototactisme sur les parois, favorisant la pénétration de l'énergie lumineuse. De plus, les variations du ph sont faibles avec une bonne aération. Il faut compter 0,5 litre d'air par litre de culture et par minute.

### 3.2.2. - Problème des souches d'algues.

La provenance des souches d'algues est diverse : Plymouth, ISTPM, CERBOM, COB (1). Les souches en éprouvette sont éclairées dès réception. L'ensemencement se fait, en employant les techniques des microbiologistes, dans des Erlenmayer de volume croissant (Figure n° 2). La souche se développe plus ou moins rapidement sans aération selon la densité cellulaire initiale de l'inoculum. Le contrôle de l'augmentation du nombre de cellules se fait par comptage sur hématimètre de Malassez après fixation au liquide de Lugol. Cette méthode a l'avantage d'être la plus simple, la moins coûteuse et l'observation au microscope nous informe sur les conditions de la culture; contamination, motilité (avant fixation), taille, propreté, etc... Des ensemencements peuvent être réalisés de ballon à ballon avec une plus grande quantité d'inoculats. De l'eau de mer enrichie, en ballon de 10 litres, sert à alimenter les cultures. Même si aucun prélèvement de culture n'est fait, il faut ajouter du milieu de culture pour éviter une interruption de la multiplication par manque d'éléments nutritifs et une élévation du ph.

### 3.2.3. - La croissance contrôlée du Phytoplancton.

Le terme de "croissance" est pris ici dans le sens de l'augmentation du nombre de cellules algales dans les cultures. L'étude de la dynamique de la population cellulaire permet de mettre en évidence les phases suivantes :

- Une phase d'adaptation de la souche cultivée ou phase de latence, de temps variable suivant l'âge et la condition physiologique de la souche algale.

---

(1) ISTPM : Institut Scientifique et Technique des Pêches maritimes -  
Nantes

CERBOM: Centre de recherche de bactériologie marine - Nice

C.O.B : Centre Océanologique de Bretagne.

- Une phase d'accélération correspondant au début des multiplications
- Une phase exponentielle où le taux des multiplications est maximum ("blooming" des auteurs anglo-saxons).
- Une phase stationnaire où le taux de multiplication est nul.
- Une phase de déclin correspondant à la sénescence des individus.

L'aspect de cette courbe est fonction de :

- la densité algale de l'inoculum
- l'espèce considérée (LEROUX - 1975)
- du volume et la forme du récipient de culture

La durée de la phase d'adaptation dépend de :

- la densité algale de l'inoculum
- la qualité du milieu de culture
- la vigueur de l'aération
- la température et la salinité.



Dans la phase exponentielle de multiplication se situe la zone d'exploitation optimale de la culture. Les algues se divisent en moyenne toutes les 24 heures alors que les diatomées se multiplient deux ou trois fois dans le même temps.

Lors d'une absence de quelques jours les cultures sont diluées après prélèvements massifs. Ces cultures demandent beaucoup de soins et de main d'oeuvre. On peut diviser les manipulations en trois catégories :

- Entretien des souches.
- Production d'inoculat.
- Production de nourriture.

Les résultats de nos cultures d'algues sont exposés dans le tableau n° 4.

#### 3.2.4. - Problème des écloséries

Il faut fournir aux larves de mollusques assez de nourriture de bonne qualité et d'un prix de revient le plus bas possible. La méthode de culture est la même qu'au laboratoire pilote mais elle comporte une quatrième catégorie de manipulations. C'est la méthode discontinue de production d'algues en grand volume.

L'eau, filtrée à 0,5 ou 1  $\mu$ , est enrichie et une vingtaine de litres de cultures d'algues sert d'inoculum. La croissance est menée jusqu'au "bloom" en 8 à 10 jours. La main d'oeuvre est très importante pour la manipulation et le nettoyage des bacs qui peuvent atteindre plus de 5000 litres. De plus, pour ce type de production, il faut nécessairement plusieurs bacsensemencés par roulement avec des espèces différentes (FLASSCH et NORMANT - 1973).

#### 3.2.5. - Problème de l'automatisation.

Les petites unités de production sont susceptibles d'être automatisées: CARPENTIER (1968), PALMER et coll. (1975). Nous avons réalisé une petite unité permettant de nourrir du naissain en continu pendant une dizaine de jours.

D'autre part, elles présentent un grand intérêt en ce qui concerne la qualité des algues fournies. Nous préférons les petites cultures fermées en continu plutôt que les grands volumes ouverts en discontinu, méthode plus simple mais non la plus efficace (TAUB - 1971) et non la moins chère en lumière artificielle (voir le tableau n° 5). En éclosérie, la lumière solaire, gratuite, est la seule valable pour les grands volumes.

### 3.2.6. - Problème des pollutions bactériennes.

Les inter-actions algues-bactéries sont encore assez mal connues, certains produits d'origine bactérienne semblent nécessaires à la croissance et à la division des algues (PRIEUR et LEROUX -1975). D'après UKELES and BISHOP (1975) certaines substances d'origine bactérienne stimulant la croissance des algues seraient en fait dues à l'hydrolyse de l'agar-agar. Les vitamines seraient également d'origine bactérienne. Nous avons eu de bonnes cultures d'Isochrysis à partir du moment où l'eau de mer n'était plus filtrée mais autoclavée. Ainsi, les bactéries sont détruites mais elles ont libéré des substances utiles à la croissance, alors qu'avec une filtration à 0,2  $\mu$  les bactéries sont éliminées mais non détruites. De même pour le Skeletonema les résultats sont meilleurs si la culture se fait à l'air libre. Une flore bactérienne associée à la diatomée est nécessaire : JOHNSTON (1962), BERLAND et coll. (1970) remarquèrent que plusieurs espèces d'algues ont une meilleure croissance en milieu non-axénique. ALFONSO (1974) préfère le milieu de MIQUEL-MATUE-HUDINAGA (1942) contenant de l'agar-agar et pas de vitamines au milieu de WALNE en condition naturelle (lumière solaire et aération).



#### IV - CONCLUSIONS

L'entretien des salles de cultures d'algues demande des soins importants. En plus, les pannes sont fréquentes car les paramètres à contrôler sont nombreux. Malgré tout il a été possible d'obtenir des algues de qualité et en quantité suffisante pour la poursuite de nos expériences. (Tableau 4)

Bien que nos cultures, en continu sur milieu de CONWAY, ne fussent pas axéniques, aucune pollution bactérienne ne se manifesta. Seuls quelques incidents techniques s'opposèrent à la bonne marche de l'installation. En éclosérie la fourniture d'algues en grand volume (extensif) ne s'avère valable que sous des conditions d'éclairage naturel.

BIBLIOGRAPHIE

- ALLEN J.A. (1962) - Preliminary experiments on the feeding and excretion of bivalves using Phaeodactylum labelled with  $^{32}$ P. J. Mar.Biol.Ass., U.K., 42 ; 609-623.
- ALFREDO de la CRUZ et ALPHONSO E. (1975) - Cultivo masivo de algas planctonicas marinas mediante fertilization. CIENCA, 8 (17), 1-25.
- ALFONSO E. (1974) - Effect of certain factors in the culture of 3 marine flagellates. Ciencia. Invest.mar. (Havana), 7 (8) 1-24.
- ANTIA N.J., BISALPUTRA T., CHENG J.Y. et KALLEY J.P. (1975) - Pigment and cytological evidence for reclassification of Nannochloris oculata and Monallantes salina in the Eustigmatophyceae. J. Phycol. II (3), 339-343.
- ANTIA N.J., BERLAND B.R., BONIN D.J. et MAESTRINI S.Y. (1975) Comparative evaluation of certain organic and inorganic sources of nitrogen for phototrophic growth of marine microalgae. J. mar. biol. Ass. U.K., 55, 519-539.
- BACCI G. (1951) - Ermaphroditismo ed intersessualita nei Gastropodi e Lamellibranchi. Arch. Zool. Ital. 7, 57-151.
- BAMFORD S.Y. et GINGLES R. (1974) - Absorption of sugars in the gill of the japanese oyster Crassostrea gigas. Com. biochem. and physiol. A, 49, 637-446
- BERLAND B.R., BONIN D.J. et MAESTRINI S.Y. (1970) - Study of bacteria associated with marine algae in culture III Organic substrates supporting growth. Mar. Biol., 5, 68-76.
- BERLAND B.R., BONIN D.J., MAESTRINI S.Y., LIZARRAGA-Partida M.L. et ANTIA N.J. (1976) - The nitrogen concentration requirement of D-Glucosamine for supporting effective growth of marine microalgae. J. mar. Biol. Ass. U.K., 56, 629-637.
- BOURELLY (1972) - Les algues d'eau douce, initiation à la systématique. Tome I Les Algues Vertes - PARIS, édition N. Boulie et Cie, 572 pp.
- BUCQUOY E., DAUTZENBERG P. et DOLLFUS G. (1888) - Les Mollusques marins du Roussillon, T.II - Pélécy-podes, Baillère Ed. Paris, 1-889, 99pl.

CARPENTER E.J. (1968) - A simple, inexpensive algal chemostat. Limnol. Oceanogr., 13, 720-721.

CASTELL J.D. et TRIDER D.J. (1974)- Preliminary feeding using artificial diets to study the nutritional requirements of oysters Crassostrea virginica. J. Fish. Res. Board. Canada 31 (1) 95-99.

CHAPPUIS J.G. et LUBET P. (1966) - Etude du débit palléal et de la filtration de l'eau par une méthode directe chez Mytilus edulis et Mytilus galloprovincialis Mlk. Bull. Sté. Linn. de Normandie, 7, 210 - 214.

COLE H.A. et HEPPER B.T. (1954) - The use of neutral red solution for the comparative study of filtration rates of lamellibranches. J. Cons. perm. int. Explor. Med. 20, 197-203.

COLLIER A., RAYS.M., MAGNITZKY A.W. et BELL J.O. (1953) - Effect of dissolved organic substances on oysters. Fish. Bull. U.S. Fish and wildlife serv. 53 (2), 167-185.

CRAIGIE J.S. (1969) - Some salinity-induced changes in growth, pigments, and cyclo-exanotetrol content of Monochrysis lutheri. J. FISH. Res. Bd. Can., 26 (II), 2959-2967.

DASTE P. et NEUVILLE D. (1976) - Recherches sur le verdissement des huîtres en claires. Fondement d'une technologie nouvelle. Pêche marit. Fr., 55 (1175), 93-98.

DAVIS H.C. et GUILLARD R.R. (1958) - Relative value of ten genera of micro-organisms as foods for oyster and clam larvae. U.S. Fish. Wild. life. Serv. Fish. Bull., 136, 293-304.

DRINNAN R.E. (1964) - An apparatus for recording the water pumping behaviour of lamellibranches. Neth. J. Sea Res., 2 223-332.

DROOP M.R. (1973) - Some thoughts on nutrient limitation in algae. J. Phycol., 9, 264-272.

DROOP M.R. (1974) - The nutrient status of algal cells in continuous culture. J. Mar. Biol. Ass. U.K., 59, 825-855.

DUNSTAN W.M. et MENZL D.W. (1971) - Continuous cultures of natural populations of phytoplankton in dilute, treated sewage effluent. Limnol. Oceanogr., 16 (4), 623-632.

- FAVERIS R. - (1976) - Production primaire en continu avec réalisation d'une chaîne élémentaire à deux niveaux : Phytoplancton et pélicypodes filtrants. Rapport Contrat Ecotron n° 75/5138, CNEXO. CAEN - 1 - 90.
- FLASSCH J.P. et NORMANT Y. - (1974) - Mise en place d'une unité de production d'algues au Centre Océanographique de Bretagne : Premiers résultats. Publications du CNEXO Serv. Actes de Colloque n°1.
- GABBOTT P.A., JONES D.A., NICHOLS D.H., LANGTON R.W. et HELM M.M. (1975) - Studies on the design and acceptability of micro-encapsulated diets for marine particulate feeders. II Bivalve molluscs and fish larvae. 10<sup>th</sup> European symposium on marine biology, OSTEND, Belgium. (in press)
- CRAIGIE J.S., Mc LACHLAN J., MAJAK W. (1966) - Photosynthesis in algae. II Green algae with special reference to Dunaliella sp. and Tetraselmis sp. Can. J. Bot., 44, 1247-1254.
- GRANT B.R. et TURNER I.M. (1969) - Light stimulated nitrate and nitrite assimilation in several species of algae. Com. Biochem. Physiol., 29, 995-1004.
- GREEN (1975) - The fine-structure and taxonomy of the haptophycean flagellate Pavlova lutheri (Droop) com. Nov. (= Mono-chrysis lutheri) J. Mar. Biol. Assoc. U.K., 55 (4), 785-793.
- HUDINAGA M. - (1942) - Reproduction, development and rearing of Penaeus japonicus Bate. Jap. J. Zool., 10 (2), 305-393.
- KAIN J.M. et FOGG G.E. (1958) - Studies on the growth of marine phytoplankton II Isochrysis galbana Parke. J. Mar. Biol. Assoc. U.K., 37, 781-788.
- KERN R.B. (1973) - A survey of some potential artificial foods for juvenile oysters. Thesis Univ. Wash Seattle Wash, 67pp.
- KUENSLER E.J. et KETCHUM B.H. (1962) - Rate of phosphorus up take by Phaedactylum tricorutum. Biol. Bull. mar. Biol., 123 (1), 134-145.
- KUWATAN Y. ET NISHII T. (1968) - La poudre de riz, aliment pour l'huître perlière. Bull. Jap. Soc. Fish. 34 (3), 191-204.
- LEROUX S. (1975) - Valeur comparée de diverses algues monocellulaires pour l'alimentation des larves de Mytilus edulis L. en élevages expérimentaux. Thèse de 3ème cycle. Université de Bretagne Occidentale.

- LUBET P. (1976) - L'espèce chez les Lamellibranches marins. Mém. Soc. Zool. France T.1, 341-374.
- LUBET P. et AZOUZ A. (1969) - Etude des fonds chalutables du Golfe de Tunis, Bull. I.N.S.T.O.P Salammbô 1 (3) : 87-111.
- Mc LACHLAN J. (1941) - The effect of salinity on growth and chlorophyll content in representative classes of unicellular marine algae. Can. J. Microbiol. 7, 399-406.
- MASSON M., de LONGCAMP K et LUBET P. (1974) - Nutrition artificielle des larves de bivalves. Intérêt et problèmes. Colloque sur l'aquaculture Actes de colloques n° 1.
- MATHERS N.F. (1973) - Carbohydrate digestion in Ostrea edulis L. PROC. MALACOL. SOC. LONDON, G.B., 40, 5, 359-367.
- MATHERS N.F. (1974) - Some comparative aspects of filter-feeding in Ostrea edulis L. and Crassostrea angulata Lam. (Mollusca : Bivalvia). Proc. Malacol. Soc. London, G.B., 41 (2), 89-97.
- MATTHIESSEN G.C. et TONER R.C. (1966) - Possible method of Martha's Vineyard Duke's Country, Massachusetts. The marine research foundation, mc. 1-138.
- MENZEL R.W. (1967) - Hybridation in species of Crassostrea. Roc. Natur. Shellfish Ass., 58 (6). (Abstract).
- MIESCH H.U. et BIELIG H.J. (1975) - Effect of vanadium on growth, chlorophyll formation and iron metabolism in unicellular algae. Arch. microbiol. 105 (1), 77-82.
- MURCHELANO R.A. et BROWN C. (1969) - Bacterial flora of some algal foods used for rearing bivalve larvae. J. Fish Res. Board Can. 26 (10), 2760-2764.
- MYERS J., PHILLIPS J.N. et GRAHAM J.R. (1951) - On the mass culture of algae. Pl. Physiol. 26, 539-548.
- ORTON J.H. (1927) - Observations and experiments on the sex change in the European oyster (ostrea edulis L.) J. Mar. Biol. Ass. U.K., 14, 967-1045.
- ORTON J.H. (1933) - Observations and experiments on the sex change in the European oyster (ostrea edulis L.) Ibid., 16 1-54.

- PADILLA G.M. (1975) - Population growth in Tetraselmis suecica (Chlorophyceae) in controlled environment. Rev. Biol. Mar. Valparaiso, 15 (3), 287-296.
- PALMER F.E., BALLARD K.A. et TAUB F.B. (1975) - A continuous culture apparatus for the mass production of algae. Aquaculture, 6, (4), 319-331.
- PAULMIER G. (1972) - Seston, PPK et micro PPK en rivière d'Auray, leur rôle dans le cycle biologique des huîtres Ostrea edulis L. Rev. Inst. Trav. Pêches marit. 36 (4) 373-499.
- PARK C.K. (1975) - Study on the characteristic distribution of Phosphate in Jinhae Bay. Bull. Korean Fish. soc. 8 (2), 68-72.
- PARKE M. et DIXON P.S. (1976) - Check-list of British marine algae Third revision. J. Mar. Biol. Ass. U.K. 56, 527-594.
- PARSONS T.R., STEPHENS K; et STRICKLAND J.D.H. (1961) - On the chemical composition of eleven species of marine phytoplankters. J. Fish. Res. Bd. Canada. 18 (6), 1001-1016.
- PASTEELS J.J. (1968) - Pinocytose et arthrocytose par l'épithélium branchial de Mytilus edulis. Z. Zellforsch. mikrosk. Anat. 92. 339-359.
- PEQUIGNAT E. (1973) - A kinetic and autoradiographic study of the direct assimilation of amino acids and glucose by organs of the mussel Mytilus edulis L. Mar. Biol. 19, 227-244.
- POMEROY L.R. et HASKIN H.H. (1954) - The uptake and utilization of phosphate ions from sea water by the american oyster, Crassostrea virginica. Biol. Bull., 107, 123-129.
- PRIEUR D. et LE ROUX S. (1975) - Comparative growth of some algal populations and their associated bacteria in laboratory cultures. 10<sup>th</sup> European symposium on marine biology OSTEND, Belgium. (in press)
- PROVASOLI L., Mc LAUGHLIN J.J.A. et DROOP MR. (1957) - The development of artificial media for marine algae. Arch. Mikrobiol. 25, 392-428.
- QURAIISH F.O. et SPENCER C.P. (1971) - Studies on the growth of some marine unicellular algae under different artificial light sources. Mar. Biol., 8, 60-65.
- RANSON G. (1967) - Les espèces d'huîtres vivant actuellement dans le monde, définies par leurs coquilles ou prodossoconques. Rec. Trav. Inst. Pêches Marit. Paris, 31 (3), 127-146.



RYSZARD J.C. OWCZAREK J. et MATUZIAK K. (1975) - Degradation of urea by bacteria and algae in mass algal cultures. Acta microbiologia Polonica Series B. Microbiologia Applicata, 7 (4) 231.

RYTHER J.H., GOLDMAN J.C., GIFFORD C.E., HUGUENIN J.E., WING A.S., CLARNER J.P., WILLIAMS L.K. et LAPOINTE B.E. (1975) - Physical models of integrated waste recycling marine polyculture systems. Aquaculture, 5 (2), 163-178.

STYRON C.E., HAGAN T.M., CAMPBELL D.R., HARVIN J., WHITTENBURG N.K., BAUGHMAN G.A., BRANSFORD M.E., SAUNDERS W.H., WILLIAMS D.C., WOODLE C., DIXON N.K. et Mc NEILL C.R. (1976) - Effects of temperature and salinity on growth and uptake of <sup>65</sup>Zn and <sup>137</sup>Cs for six marine algae. J. mar. Biol. Ass. U.K., 56 (1) 13-20.

SWIFT M.L., CONGER K., EXLER J. et LAKSHMANAN S. (1975) - Uptake of glucose and orthophosphate by the American oyster. Life Sci., 17 (11), 1679-1684.

TAUB F.B. (1971) - Algal culture as a source of feed. Proc. Ann. Workshop Worle Mariculture Spc. 1970, 101-117.

UKELES R. (1961) - The effect of temperature on the growth and survival of several marine algal species. Biol. Bull., 120, 255-264.

UKELES R. et BISHOP J. (1975) - Enhancement of phytoplankton growth by marine bacteria. J. Phycol. USA, 11 (2), 142-149.

UKELES R. et ROSE W.E. (1976) - Observations on organic carbon utilization by photosynthetic marine microalgae. Mar. biol. 37, 11-28.

UKELES R. (1976) - Cultivation. 4/Cultivation of plants. IN Marine Ecology - Ed. U. KINNE - 3 (1), 367-466.

WALNE P.R. (1963) - Observations on the food value of seven species of algae to the larvae of *Ostrea edulis* L.I - Feeding experiments J. mar. Biol. Ass. U.K., 43, 767-784.

WALNE P.R. (1970) - Studies on the food value of nineteen genera of algae to juvenile bivalves of the genera *Ostrea*, *Crassostrea*, *Mercenaria* and *Mytilus*. Fishery Invest., Lond., Ser. 2, 26 (5), 1-62.

WINTER J. (1976) - Feeding experiments with *Mytilus edulis* at small laboratory scale. Proc. 10<sup>th</sup> Symposium on marine Biology (sous Presses)

CHAPITRE II

LA MATURATION SEXUELLE CONTROLÉE ou  
CONDITIONNEMENT THERMIQUE DES GENITEURS



## CHAPITRE II

### LA MATURATION SEXUELLE CONTROLÉE ou CONDITIONNEMENT THERMIQUE DES GÉNITEURS

Le conditionnement thermique des géniteurs ou maturation sexuelle contrôlée est le processus de stimulation thermique des gonades des géniteurs (Lamellibranches adultes) permettant d'obtenir des gamètes en dehors de la saison de reproduction. Elle permet d'avancer la date de ponte chez les espèces ovipares ou la libération des larves chez les espèces larvipares.

#### I - LE CYCLE SEXUEL DE L'HUITRE PLATE.

Le cycle sexuel de l'huître plate est actuellement bien connu. MARTEIL (1960) a précisé les dates de ponte pour les populations du Morbihan et nous avons pu retrouver en Manche (populations de St Vaast la Hougue) une période de ponte s'étendant de juin au début du mois de septembre (POUVREAU - 1975).

1.1. - Le cycle sexuel s'arrête en automne et en hiver mais les tubules gonadiques restent toujours bien visibles sur coupes histologiques. La gamétogénèse est arrêtée ou très peu active. Les tubules sont séparés entre eux par un abondant tissu de réserve constitué par des cellules vésiculeuses renfermant du glycogène et des globules lipidiques situés à la périphérie. C'est le Stade I.

1.2. - Le cycle sexuel reprend en février de façon plus ou moins rapide suivant les années. On note alors dans les tubules la présence de nombreuses spermatogonies chez les mâles ou ovogonies chez les femelles, ainsi que de jeunes ovocytes en cours de prévitellogénèse.

Le diamètre des tubules gonadiques augmente et de nouveaux tubules se forment en écartant les cellules vésiculeuses. C'est le stade II.

1.3. - La gamétogénèse devient intense : spermatogénèse et spermiogénèse chez les mâles, ovogénèse chez les femelles avec vitellogénèse.

Cette période s'étend de mars à la fin du mois de mai. Parvenue à maturité sexuelle (juin), la gonade atteint un volume important. La plupart des cellules vésiculeuses se sont lysées et ont libéré des métabolites qui ont permis l'édification des gamètes. Les individus murs et prêts à pondre sont aisément repérables car une pression sur la masse viscérale suffit à faire couler le sperme ou les oeufs par les orifices génitaux. C'est le Stade III.

A partir de juin, nous rencontrons dans la population des femelles larvipares, la couleur de ces larves véligères devenant de plus en plus grises lorsqu'elles se rapprochent du moment où elles seront libérées. Le nombre de femelles "grises" atteint un taux maximum en juillet mais on en trouve en août et même au début de septembre. Il semble que si les conditions sont favorables, l'animal puisse, après une ponte précoce, restaurer sa gonade et effectuer une deuxième ponte plus tardive. Par ailleurs, certains animaux (ORTON - 1927 - 1933) pourraient changer de sexe après la première émission de gamètes ou à la fin de la période de reproduction.

## II - LES GENITEURS.

La période de reproduction de l'Ostrea edulis L. s'étendant en Manche de la fin juin au début septembre, deux possibilités expérimentales d'essais de conditionnement thermique s'offraient à nous :

- Allonger le cycle sexuel annuel en provoquant des pontes supplémentaires en octobre, novembre.

- Déclencher l'apparition de pontes précoces (avant celles de la saison normale de reproduction) en diminuant la longueur de l'arrêt hivernal des gonades (Stade 0)

- La première possibilité (allongement du stade III : période de reproduction) n'offre pas d'avantages. En effet, du fait de l'effort physiologique dû aux pontes précédentes, l'animal produit moins d'oeufs et de moins "bonne qualité", sans doute par une moindre accumulation de vitellus. Les taux de fécondation sont moins élevés et les larves plus fragiles. Par ailleurs, le naissain obtenu devra passer un hiver en mer, dans des conditions défavorables. La croissance sera faible du fait des basses températures et de la diminution du phytoplancton. Enfin, tout le personnel des exploitations ostreicoles est employé pour les expéditions d'huîtres à l'approche des fêtes de fin d'année et pourra se consacrer difficilement au travail supplémentaire occasionné par les soins à donner à ce naissain.

- Par contre la seconde possibilité n'offre que des avantages. Les pontes précoces donnent des larves plus nombreuses et moins fragiles. Le naissain ainsi obtenu après métamorphose profite du réchauffement des eaux et du "bloom" planctonique du printemps, donc d'une nourriture abondante. Les écloseries peuvent également bénéficier d'un personnel d'appoint, après la période d'expédition de la fin de l'année où 60% de la production d'huîtres est commercialisée.

## 2.1. - Origine des géniteurs (Fig n° 4)

2.1.1. - Manche.

Ce sont des animaux "sauvages" provenant de gisements naturels et récoltés par dragage au large de Saint Vaast la Hougue (Manche). Ces huîtres sont désignées localement sous le nom de "pied de cheval" ; ce sont des individus de grande taille. Quelques individus ont également été récoltés lors de fortes marées équinoxiales, autour de l'île de Tahitou (St Vaast la Hougue).

D'autres huîtres ont été prélevées sur les côtes du Calvados, par plongée sur les épaves des bateaux coulés en 1944, au large de St Laurent sur mer.

2.1.2. - Atlantique.

Nous nous sommes procurés des huîtres de Bretagne (Rivière de Belon - Locmariaquer) et des Gravettes du Bassin d'Arcachon.

2.1.3. - Méditerranée.

Nous avons récolté des huîtres de grande taille fixées naturellement sur les pieux des parcs à moules de la baie de Tamaris, dans la rade de Toulon (Var).

Ces différents lots ont été immédiatement reparqués à St Vaast la Hougue, dans des "pochons" (sacs en matière plastique, disposés sur des tables ostréicoles, au niveau des basses mers de moyennes vives eaux (Infralittoral) et y ont séjourné plusieurs mois afin de compenser les effets du transport.

2.2. - Nettoyage des géniteurs.

Avant le conditionnement les huîtres sont totalement débarrassées de leurs épibiontes par nettoyage manuel et par un bain d'eau douce à 5 ppm d'hypochlorite de sodium. Les lots sont faits par classes de tailles et par origine.

### III - REALISATION EXPERIMENTALE DU CONDITIONNEMENT THERMIQUE.

Deux expériences ont été réalisées, l'une de décembre 1974 à mars 1975, l'autre de décembre 1975 à mars 1976. Compte tenu de l'espace occupé par les dispositifs d'élevage et des soins constants nécessités par les animaux, il nous a été impossible comme nous l'avions d'abord envisagé de réaliser plus de séries expérimentales.

#### 3.1. - Dispositifs expérimentaux (Fig. n° 5)

##### 3.1.1. - Première expérience (du 13-12-1974 au 4-03-1975)

Un bac de 500 l en matière plastique blanc (destiné au stockage de produits alimentaires) est préalablement "biologigé". (1) Son fond fait un angle de 10° avec le substrat horizontal et la cuve est remplie ras bord grâce à une alimentation constante en eau de mer. Le trop plein (S) coule dans un collecteur (C) contenant un tamis à mailles de 100 µ destiné à recueillir les larves. A 25 cm du fond du bac, un tamis à grosses mailles (30 mm) supporte une quinzaine d'huîtres (Pied de cheval provenant de St Vaast la Hougue) de grande taille (10 à 15 cm de longueur). Le bac est oxygéné et thermostaté, la température étant maintenue constante à 20° C. L'accès de la salle d'élevage est limitée aux seules personnes assurant l'entretien car les vibrations du sol empêchent les animaux de filtrer.

##### 3.1.2 - Deuxième expérience (du 06-12-1975 au 2-03-1976)

Le même dispositif expérimental a été employé pour cette deuxième expérience, mais avec quelques modifications.

---

(1) - La "biologisation" est un néologisme que nous employons pour désigner le traitement qui consiste à immerger dans l'eau de mer pendant quelques mois, tout le matériel qui servira ensuite à l'élevage d'organismes marins.

Le trop plein a été ici réalisé avec une prise d'eau au fond du bac car les larves se rassemblent en surface dès qu'elles sont émises, selon le procédé préconisé par STEPHENSON et HELM (1971).

Par ailleurs, nous avons testé dans 6 bacs différents, 6 lots d'huîtres qui ont été soumis à des températures de conditionnement proches de celles que ces animaux rencontrent dans la nature au moment de l'émission des larves.

Ces températures sont données dans le tableau suivant :

N° bacs	Origine huîtres	Nombre d'huîtres	Températures de Conditionnement
1	St Vaast	6	17
2	"	6	18
3	"	6	19
4	"	6	20
5	Tamaris	7	20
6	Locmariaquer	8	20

Nous espérons, en appliquant cette technique, déterminer les températures d'émission des larves en fonction de l'origine des géniteurs.

### 3.2. - Les paramètres contrôlés au cours de ces expériences.

#### 3.2.1. - L'eau de mer :

##### a) Expérience 1974-1975.

L'eau est grossièrement filtrée sur un tamis de 60 M pour enlever tous les copépodes. Un débit de 100 litres/heures est assuré pendant la nuit (15 heures) soit un renouvellement de l'eau du bac tous les 4 heures, soit un volume d'eau de 25 à 30 litres par animal.

Pendant le jour le débit est diminué ou arrêté (alimentation des huîtres).

Le nettoyage du bac se fait par aspiration partielle de l'eau du fond par siphonage ou par pompe électrique.

b) L'expérience 1975-1976.

L'eau de mer est d'abord réchauffée puis distribuée dans les bacs. Un filtre décanteur a été installé à l'arrivée d'eau de mer à débit constant de 50 litres par heure.

3.2.2. - Oxygénation.

Une rangée de diffuseurs est alimentée par deux compresseurs d'air. Cette technique permet une bonne oxygénation et un courant ascendant qui rend plus homogène la température des bacs. Un débit de 100 l par heure assurait la saturation en oxygène.

3.2.3 - Salinité.

Pendant la durée des deux expériences, la salinité de l'eau de mer a été voisine de 32‰, salinité se situant dans la zone saline optimale d'Ostrea edulis L. (voir Chap. I : 1.2.3 : limites létales)

3.2.4. - Température.

a) L'expérience 1974-75

Deux résistances électriques immergées, de 1500 W chacune, ont maintenu une température de 20°C. Bien que ces résistances, en acier inox, soient enrobées de polyester pour éviter leur corrosion, leur durée de vie est limitée à environ six mois. Une seule résistance pouvait fournir la température demandée. La régulation se faisait par thermocontact via un relais. Par la suite, des résistances à protection en verre de 500 W furent installées en remplacement.



L'énergie consommée est fonction de la température de l'eau de mer. Il faut compter environ :

- 1 Watt par litre pour augmenter la température de 16 à 20°C
- 2 " " " " " " " " " 12 à 20°C
- 3 " " " " " " " " " 8 à 20°C
- 4 " " " " " " " " " 4 à 20°C

Soit pour un bac de 450 litres, 4 résistances de 500 Watts à l'époque de la plus basse température (7°C).

Ainsi, en cas d'arrêt du fonctionnement du thermocontact la température de l'eau ne dépasse pas celle de la limite létale. Les résistances sont suspendues à quelques centimètres du fond, dans le courant créé par l'élévation des bulles d'air. La température de départ était de 11°C et les animaux ayant subi cette élévation rapide de température n'ont pas été éprouvés : (mortalité nulle dans la population).

#### b) L'expérience 1975-1976.

Le même installation (thermocontact, relais, résistance à protection en verre) fut réinstallée mais l'eau était d'abord réchauffée dans un bac de 50 litres et distribuée ensuite dans les bacs de conditionnement.

La température de départ a été de 12°C et progressivement augmentée jusqu'à 20°C. Durant ces expériences des pannes électriques de courte durée n'ont pas empêché la réussite du conditionnement. Une fois la gamétogénèse amorcée, elle continue à se faire même si les conditions sont temporairement mauvaises (GIMAZANE et LUBET - 1972). La température de la salle était à 15 ± 1°C.

#### c) Besoins en eau des écloséries

Les besoins en eau chaude sont importants dans les écloséries mais un échangeur thermique est onéreux et peu fiable de par sa construction métallique. (1)

---

(1) Toutefois des échangeurs de ce type ont été employés avec succès au Japon : Aquaculture Center, Baie de AOMORI.



De plus son emploi demande une filtration plus poussée car il se colmate vite et la "cuisson" des vases et du silt provoque des dégagements de gaz nocifs. L'eau de mer est appauvrie en oxygène par son passage. Les conduites d'eau chaude doivent être en polyéthylène et non en PVC qui à partir de 28°C relargue des sels nocifs. (CARMIGNANI et BENNET - 1976).

Les échangeurs en verre utilisés dans l'industrie chimique et pharmaceutique peuvent apporter une amélioration dans la qualité de l'eau mais leur prix est prohibitif.

L'eau de mer réchauffée est parfois récupérée à partir des centrales thermiques à combustibles fossiles mais l'eau des centrales nucléaires ne peut être employée à cause des contaminations possibles par les radioéléments, les mollusques filtreurs ayant un pouvoir de concentration très important (POUVREAU et AMIARD - 1974). En écloserie, le chauffage direct de l'eau de mer s'avère le plus simple, fiable, souple d'emploi, bon marché à l'achat et au fonctionnement.

### 3.2.5. - Alimentation.

Les apports alimentaires fournis par l'eau de mer sont nettement insuffisants pour permettre le déroulement d'une gamétogénèse normale chez ces animaux (LUBET - 1959, GABBOTT et WALKER - 1971, GABBOTT et STEPHENSON - 1974).

#### a) L'expérience de 1974-75

Les seules algues disponibles au Laboratoire étaient Tetraselmis Monochrysis, Phaeodactylum et Chlorella.

Espèce	Nbre de cellules par	Quantité donnée p/j	Nbre de cellules donné	Volume Cellule	Volume total
<u>Tetraselmis</u>	1000	3 l.	$3 \times 10^9$	223	$969 \times 10^9$
<u>Monochrysis</u>	8000	3 l.	$24 \times 10^9$	30	$720 \times 10^9$
<u>Phaeodactylum</u>	18000	2 l.	$36 \times 10^9$	90	$3240 \times 10^9$
<u>Chlorella</u>	15000	2 l.	$30 \times 10^9$	27	$810 \times 10^9$
			$93 \times 10^9$		$5739 \times 10^9$

Soit par 1 d'eau de mer :

$$\frac{\text{Nb de cellules donné} = 93 \times 10^9}{\text{Volume d'eau} = 450 \times 10^6} = \frac{93 \times 10^3}{450} = 200 \text{ cellules par microlitre}$$

Soit le volume d'algues disponible par animal :

$$\frac{\text{Volume total d'aliment} = 5739 \times 10^9}{\text{Nbre d'animaux} = 12} = 478 \times 10^9 \mu^3 \text{ d'algues par l'huître}$$

b) L'expérience de 1975-76

Les espèces disponibles au Laboratoire étaient Tetraselmis, Monochrysis, Isochrysis et Skeletonema.

Espèce	Nbre de cellules par <i>M</i>	Quantité donnée p/j	Nbre de Cellules donné	Volume Cellule	Volume donné en <sup>3</sup>
<u>Tetraselmis</u>	1000	3 l.	$3 \times 10^9$	323	$969 \times 10^9$
<u>Monochrysis</u>	8000	3 l.	$24 \times 10^9$	30	$720 \times 10^9$
<u>Isochrysis</u>	10000	3 l.	$30 \times 10^9$	57	$1710 \times 10^9$
<u>Skeletonema</u>	9000	1,5 l.	$13,5 \times 10^9$	1390	$13765 \times 10^9$
			$84 \times 10^9$		$22164 \times 10^9$

Soit par l :

$$\frac{\text{Nbre de Cellules donné} = 84 \times 10^9}{\text{Volume d'eau} \quad 240 \times 10^6} = 300 \text{ cellules par microlitre.}$$

Soit par animal :

$$\frac{\text{Volume total d'algues} = 22164 \times 10^9}{\text{Nbre d'animaux} \quad 39} = 568 \times 10^9 \mu^3 \text{ d'algues par huître}$$

On peut considérer que les conditions de l'alimentation ad libitum étaient très semblables durant les deux expériences. L'apport naturel n'a pas été estimé. Bien que MORTON (1971) montre l'existence d'un rythme alimentaire et digestif chez Ostrea edulis en fonction des marées et de l'alternance du jour et de la nuit, nos animaux n'ont été nourris qu'une seule fois par jour. D'après LANGTON et Mc KAY (1974) les huîtres s'y adaptent très rapidement.

La fourniture en algues est faite quotidiennement vers 09,00 H, après arrêt de la circulation d'eau et siphonage d'un volume d'eau équivalent. Les échecs sont attribués à une mauvaise nutrition (MATTHIESEN et TONER - 1966). Le maintien des géniteurs dans les meilleures conditions possibles pendant la maturation des gonades et des larves est le facteur le plus important pour obtenir par la suite des larves viables (HELM et coll. - 1973).

#### IV - L'EMISSION DES LARVES.

##### 4.1. - La fécondation et le développement larvaire intrapalléal.

Chez Ostrea edulis L., la fécondation est intervalvaire et la femelle garde les larves pendant 8 à 10 jours. Les premiers stades du développement sont de couleur jaunâtre mais le stade véligère est atteint environ 60 heures après la fécondation. Les larves ont une couleur de plus en plus "gris ardoise" au fur et à mesure qu'elles deviennent plus âgées. Lorsqu'elles sont émises, elles mesurent de 90 à 190  $\mu$ .

La fertilité d'*Ostrea edulis* L. est importante mais moins que celle des *Crassostrea*. COLE (1941) ou WAINE (1964) admettent des chiffres de 2 millions de larves par hôte de 10 cm de longueur. Mais les variations individuelles sont importantes. Dans nos expériences nous avons obtenu des émissions larvaires de l'ordre de un million de larves par individus de 10 cm. La fertilité semble augmenter avec la taille des parents, les jeunes huîtres ne donnant que peu de larves. Par ailleurs, les huîtres âgées sont presque toutes stériles ou n'émettent qu'un petit nombre de larves.

#### 4.2. - Les émissions de larves, leur rythmicité.

Pendant nos expériences, nous avons pu observer que les émissions de larves correspondaient aux phases lunaires, nouvelles et pleines lunes.

Des élevages plus importants entrepris avec DESVERGEE (1976) à l'écloserie de la CAPRONA (St Vaast la Hougue) nous ont permis de vérifier la réalité de ce rythme sélénien qui avait déjà été constaté dans la nature par KORRINGA (1947, 1957) chez l'Huître plate. Il est intéressant de constater que, dans nos expériences, les huîtres sont maintenues à températures constante (18 à 20°C) et sont affranchies du rythme des marées. Or l'influence du rythme lunaire est indiscutable comme le prouve le tableau ci-dessous.

Date d'émissions des larves 1976	Lunaison PL et NL
24 février	29 février NL
2 mars	29 février NL
18 mars	16 mars PL
2 avril	30 mars NL
14 avril	14 avril PL
3 mai	29 avril NL
24 mai	29 mai NL
9 juin	12 juin PL

Dates d'Emissions larvaires d'*Ostrea edulis* L. conditionnées (20°C) et conservées dans des bacs à niveau constant (Écloserie de la CAPRONA ST VAAST LA HOUGUE).

Des résultats très voisins ont été obtenus à partir de l'huître tropicale Saccostrea (Crassostrea) forskali (BORN). EISAWY (1974) note que cette huître qui vit dans des zones où les marées sont très faibles ou nulles émet ses gamètes au moment des forts coefficients de marées (nouvelles lunes ou pleines lunes).

En conclusion, l'émission des larves de l'huître plate, dans les conditions naturelles ou en écloserie semble liée à un rythme d'origine lunaire. Enfin rappelons que chez l'huître plate (Ostrea edulis L.) la durée de la vie larvaire pélagique est d'environ de 12 à 15 jours.

#### 4.3. - Induction de l'émission des larves en écloserie.

##### 4.3.1. - Emissions spontanées.

Nous avons observé dans nos élevages que dans environ 75% des cas, les émissions de larves avaient lieu en fin de soirée, fait déjà constaté par WALNE (1966) et toujours après une distribution d'algues. Tout se passe comme si la réplétion du tractus digestif favorisait l'expulsion des larves.

Ces émissions spontanées donnent des larves plus âgées que celles qui sont obtenues par des émissions induites par chocs thermiques. Ces larves sont récoltées sur les tamis de surverse (Exp. 1974-75) ou dans les bacs de stimulation. Les mailles des tamis mesurent environ 100 ce qui permet d'éliminer les larves de petite taille. (1)

##### 4.3.2. - Emissions induites par des stress thermiques.

Cette technique fut imaginée puis développée par LUBET (1959) pour stimuler l'émission des gamètes des Mytilides puis des Ostreidae.

---

(1) Nous avons fabriqué tous nos tamis en toile à bluter la farine avec une armature en PVC.

Un brusque changement thermique, entre les limites létales, suivi d'un retour à la température initiale déclenche chez les animaux mûrs, l'émission de gamètes.

Elle est actuellement employée de façon courante dans les écloseries de Mollusques.

Nous avons réalisé cette induction sur notre matériel d'élevage, en stimulant Ostrea edulis par un brusque changement thermique.

a) La plupart des animaux ont été traités en les immergeant dans de l'eau de mer filtrée portée à 30°C avec un retour progressif à la température initiale. L'émission de larves a lieu lorsque la température atteint 20°C.

b) Quelques animaux ont subi un brusque refroidissement en les plaçant au réfrigérateur (5 à 10°C) puis en les remettant dans de l'eau à 20°C. L'émission larvaire a été également constatée.

Ces constatations confirment celles de LUBET (1959) ou de DINAMAN (1973) qui a remarqué qu'un abaissement de la température entraîne chez l'huître tropicale Crassostrea glomerata une émission des gamètes.

En conclusion : Au point de vue pratique, il est possible de combiner ces résultats expérimentaux avec les observations précédentes sur le rythme lunaire des émissions de larves. Il est donc recommandé, en écloseries, d'effectuer les stimulations thermiques à l'époque des plus forts coefficients de marées ou lorsque des émissions naturelles ont été observées.

Par ailleurs, afin d'isoler les produits de chaque géniteur, il est indispensable de conserver séparément dans un cristalliseur individuel, chaque huître stimulée.

V - DUREE DU CONDITIONNEMENT THERMIQUE DES GENITEURS.  
RESULTATS EXPERIMENTAUX.

5.1. - Sex-Ratio.

COLE (1942) a montré que chez Ostrea edulis, la lignée germinale mâle se développe en premier au cours du premier cycle sexuel, bien qu'il apparaisse secondairement quelques ovocytes qui n'arrivent pas à maturité ("Ambisexual primary phase"). Les animaux évoluent ensuite vers le sexe mâle ou femelle, mais celui-ci peut changer ultérieurement.

Malgré le petit nombre d'individus de nos élevages, nous avons observé une sex-ratio de 85 mâles pour 15 femelles. MILLARD (1963) estime la sex-ratio d'Ostrea edulis dans les conditions naturelles à 75 mâles pour 25 femelles. Mais l'ensemble de ces recherches serait à reprendre en étudiant des échantillons significatifs.

LE DANTEC (1967) apporte des données très précieuses sur le cycle sexuel de Crassostrea angulata (Lamarck) du Bassin d'Arcachon. Quelles que soient les différentes classes d'âges étudiées, le nombre de mâles est toujours très supérieur à celui des femelles, pour les huîtres cultivées, alors que c'est le contraire pour les huîtres des stations naturelles. Toutefois, à St Vaast la Hogue, le nombre de femelles de Crassostrea gigas (Thunberg) est plus important chez les huîtres élevées que celui des mâles. (1)

Il semblerait donc que, chez ces animaux qui sont susceptibles de changer de sexe, les facteurs externes puissent modifier la sex-ratio (température, nutrition, salinité). Il est donc logique de penser qu'un élevage en éclosérie, dans des conditions artificielles, puisse la modifier en donnant un excès de mâles, ce qui a d'ailleurs été observé dans d'autres écloséries (Irlande, Japon) (1).

---

(1) Informations données par Monsieur le Professeur P. LUBET.



D'après HAMMEN (1969), LORI et al (1972), des stéroïdes produits par l'animal seraient susceptibles d'accélérer la glycogénolyse. MORI et al (1972) ont obtenu expérimentalement cet effet en injectant à l'huître japonaise (C. gigas) de l'oestradiol et prétendent avoir modifié la sex-ratio.

Les travaux déjà anciens de ORTON (1933) suggéraient que le développement du sexe femelle chez Ostrea edulis nécessitait un métabolisme plus important, donc de meilleures conditions de vie en élevage ou dans les stations naturelles.

## 5.2. - Résultats expérimentaux.

### 5.2.1. - Expérience entreprise pendant l'hiver 1974-1975.

Le conditionnement débuta le 13 décembre 1974, la première émission a été observée le 4 mars 1975. Le 15 janvier et le 9 février deux huîtres ont été sacrifiées pour apprécier l'état de maturation de la gonade. Les deux individus étaient de sexe mâle avec des spermatozoïdes fonctionnels. Le 4 mars, nous pratiquâmes sur la moitié des animaux restant un forage à travers la valve supérieure pour faire une biopsie de la gonade, selon la technique de VEITCH (1974). Cinq individus étaient mâles et la femelle restante se mit à émettre ses larves dès son retour dans l'eau de mer. Dans les chapitres suivants, nous étudierons le devenir de ces larves.

### 5.2.2. - Expérience entreprise pendant l'hiver 1975-1976.

La mise en conditionnement débuta le 6 décembre 1975. Mais fin janvier 1976 nos lots furent rassemblés et envoyés à l'écloserie du COMM à St Vaast la Hougue car nous avions d'autres expériences en cours. Ces lots d'huîtres se mirent à émettre des larves le 2 mars. Malheureusement, il ne nous a pas été possible d'étudier la température d'émission des larves dans les conditions naturelles de ces différents lots.



Ces animaux subirent un choc thermique pour induire l'émission des larves.

### 5.2.3. - Durée du conditionnement.

Si on se reporte au tableau n° 6 il s'avère que plus on se rapproche du moment où le cycle sexuel recommence dans les stations naturelles plus la période de conditionnement est courte. Tout se passe comme si Ostrea edulis subissait une sorte d'"hibernation". LOOSANOFF (1962) explique cette hibernation par la nécessité pour les huîtres pendant la période de repos sexuel de se débarrasser des gamètes résiduels du précédent cycle sexuel. Il faut également remarquer que les dates d'émissions de larves coïncident à quelques jours près. Enfin, pendant nos expériences de conditionnement thermique, la mortalité observée a été très faible de l'ordre de 5 à 10%, suivant les lots.

## VI - DISCUSSION ET CONCLUSION.

Le problème du conditionnement thermique des Pélécy-podes a commencé d'être étudié de façon non empirique par GIMAZANE (1971 - 1972) sur Cerastoderma edule. Cette espèce possède un cycle sexuel assez voisin de celui de l'huître plate, avec un stade de repos génital (Stade 0) allant de novembre à février. Les phénomènes de gamétogénèse reprennent fin février et les animaux pondent en juin ou juillet, une deuxième ponte pouvant avoir lieu en automne si les conditions thermiques sont favorables.

GIMAZANE a tenté expérimentalement de faire reprendre le cycle sexuel par stimulation thermique (conditionnement) pendant la période du repos sexuel. Les animaux ont été élevés à la température de 14 à 16°C. Il a mis en évidence deux actions :

a) L'action de la température sur la reprise de l'activité génitale est d'autant plus importante que le début du conditionnement est plus éloigné de la date de reprise du cycle sexuel dans les stations naturelles.

En effet, conditionnés en novembre ou en décembre, ces animaux présentent très rapidement une gamétogénèse intense qui conduit à la formation de gamètes mûrs au bout de trois semaines à un mois.

Mais si le conditionnement a lieu en janvier ou au début de février, le cycle sexuel reprend chez ces animaux très peu de temps avant sa reprise dans les conditions naturelles ou parfois en même temps.

b) Une fois que l'activité génitale a repris, la température accélère la gamétogénèse, ce qui avance considérablement la date de la ponte chez les espèces soumises à un conditionnement thermique.

GIMAZANE (1972) a émis l'hypothèse que l'activité génitale de la coque, Cerastoderma edule, pourrait être conditionnée par une "horloge interne", neuro-endocrinienne qui déterminerait la reprise et l'amplitude du cycle sexuel. Cette rythmicité pourrait être modifiée par des facteurs externes "synchronisateurs" parmi lesquels la température jouerait le rôle essentiel. L'action de la température avant et pendant le début de la phase de repos sexuel pourrait alors, dans la nature, modifier la date de reprise de l'activité génitale qui serait plus précoce lorsque l'automne a été chaud: (programmation anticipée). Par ailleurs, la date de la ponte pourrait être avancée ou reculée en fonction des conditions thermiques qui ont régné en hiver ou au printemps. Une reprise précoce de l'activité génitale et un hiver doux avanceraient la date des émissions de gamètes.

Il était intéressant de savoir si ces résultats pouvaient s'étendre à d'autres mollusques et en particulier aux huîtres.

Ostrea edulis.

Nous avons réuni dans le tableau n° 6 les dates du début du conditionnement et les dates de libération des premières larves par les animaux traités. L'émission larvaire dure, pour l'ensemble de chaque lot traité, environ une semaine.

Nous avons fait appel aux résultats des auteurs (WALNE - 1964) FLASSH (1974) et DESVERGEE (1) car chaque expérimentateur, du fait de la longueur de l'expérience, de l'encombrement du dispositif expérimental et de la difficulté inhérente au contrôle des paramètres, ne dispose que de peu de résultats.

Il eut été souhaitable de comparer des conditionnements portant sur une même année et sur des animaux de la même origine.

Néanmoins, ce tableau fait apparaître les faits suivants :

a) Les conditionnements effectués sur des lots différents, des années différentes, donnent pourtant des résultats très voisins.

b) Les animaux stimulés en décembre ou en janvier libèrent toujours leurs larves au début du mois de mars. Tout se passe comme si nous retrouvions ici les phénomènes décrits par GIMAZANE (1971 - 1972). Cette période janvier et février serait réfractaire à la stimulation thermique, comme les coques en janvier. Ici, le cycle sexuel reprend au début de février dans les stations naturelles, un peu plus tôt que chez la coque. Même conditionnés, ces animaux reprendraient leur activité génitale en même temps que ceux de la nature mais une fois le cycle sexuel déclenché, les fortes températures du conditionnement hâtent la gamétogénèse. Nous obtenons des produits génitaux mûrs un mois environ après la reprise du cycle, ce qui expliquerait que les animaux conditionnés en décembre et janvier ne libèrent leurs larves qu'en mars presque en même temps.

---

(1) Nous remercions très vivement Melle DESVERGEE qui nous a autorisé à faire figurer ses résultats dans ce travail. (Conditionnement à l'écloserie de la CAPRONA à St Vaast la Hogue (Manche).

c) Lorsque l'activité génitale a repris, la durée du conditionnement est d'autant plus courte que l'on se rapproche de la date probable de libération des larves dans la nature. Au point de vue pratique, il est avantageux d'avoir des larves, puis du naissain le plus tôt dans l'année, au début du printemps afin que ces animaux puissent profiter le plus longtemps possible de la bonne saison (printemps et été) favorable à la croissance.

Il est toutefois inutile de commencer le conditionnement thermique qui est coûteux en décembre ou au début de janvier. Il suffit de le pratiquer fin janvier pour avoir des larves dans la première quinzaine de mars, c'est à dire du naissain qui en avril pourra commencer sa croissance dans d'excellentes conditions.

Crassostrea gigas.

A titre de comparaison, nous donnerons quelques résultats obtenus par DESVERGEE sur l'huître japonnaise à l'écloserie de St Vaast la Hougue (Tableau n° 6).

L'analyse de ces résultats montre que, malgré l'absence de conditionnements thermiques commencés en janvier, le comportement de l'huître japonnaise est différent de celui de l'huître plate. Il est possible d'obtenir des pontes en janvier ou février, si l'on conditionne en novembre et en décembre. Ceci est sans doute à rapprocher du fait que le cycle sexuel de cette huître ne s'arrête jamais complètement en hiver (1) et que l'on trouve en novembre et décembre quelques individus plus "tardifs" chez lesquels la gonade est encore le siège de phénomènes de gamétogénèse alors que l'arrêt du cycle sexuel est plus net chez l'huître plate.

---

(1) Nous remercions Monsieur le Professeur P. LUBET qui a bien voulu nous communiquer ces renseignements.

## CONCLUSIONS

Malgré la main-d'oeuvre importante nécessitée par les manipulations et une présence de tous les instants, le conditionnement d'Ostrea edulis s'avère facile si le contrôle des paramètres les plus importants (nutrition et température) sont régulièrement assurés. En écloserie, pour des raisons de rentabilité, il est préférable d'avancer la période de reproduction de quelques mois car il est impossible d'obtenir des larves d'huître plate durant l'hiver alors que ceci est possible avec Crassostrea gigas (DESVERGEE et COLIN - 1976).

Un cycle sélénien de l'émission larvaire en écloserie, a été mis en évidence et permet de stimuler les animaux à des périodes adéquates au cas où les pontes naturelles n'auraient pas eu lieu.

BIBLIOGRAPHIE

- CARMIGNANI G.M. et BENNET J.P. (1976) - Leaching of plastics used in closed aquaculture systems. Aquaculture, 7 (1), 89-71.
- COLE H.A. (1941) - The fecundity of *Ostrea edulis*. J. mar. biol. Ass. U.K., 25, 243-260.
- COLE H.A. (1942) - Primary sex-phases in *Ostrea edulis*. Quart. J. Micr. Sci., 33, 317-356.
- DESVERGEE A. (1976) - Rapport d'activité du GOMM, 75-76.
- DESVERGEE A. et COLIN F. (1976) - Recherches sur la sexualité de l'huître japonaise *Crassostrea gigas*. DEA de Biologie animale.
- DINAMANI P. (1973) - Reproductive cycle and gonadal changes in the New Zealand rock-oyster *Crassostrea glomerata*. New Zeal. J. mar. Freshwat Res., New-Zeal., 8 (1), 39-65.
- EISAWY A.M. (1974) - Spawning and larval development of the Red-sea oyster *Crassostrea forskali* Chemnitz. Bull. Inst. Oceanogr. Fish, Egypt, 4, 203-235.
- FLASSCH J.P., KOIEKE Y., L'HERROUX M. et C. AVELINE (1974) Artificial production of molluscs spat. *Ostrea edulis* - *Haliotis tuberculata* - Inf. Tec. Inst. Invest. Pesq. Barcelone n° 14 71 - 80.
- GABBOTT P.A. et WALKER A.J.M. (1971) - Changes in the condition index and biochemical content of adult oyster (*Ostrea edulis* L.) maintained under hatchery conditions. Journal du Conseil, Cons. perm. int. ex. mer. 34, 99-106.
- GABBOTT P.A. et STEPHENSON R.R. (1974) - A note on the relationship between the dry weight condition index and the glycogen content of adult oyster (*Ostrea edulis* L.) kept in the laboratory. J. Cons. Int. Explor. Mar. Cons. Danem., 35 (3), 359-361.
- GIMAZANE J.P. et LUBET P. (1972) - Etude expérimentale de l'action de la nutrition, de la température et de la lumière sur le cycle sexuel de *Cardium edule* L. (mollusque bivalve). Bull. Soc. Linéenne de Normandie, 103, 137-146.
- HAMMEN C.S. (1969) - Metabolism of the oyster *Crassostrea virginica*. Am. Zool., 9, 309-318.

HELM M.M., HOLLAND D.L. et STEPHENSON R.R. (1973) - The effect of supplementary algal feeding of a hatchery breeding stock of Ostrea edulis on larval vigour. J. Mar. Biol. Assoc. U.K., 53, 673-684.

HIS E. (1976) - Contribution à l'étude biologique de l'huître dans le bassin d'Arcachon. Activité valvaire de Crassostrea angulata et de Crassostrea gigas, application à l'étude de la reproduction de l'huître japonaise. Thèse de 3ème cycle - Université de Bordeaux I, I-63.

KORRINGA P. (1947) - Périodicité lunaire dans la production des larves de l'huître plate, Ostrea edulis L. Bull. Un. Synd. ostreic. Morbihan, (9), 9-10.

KORRINGA P. (1957) - Lunar periodicity. Mem. Geol. Soc. Ann. 67 (1), 917-934.

LANGTON R.W. et Mc KAY G.U. (1974) - The effect of continuous versus discontinuous feeding on the growth of hatchery reared spot of Crassostrea gigas J. Cons. int. Explor. Mer. 35 (3) 363-364.

LOOSANOFF V.L. (1962) - Gametogenesis and spawning of the European oyster, Ostrea edulis, in the waters of Mains. Biol. Bull. mar. biol. lab. Woods. hole, 122, 36-94.

LUBET P. (1959) - Recherche sur le cycle sexuel et l'émission des gamètes chez les Mytilidés et Pectinidés (Moll. lamelli-branches) Rev. Trav. Inst. Sci. techn. Pêches mar. Paris, 23 387-548.

MATHIESSEN G.C. et TONER R.C. (1966) - Possible method of imposing the shellfish industry of Martha's Vineyard Duke's country, Massachusetts. The Marine Research foundation, Mc., 1-138.

MILLARD R.H. (1963) - Breeding and gonadial cycle of oysters in Loch Ryan, Scotland. Journal du Conseil, 28, 432-439.

MORI K., MURAMATSU T. et NAKAMURA Y. (1972) - Effect of steroid on oyster. Acceleration of glycogenolysis in female Crassostrea gigas by oestradiol injection under natural conditions. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. Jap. 38 (10), 1185-1189.

MORI K., MURAMATSU T. et NAKAMURA Y. (1972) - Indoor experiment on the acceleration of glycogenolysis in female Crassostrea gigas by oestradiol. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. Jap., 38 (10) 1191-1196.



- MORTON B.S (1971) - The diurnal rythm an tidal rythm of feeding an digestion in Ostrea edulis. Biol. J. Linn. Soc., 3, 329-342.
- POUVREAU B. (1974) - Cycle sexuel de Mytilus edulis dans la région du Havre. Rapport EDF Contrat 92381, I-20.
- POUVREAU B. (1975) - Biologie de l'huître plate "Pied de cheval" (Ostrea edulis L.) Rapport d'activités CNEOX, Contrat 74/1148.
- POUVREAU B. et AMIARD J.C. (1974) - Etude expérimentale de l'accumulation de l'argent 110 m chez divers organismes marins. Rapport CEA R 4571, 1-7.
- RENZONI A. (1962) Comportamento di Mytilus galloprovincialis Lmk ad Ostrea edulis L. in differenti condizioni ambientali sperimentali. Bull. Pesca. Piscic. Idrobiol., 16 (1), 67-86.
- STEPHENSON R.R. et HELM M.M. (1971) - Supplementary algal feeding of a laboratory breeding stock of Ostrea edulis L. and its effect on the potential of larvae. Int. Council Expl. Sci. shellfish and Benthos Comittee. C.M. 1971/K, 23, 1-8
- VEITCH F.P. (1974) - The preparation of "shell windows" in oysters. Mar. chem. Netherl., 2 (1), 65-68.
- WALNE P.R. (1964) - Observations on the fertility of the oyster (Ostrea edulis). J. Mar. biol. Ass. U.K., 44, 293-310.
- WALNE P.R. (1966) - Experiments in the large-scale culture of the larvae of Ostrea edulis L. Fishery Invest., Lond., Ser. 2, 25 (4), 1-53.

CHAPITRE III

ELEVAGE DES LARVES D'OSTREA EDULIS L.

### CHAPITRE III

#### ELEVAGE DES LARVES D'OSTREA EDULIS

L'élevage des larves d'huîtres a été bien étudié par COLE (1936-39), IMAI et coll. (1950-54), LOOSANOFF (1954-55) et surtout par WALNE (1956-59-65- 70- 74) pour Ostrea edulis. La difficulté consiste à contrôler une quantité de paramètres dont l'interdépendance n'est pas toujours connue. Nous donnerons dans ce chapitre les résultats de nos observations sur les élevages de larves obtenus à partir de nos élevages en 1975 et 1976. En effet, comme pour la culture des algues unicellulaires, l'empirisme règne souvent dans ce domaine et il convenait de contrôler certains facteurs externes essentiels. Par ailleurs, la variabilité des résultats concernant l'obtention de bon naissain pose le problème de la variabilité génétique et de la sélection des géniteurs.

#### I - LES PARAMETRES A CONTROLER.

Parmi les facteurs externes qui ont une incidence sur la vie larvaire, la qualité de l'eau de mer et la nutrition jouent un rôle essentiel.

##### 1.1. - Eau.

La fourniture en eau de mer est assurée par la réserve d'eau nécessaire à la culture du phytoplancton. L'eau prélevée par pompe électrique immergée est filtrée à 0,2  $\mu$  sur filtre SARTORIUS pour la débarrasser de sa population bactérienne. En effet, plus la filtration est poussée, meilleure est la croissance des larves. La salinité est de 32 à 33‰.

Cette salinité étant tout à fait propice à la croissance des larves selon KORRINGA (1941), DAVIS et ANSELL (1962).

### 1.2. - Température.

La température de 24°C a été retenue car elle permet une plus longue survie des algues phytoplanctoniques ; elle correspond à un compromis entre la vitesse de croissance des larves (température optimale 25°C) et leur taux de mortalité (15,2%) d'après DAVIS et CALABRESE (1969). WALNE (1974) avait déterminé le "zéro biologique" pour les larves qui est de 13°. La durée de l'élevage, jusqu'à la métamorphose, est fonction de la température.

Pour passer de 160 m à 250 m, cet auteur a établi la formule suivante :

$$(t_e - t_0) \times d = k = 66,6$$

Si la température d'élevage =  $t_e = 24^\circ\text{C}$

la température du "zéro biologique"  $t_0 = 13^\circ$  (croissance nulle à cette température)

On peut calculer la durée de l'élevage :

$$\text{On a } \frac{66,6}{24-13} = \frac{66,6}{11} = 6,06 \text{ jours}$$

Le contrôle de la température des bacs d'élevage est réalisé par un bain-marie d'eau douce, deux thermostats et deux résistances assurent la régulation. Une circulation d'eau est créée par une petite pompe électrique pour uniformiser la température du bain (Fig. n° 7). Cette méthode a été choisie pour plusieurs raisons :

- Moins onéreuse qu'un chauffage global de la pièce.
- Rapidité du changement d'eau pour les larves par deux jeux de récipients.

- Possibilité d'obtenir de l'eau chaude par un chauffe-eau au gaz en cas de coupure de courant prolongée (grève, réparation et.c...).
- Le volume d'eau du bain-marie est assez important pour qu'une coupure de nuit ne fasse pas descendre la température trop rapidement, (le week-end, le laboratoire n'est pas chauffé et les températures de l'air sont inférieures à 10°C en hiver).

Lors des changements d'eau, l'eau de mer est réchauffée par immersion de résistances électriques ou par un échangeur en verre alimenté par le chauffe-eau au gaz en cas de panne.

### 1.3. - Air.

Comme pour la culture du phytoplancton, le compresseur du laboratoire fournit la plus grande partie de l'aération ; un filtre de 0,2 $\mu$  permet de surveiller une éventuelle arrivée d'huile. Une deuxième source d'alimentation est assurée par un compresseur portatif. Ce compresseur est branché la nuit pour suppléer à la respiration des algues restantes. L'air est filtré sur coton cardé.

Une troisième source d'air est utilisée périodiquement, fournie par un petit compresseur à membrane dont la marche et l'arrêt (15 minutes) sont réglés par une minuterie d'une heure. Des diffuseurs en pierre poreuse ou en plastique sont fixés à chaque arrivée d'air. La distribution de ces diffuseurs dans le bac de culture est fonction de la forme de celui-ci.

Les diffuseurs de la troisième source d'alimentation, sont disposés aux endroits où les larves se concentrent lorsque le compresseur à membrane est arrêté.

D'après HELM et SPENCER (1972) si l'aération est insuffisante les stades "oeillés" sont plus petits, leur croissance serait réduite de 10%. L'économie d'énergie, de la part des larves, pour se maintenir dans la masse d'eau pourrait servir à l'élaboration de leur tissus.

Le volume total d'air fourni est de 140 l par heure durant le jour, plus 100 l par heure durant la nuit, pour un bac de 20 litres d'eau de mer contenant 3 à 5000 larves par litre. HELM and SPENCER (1972) préconisent 200 litres par heure pour un bac de 75 litres à 1300 larves par litre. L'effort supplémentaire d'air provoque une teneur en oxygène voisine de la saturation et un brassage important du volume d'eau empêchant, par une disposition judicieuse des diffuseurs, la formation de zones de sédimentation où se déposent les larves, les algues mortes et les foeces. Ainsi, nous avons pu utiliser des bacs parallélipipédiques en plastique. Au laboratoire (en cas de panne) des bouteilles d'oxygène et un dispositif se branchant sur le robinet d'eau douce donnant un volume d'air égal au volume d'eau déplacé, sont placés en secours. En écloserie, un groupe électrogène, à mise en route automatique est nécessaire pour pallier aux interruptions de fourniture électrique.

#### 1.4. - Récipients utilisés pour l'élevage des larves.

Nous avons testé plusieurs récipients de formes et de volumes différents. Les résultats et les conclusions apparaissent à la lecture du tableau n° 7.

Les cuvettes en plastique de 40 litres (20 litres utiles) ont donné les meilleurs résultats ; leur emploi présente de nombreux avantages :

- Possibilité de réalisation d'un bain-marie.
- Manutention et stockage faciles.
- Prix d'achat faible.
- Fragilité presque nulle.

#### Inconvénients :

- "Biologisation" longue.
- Utilisation à une température inférieure à 28°C.
- Forme anguleuse des bords.

La faible contenance n'est pas un inconvénient car le changement d'eau est rapide et en cas de pollution bactérienne une faible partie de l'élevage est seulement affectée. En éclosérie la tendance est aux grands volumes pour diminuer la main d'oeuvre, mais les vidanges des bacs sont plus longues. La croissance des larves est souvent meilleure dans les petits récipients, car le brassage de l'eau par l'air est nettement insuffisant à partir de 200 litres et le maintient en suspension des larves et des algues n'est plus assuré. La forme idéale est un cylindre conique à sa base qui comporte une vidange à sa partie inférieure. Aucun fournisseur sur le marché européen, n'est en mesure de fournir ce matériel. Aux Etats-Unis ces récipients existent en verre jusqu'à des contenances de 2400 litres.

#### 1.5. - Lumière.

La lumière du jour et les éclairages de la salle de culture maintenaient un rythme nyctéméral. Un phototropisme négatif a lieu lors de la métamorphose (BRAKE et POLK -1969). Les larves se fixent de préférence dans les zones obscures : MAURER (1971), WALNE (1974).

#### 1.6. - Densité.

La densité au début de nos élevages, était voisine de 4 à 5000 larves par litre puis elle se maintenait vers  $3000 \pm 500$  larves par litre à la métamorphose. Il faut souligner que nous n'avons pas utilisé d'antibiotiques, alors que WALNE (1974) avec des antibiotiques peut maintenir des densités de 40 000 larves par litre.

Comptage des larves : Avant le changement d'eau on fait trois prélèvements de 10 cc lorsque le brassage de l'eau est maximum. Ces prélèvements sont mis dans une boîte de Pétri.



On peut ajouter quelques gouttes de rouge neutre pour colorer les larves (LOOSANOFF et DAVIS - 1947). On introduit 10 cc d'eau distillée pour empêcher les larves de nager. On compte une à une les larves sous un stéréomicroscope. Des trois chiffres obtenus on fait une moyenne. Les larves peuvent être replacées dans le bac d'origine.

Cette méthode n'est pas exempte de critiques car les échantillons sont peu importants et peu nombreux. Toutefois elle nous a donné des résultats reproductibles.

#### 1.7. - Bactéries.

Les populations bactériennes sont toujours les principales causes d'échec dans les élevages de larves. Dès 1956, WALNE préconise l'emploi d'antibiotiques. PRIEUR (1974) utilise du chloramphénicol à 8 mg par litre.

La qualité bactériologique de l'eau de mer est très importante. Les travaux de WALNE (1956-58) GUILLARD (1959), TOBIASH et coll. (1965) et LUCAS (1970) montrent que certaines souches de bactéries peuvent devenir pathogènes pour les larves et entraîner la perte de l'élevage en moins de 24 heures.

Dans le cas de l'huître plate dont la vie larvaire pélagique est courte, l'emploi d'antibiotiques ne se justifie pas si quelques précautions sont prises :

- Ultra filtration de l'eau d'élevage (0,2 m).
- Température d'élevage moyenne (24°C)
- Oxygénation à saturation.
- Homogénéisation de tout le volume d'eau
- Changement d'eau très fréquent (LUCAS et PRIEUR -1973)
- Lavage des larves à l'eau de la ville (à 24°C) ou par bain d'une solution d'hypochlorite de sodium à 0,3 ppm.
- Nettoyage des bacs (nécessité d'un double jeu de récipients).

Les antibiotiques diminueraient la croissance (UKELESS et ROSE 1975), ils agglomèrent les larves entre elles, ils ne sont pas efficaces à 100% et de plus ils sont onéreux. En écloserie, une filtration fine de l'eau de mer est le facteur principal de la réussite.

#### 1.8. - Alimentation.

Nos expériences préliminaires ont montré que les larves pouvaient rester à jeun pendant une semaine à 24°C (10 jours à 20°C). MILLAR et SCOTT (1967) ont évalué la croissance coquillière durant cette période de jeûne.

##### 1.8.1. - Les différentes phases de la vie larvaire.

Nous distinguons trois phases dans la vie larvaire d'Ostrea edulis.

a) Post-émission. Les larves véligères sont rejetées par la femelle. Leur taille est de 90 à 150 $\mu$ , leur couleur blanche, parfois grise. L'émission peut s'échelonner sur deux jours. Dans les quatre jours qui suivent, la mortalité des larves libérées est souvent importante.

D'après STEPHENSON et HELM (1971) cette mortalité indique ce que sera la mortalité par la suite et il s'avère parfois inutile de poursuivre certains élevages.

b) Phase de croissance. L'alimentation des véligères est doublée, la nage est très intense. Leur taille passe de 160 à 247 $\mu$  en une semaine.

c) Phase pré-métamorphose. C'est le stade "ceillé" ainsi par l'apparition d'une tache oculaire sur la surface du manteau. On a ensuite le stade "pédivéligère" avec l'apparition du pied. L'alimentation est triplée par rapport à la phase a).

##### 1.8.2. - Calcul de la ration quotidienne.

Soit un élevage de 5000 larves par litre pour un volume de 20 litres, WALNE (1970) préconise un régime plurispécifique d'algues.

Nous avons constaté empiriquement qu'un régime équilibré doit comporter des volumes égaux de chaque espèce disponible.

Exemple :

Espèce	Volume algal ( $\mu^3$ )	Nombre de cellules par l	Rapport pour un volume égal
<u>Tetraselmis</u>	335	1 000	2 x 335 = 770
<u>Isochrysis</u>	57	10 000	14 x 57 = 778
<u>Monochrysis</u>	32	8 000	24 x 32 = 768

Cela revient à dire que pour une cellule de Tetraselmis il faut 7 cellules d'Isochrysis et 12 cellules de Monochrysis. Les différents auteurs s'accordent pour préconiser une densité de cellule algale supérieure ou égale à 100 cellules par  $\mu$ l d'eau dans les bacs d'élevage.

Soit en multipliant par 5 :

5 cellules de Tetraselmis  
 35 cellules d'Isochrysis  
 60 cellules de Monochrysis

Soit 100 cellules par microlitre de milieu d'élevage.

1.8.4. - Calcul du volume de culture d'algue à donner.

Soit  $V_A$  le volume d'algue à donner pour un litre de culture de larves.

Tetraselmis à 1000 c/l

$$V_{A_T} = \frac{\text{Nb de G nécessaire pour } 1 \times 1000}{\text{Nb de G algale par } 1}$$

$$V_{A_T} = \frac{5 \times 1000}{1000} = \underline{5\text{ml}}$$

Isochrysis

$$V_{A_I} = \frac{35 \times 1000}{10000} = 3,5 \text{ ml}$$

Monochrysis

$$V_{A_M} = \frac{60 \times 1000}{10\ 000} = 7,5 \text{ ml}$$

- Pour 20 litres      100 ml Tetraselmis
- 70 ml Isochrysis
- 150 ml Monochrysis

On peut remarquer que ces quantités sont faibles mais les densités de cellules algales lors du "Bloom" sont maximales. Dans la pratique nous utilisons des abaques permettant de calculer rapidement ces rations.

Avec l'habitude les larves sont nourries de visu en fonction de la coloration de l'eau.

On peut noter le volume algale fourni par larve :

$$\begin{array}{r}
 5 \times 335 = 1675 \\
 35 \times 57 = 1995 \\
 60 \times 32 = 1920 \\
 \hline
 5590 \text{ } \mu^3 \\
 \frac{5590}{5000} = 1,12 \text{ } \mu^3/\text{larve.}
 \end{array}$$

Lors de la phase de croissance, la ration est doublée ; puis triplée lors de la phase de pré-métamorphose. En réalité la densité de larves diminuant dans l'élevage, les rations par larve sont plus que doublées et triplées.

GABBOTT et HOLLAND (1973) estiment que le métabolisme des larves est doublé tous les quatre jours à la température de 21° ± 1°C. Leurs rations sont de 315 à 600 cellules par larve et par heure pour des larves de 178µ.

Un calcul rapide nous montre que nos rations étaient plus importantes :

833 cellules l/H pour une taille larvaire  $\leq 207 \mu$   
2083 cellules l/H pour une taille larvaire  $207 \mu < \leq 247 \mu$   
4166 cellules l/H pour une taille larvaire  $\geq 247 \mu$

## II - TECHNIQUE DE L'ELEVAGE.

Nous prendrons comme exemple la ponte précoce obtenue, après une maturité sexuelle contrôlée, le 4 mars 1975 (tableau n°8).

### 2.1. - Obtention des larves.

Une femelle prête à pondre fut placée dans un cristalliseur contenant de l'eau de mer filtrée à  $0,2 \mu$  et enrichie d'algues. La première émission eut lieu dans l'après-midi et une deuxième émission fut provoquée par choc thermique le lendemain matin.

### 2.2. - Traitement des larves.

Les larves sont lavées à l'eau douce à  $24^{\circ}\text{C}$  pendant quelques secondes et tamisée sur mailles de 160 pour conserver les plus grosses. Ces larves sont ensuite placées dans le bac d'élevage, à une densité de 5000 individus par litre.

### 2.3. - Les changements d'eau.

La rapidité de ces changements conditionne la réussite de l'élevage. Pendant la phase larvaire qui suit l'émission (1ère semaine) l'eau est changée quotidiennement, durant la phase de croissance, tous les deux jours, et pendant la phase de pré-métamorphose, deux fois par semaine. Lors de ces changements, les larves sont récoltées sur des tamis de 247, 207 et 160 pour apprécier le pourcentage de larves ayant atteint ces tailles (Tableau n° 8).

Lors des élevages suivants, il s'avéra fort utile de répartir les larves en classe de tailles dans différents bacs (130  $\mu$  - 160 - 180 - 200 - 250) car les variations individuelles sont importantes et elles tendent à s'accroître si un tri n'est pas réalisé.

#### 2.4. - Distribution de la nourriture.

Dès la remise en eau des larves on ajoute la quantité d'algues nécessaire à la nutrition des larves pour les 24 heures. La distribution est quotidienne (séquentielle). Si le changement d'eau n'a pas lieu l'apport est fait en fonction du reste d'algues vivantes.

#### 2.5. - Evaluation de la croissance.

Au laboratoire, il est possible de mesurer au micromètre un lot de larves. On peut photographier au microscope (MASSON - 1975) un lot de larves avec un micromètre dans le champ de la préparation. On mesure les tailles sur les photos et on effectue une étude statistique des résultats.

Pour se rapprocher des conditions de travail en éclosérie nous avons préféré tamiser et compter les larves, ce qui permet d'évaluer rapidement leur croissance sans perte de larves.

La taille des jeunes véligères lors de leur émission peut varier de 85 à 190  $\mu$ , avec un optimum de 160  $\mu$  pour les "Belons" et 180  $\mu$  pour les huîtres "pied de cheval" mais il faut remarquer que pour ces dernières les géniteurs étaient toujours de plus forte taille.

COLLYER (1957) montre de grandes variations dans les réserves en glycogène et lipides des jeunes larves nouvellement émises ; le taux de ces réserves est en rapport étroit avec la viabilité de ces larves. En éclosérie nous avons rejeté toutes les larves de taille inférieure à 100  $\mu$  et parfois 130  $\mu$ .

La croissance dans des conditions optimales montre une courbe linéaire. L'apparition des stades "oeillés" se fait à une taille comprise entre 240 et 350  $\mu$  avec un optimum pour 260  $\mu$ . Les larves de taille supérieure à 247  $\mu$  sont prélevées en vue de la métamorphose, le stade "oeillé" est déjà atteint pour 15 à 25% de cette population. HOLLAND et SPENCER (1973) montrent que la nutrition est un facteur important pour un bon déroulement de la métamorphose. Les triglycéridés accumulés avant cette période sont alors utilisés lors de la fixation ; ils passent de 8,8 à 23,3% lors de la phase de croissance et tombent à 9,6% après la métamorphose.

#### 2.6. - La métamorphose.

Comme toute métamorphose, c'est une phase critique. L'histologie de la larve pendant cette période a été décrite par COLE (1937-38) puis récemment par HICMAN et GRUFFYDD (1971). Elle se caractérise par des transformations morphologiques liées au passage du stade pélagique au stade sessile. Cette fixation a été étudiée par CRANFIELD (1973 a, b, c - 1974 - 1975). La fixation peut être induite par plusieurs facteurs et l'obtention massive de naissain ne tient souvent qu'à un contrôle de cette période car si la larve ne trouve pas de substrat, la dépense énergétique due à la nage entraîne une mortalité plus grande.

##### 2.6.1. - Induction à la fixation.

De nombreuses méthodes artificielles sont en cours d'évaluation.

###### a) Par des produits chimiques.

Déjà PRYATHERCH (1934) préconise l'emploi du cuivre comme facteur favorisant de la fixation. Une eau de mer contenant 0,05 à 0,06 mg de Cu par litre favoriserait la fixation.



L'emploi de cuivre sur les collecteurs chaulés ne sert qu'à préserver ces collecteurs de l'invasion de l'épiflore, ce qui facilite la fixation des larves d'huîtres.

LOOSANOFF (1961) montre qu'un taux de fixation est multiplié par 2 ou 3 avec un chlorobenzène commercialisé sous le nom de "polystrian". Plus récemment NIELSEN (1973) montre que l'acétazolamine augmenterait le taux de fixation chez Ostrea lutaria.

b) Variations physiques du milieu.

Une augmentation de la température induit une fixation des larves (LUTZ et coll - 1970).

Les variations de salinité auraient le même rôle, à condition que ces variations soient faibles et avec retour à la salinité initiale.

Un éclairage intense : les larves qui ont à ce moment un phototropisme négatif, recherchent les zones d'ombre pour se fixer.

2.6.1.3. - Productions biologiques : Le problème d'une "phéromone".

En 1949, COLE et KNIGHT-JONES observèrent que les larves d'Ostrea edulis se fixaient plus rapidement sur les coquilles vides sur lesquelles était déjà fixé du naissain.

BAYNE (1969) induisait la fixation des larves par des extraits de chair d'huître de la même espèce.

HIDU (1969) a montré que chez Crassostrea virginica, le jeune naissain fixé depuis 24 heures ou celui de deux mois était capable de libérer dans le milieu une substance stimulant la fixation. Dans la nature, les fixations ont lieu sur des coquilles d'huîtres vivantes "dentelle" ou sur divers collecteurs mais toujours à proximité immédiate de bancs prospères malgré l'influence des courants de marée (MARTEIL - 1960°. La reconstitution d'anciens bancs ne peut se faire que par apport d'huîtres vivantes et non de collecteurs vierges.

KERCK et coll. (1971) induisent la fixation de l'huître américaine par du "shellfish glycogène" vendu dans les magasins de produits diététiques. HIDU et HASKIN (1971) montrent que le grégarisme est important et qu'une substance doit en être la cause.

VEITCH et HIDU (1971) essayent de purifier ce facteur de nature vraisemblablement protéinique (Phéromone) qui contient de la thyronine mais les différentes extractions amoindrissent son efficacité. Il est remarquable de constater que des produits voisins de la thyronine se trouvent dans le periostracum des mollusques, ce qui expliquerait la prédilection des larves pour la "dentelle" des huîtres substrat.

#### 2.6.2. - Les méthodes de fixation en écloserie.

##### a) Sur plaque.

Nous avons testé la fixation sur plaque de PCV noire, éclairée violemment. Durant la période de fixation, un détroquage précoce se faisant tous les matins après 12 à 24 heures de fixation (DUPUY et RIVKIN -1971). Mais les pertes dues au détroquage sont trop importantes ainsi que la main d'oeuvre (FLASSCH et al. - 1974). Nous avons abandonné ce procédé.

##### b) Sur "brisures de coquilles d'huîtres.

Ce procédé imaginé par MASSON (1974) et mis au point au Laboratoire maritime de Luc sur mer est aujourd'hui utilisé en écloseries.

Les larves pédiveligères d'une taille supérieure à  $247 \mu$  sont retirées du bac délevage après tamisage et placées dans des bacs de fixation (Fig. n° 8). Ces récipients constamment thermostatés à  $24^{\circ}\text{C}$  par un bain marie, contiennent un cadre quadrangulaire fermé à sa partie inférieure par un tamis à mailles de  $247 \mu$ . Le tamis est recouvert par de la "brisure" de coquilles obtenu en broyant les coquilles bien séchées

puis nettoyées et en sélectionnant les éclats ou "brisures" compris entre  $247 \mu$  et  $400 \mu$ .

Deux exhausteurs assurent l'oxygénation et la circulation de l'eau, à travers le tamis et au-dessus de celui-ci. Les larves sont placées dans le cadré quadrangulaire fermé par le tamis. Une huître plate adulte est placée sous le tamis pour libérer la "phéromone" facilitant la fixation. Cette huître est enlevée au bout du troisième jour car ses besoins nutritionnels sont trop importants. Par ailleurs, le naissain nouvellement fixé est alors assez abondant pour produire à son tour ce facteur de fixation ("phéromone").

WALNE (1966) a observé des durées de fixation de 6 à 7 jours à partir de lots homogènes et en retirant chaque jour le naissain fixé.

### III - RESULTATS ET CONCLUSIONS.

#### 3.1. - Résultats:

##### 3.1.1. - Densité larvaires de l'élevage et croissance.

Grâce à une bonne nutrition et à une qualité de l'eau satisfaisante au point de vue bactériologique comme le préconise TAKEDA - 1975), sans l'emploi d'antibiotiques, nous avons pu élever en circuit fermé des larves d'Ostrea edulis. Nous avons pu introduire dans nos élevages une densité de  $2500 \pm 500$  larves par litre alors qu'avec le système d'élevage "ouvert" préconisé par FLASSCH et al. (1975) les meilleures densités obtenues ont été de 220 larves par litre. Les résultats de la croissance des larves sont donnés dans le tableau n° 8. (Les rations alimentaires correspondant aux différentes phases de la vie larvaire ont été déterminées.

### 3.1.2. - Taux de fixation.

Les taux de fixation obtenus ont été, suivant les lots de 40 à 90%, la survie des larves étant supérieure à 50% dans les lots élevés sans antibiotiques. Ces résultats ont été confirmés par A. DESVERGEE qui a mis en application notre méthode à l'écloserie du Groupement des Ostreiculteurs de la Manche (COPRONA) à St Vaast la Hougue où des taux de fixation de l'ordre de 90% sont obtenus maintenant en routine, quinze jours environ après l'émission des larves par les huîtres mères.

Nous avons également étudié à partir d'un lot émis le 04-03-1975, le nombre d'individus fixés sur les "brisures" (Tableau n° 9). Nous pouvons constater que pour 40% de fixation, 38,7% des fixations sont "unitaires" (un seul individu par brisure, 1,2% sont fixés par paire (2 individus par brisure) et 0,1% en triplets (3 par brisure).

Des observations ultérieures confirment cette constatation. Cette méthode de fixation sur "brisure" convient donc parfaitement au type d'élevage ultérieur des huîtres pratiqué en France, en "pochons" disposés sur des tables. En effet, la fixation de nombreux individus sur un substrat implique un détachement ultérieur qui rend coûteux les manipulations et introduit une cause supplémentaire de mortalité.

La fixation de nombreux individus sur coquille ou autre substrat n'est valable que dans les régions où l'élevage se fait par "suspension" (Espagne, Méditerranée, Japon).

### 3.2. - Conclusions

Une technologie de l'élevage des larves et de leur fixation sur "brisures de coquilles" pour obtenir du naissain "unitaire" (cultchlen) a été mise au point. L'élevage en écloserie, des larves d'huîtres plates, peut être réalisée sans intervention d'antibiotiques avec un rendement compatible avec une exploitation commerciale.

Toutefois, les différences que nous avons observées entre les différents lots incite à penser qu'une sélection des géniteurs s'impose. Une étude génétique est donc indispensable pour mener à bien ce problème.

BIBLIOGRAPHIE

- BAYNE B.L. (1969) - The gregarious behaviour of the larvae of Ostrea edulis at settlement. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 49, 327-356.
- BRAKE E. et POLK P. (1969) - Contribution à la connaissance de la faune de la côte belge. IV - L'influence de la lumière sur la fixation d'Ostrea edulis (L.) et de Crepidula fornicata (L.) sur les collecteurs d'huîtres. Hydrobiologia, Pays-Bas, 34, n°1 : 100-25, bibl. (3 ref.).
- CHANLEY P.E. (1955) - Possible causes of growth variation in clam larvae. Proc. Natl. Shellfish Assoc., 45, 84-94.
- COLE H.A. (1937) - Metamorphosis of the larvae of Ostrea edulis. Nature, Vol. 139, n° 3514, 413.
- COLE H.A. (1936) - Experiments in the breeding of oysters (Ostrea edulis) in tanks, with special reference to the food of the larvae and spat. Min. Agric. Fish. Invert., Lond. Ser. 2, 15, (4), 1-25.
- COLE H.A. (1938) - The fate of the larval organs in the metamorphosis of Ostrea edulis. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 22, 469-484.
- COLE H.A. (1939) - Further experiments in the breeding of oysters, (Ostrea edulis) in tanks. Fish. Invest. Lond., ser. 2, 16, (4).
- COLE H.A. and KNIGHT-JONES E.W. (1949) - The setting behaviour of larvae of the European flat oyster Ostrea edulis L. and its influence on methods of cultivation and spat collection. Fishery Investigations. Ministry of Agriculture Fisheries and Food Ser. 2, 17, (3), 1-39.
- COLLYER D.M. (1957) - Viability and glycogene reserves in the newly liberated larvae of Ostrea edulis. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 36, 335-337.
- CRANFIELD H.J. (1973 a) - A study of the morphology, ultra-structure and biochemistry of the foot of the pediveliger of Ostrea edulis. Mar. Biol., 22, 187-202.
- CRANFIELD H.J. (1973 b) - Observations on the behaviour of the pediveliger of Ostrea edulis during attachment and cementing. Mar. Biol., 22, 203-209.

CRANFIELD H.J. (1973 c) - Observations on the function of the glands of the foot of the pediveliger of Ostrea edulis during settlement. Mar. Biol. Germ. 22 (3), 211-223.

CRANFIELD H.H. (1974) - Observations on the morphology of the mantle folds of the pediveliger of Ostrea edulis L. and their function during settlement. J. Mar. Biol. Ass. U.K. G.B. 54 (1), 1-12.

CRANFIELD H.J. (1975) - The ultrastructure and histochemistry of the larval cement of Ostrea edulis L. J. Mar. Biol. Ass. U.K. 55, 497-503.

DAVIS H.C. et ANSELL A.D. (1962) - Survival and growth of larvae of the European oyster, Ostrea edulis at lowered salinities. Biol. Bull. 122 (1), 33-39.

DAVIS H.C. and CALABRESE A. (1969) - Survival and growth of larvae of the European oyster (Ostrea edulis L.) at different temperatures. Biol. Bull. (Woods Hole, Mass.) 136, 193-199.

DUPUY J.L. and RIVKIN S. (1971) - Cultch-free spat present and future. Proc. Ann. Workshop World Mariculture Soc. 1970.

FLASSCH J.P., HERROUX M., LAUBIER L. and AVELINE C. (1975) - Continuous spat production of flat oyster Ostrea edulis in running water. 6ème congrès de la World Mariculture Society. Actes Colloque n° 1, 33-40.

FLASSCH J.P., KOIEKE Y., L'HERROUX M. and AVELINE C. (1974) - Artificial production of mollusc spat Ostrea edulis. Haliotis tuberculata. Inf. Tec. Inst. Invest. Pesq. Barc. n°14, 71-80.

GABBOTT P.A. and HOLLAND D.L. (1973) - Growth and metabolism of Ostrea edulis larvae. Nature G.B., 241 (5390), 475-476.

GUILLARD R.R.L. (1959) - Further evidence of the destruction of bivalve larvae by bacteris, Biol. Bull., 117, 258-266.

HELM M.M. and SPENCER B.E. (1972) - The importance of the rate of aeration in hatchery cultures of the larvae of Ostrea edulis L. Journal du Conseil permanent international pour l'Exploitation de la Mer, 34, 244-255.

HICKMAN R.W. and GRUFFYD L.D. (1971) - The histology of the larvae of Ostrea edulis during metamorphosis. In Fourth European Marine Biology Symposium (ed. D.J. Crisp). Crambridge University press, 281-294.



HIDU H. (1969) - Gregarious setting in the american oyster Crassostrea virginica Gmelin. Chesapeake Science, 10 (2), 85-92.

HIDU H. and HASTING H. (1971) - Seeting of american oyster related to the environmental factor and larval behaviour Proceeding of the National Shellfisheries Ass., 61, 35-50.

HOLLAND D.L. and SPENCER B.E. (1973) - Biochemical changes in fed and starved oysters, Ostrea edulis L. during larva development, metamorphosis and early spat growth. J. Mar. Biol. Ass. U.K. G.B., 53 (2), 287-298.

IMAI T., HATANKA M., SATO S., SAKAI S. and SUKI R. (1950) - Artificial breeding of oysters in tanks. Tohotu J; agric. Res., 2, 69-86.

IMAI T., SAKAI S., OKADA H. and YOSHIDA T. (1954) - Breeding of the Olympia oyster in tanks and culture experiments in Japanese waters. Tohoku J. Agr. Res., 5, 13-25.

KECK R., MAUER D., KAUER J.C. and W.A. SHEPPARD (1971) - Chemical stimulants to larval settlement in the american oyster. Proc. Nat. Shellfish. Ass., 61, 24-28.

KORRINGA P. (1941) - Experiments and observation on swarming, pelagic life and setting in the European oyster Ostrea edulis L. Extr. Arch. Neerl. Zool., 5, 12-49.

LOOSANOFF V.L. and DAVIS H.C. (1947) - Staining of oysters larvae as a method fo studies of their movements and distribution. Science, 106, 597-598.

LOOSANOFF V.L. (1954) - New advances in the study of bivalve larvae. Amer. Scient., 42 (4), 607-624.

LOOSANOFF V.L., DAVIS H.C. and CHANLEY P.E. (1955) - Food requirement of some bivalve larvae. Proc. Nat. Shellfish. Ass., 45, 66-83.

LOOSANOFF V.L. (1961) - Development of shellfish cultures techniques. Proceeding of the conference of commercially valuable shellfish (oyster) Oct., 22-23.

LUCAS A. (1970) - Conchyliculture experimentale. Rapport CNEOXO, série Biologie, n° 70-01.

LUCAS A. et PRIEUR D. (1973) - Le contrôle bactérien des élevages de larves de vivalves. Colloque sur l'Aquaculture. Actes n° 1 1974. CNEOXO ed.

- LUTZ R.A., HIDU H. and DROBECK K.G. (1970) - Acute temperature increase as a stimulus to setting in the American oyster, Crassostrea virginica (Gmelin). Proc. Nat. Shellfish. Ass., 60, 68-71.
- MARTEIL L. (1960) - Ecologie des huîtres du Morbihan. Ostrea edulis L. et Gryphaea anquilata Lamarck. Rev. Trav. Inst. Pêches Marit., 24 (3)
- MASSON M. (1975) - Etude expérimentale de la croissance et de la nutrition de la larve de Mytilus galloprovincialis (Lamarck) mollusque pélécapode. Thèse de 3ème cycle, Université de Caen.
- MAURER D. (1971) - Introduction to development of culture techniques for a pilot shellfish hatchery. Proceeding of the conference on artificial propagation of commercially valuable shellfish (oyster). Oct. 22-23.
- MILLAR R.H. and SCOTT J.M. (1967) - The larvae of the oyster Ostrea edulis during starvation. Journal of the marine biological association of the United Kingdom, 47, 475-484.
- NIELSEN S.A. (1973) - Effect of acetazolamide on larval settlement of Ostrea lutaria Veliger U.S.A., 16 (1), 66-67.
- PRIEUR D. (1974) - Les bactéries associées aux élevages de larves de bivalves marins. Thèse 3ème cycle, Brest.
- PRYTERCH H.F. (1934) - The role of copper in the setting, metamorphosis and distribution of the american oyster, Ostrea virginica. Ecological Monographs, 4, 47-107.
- STEPHENSON R.R and HELM M.M. (1971) - Supplementary algal feeding of a laboratory breeding stock of Ostrea edulis L. and its effect on the potential of larvae. Int. Council Explor. Sea. Shellfish and Benthos Committee, 1-8.
- TAKEDA K. (1975) - The food effects of three unicellular algae for larval oyster Ostrea edulis L. in the laboratory MER (Tokyo) 12 (2), 59-65.
- TUBIASH H.S., CHANLEY P.E. and LEIFSON E. (1965) - Bacillary necrosis, a disease of larval and juvenile bivalve mollusks. I/ Etiology and epizootiology. J. Bacteriol., 90, 1036-1044.
- UKELES R. and ROSE W.E. (1975) - Induced adhesion in Crassostrea virginica larvae. Science Wash. D C, 189 (4196), 51-53.

VEITCH F.P. and HIDU H. ( 1971) - Gregarious in the american oyster Crassostrea virginica Gmelin : I/ Properties of a partially purified "steint factor". Chesapeake Science, 12 (3), 173-178.

WALNE P.R. (1956) - Bacteria in experiments on rearing oyster larvae. Nature, Lond., 178, 91.

WALNE P.R. (1958) - The importance of bacteria in laboratory experiments on rearing the larvae of Ostrea edulis L. J. Mar. Biol. Ass. U.K., 37, 415-425.

WALNE P.R. (1959) - Some observations on the feeding behaviour of oyster (Ostrea edulis) larvae and their relation to rearing problems. Proc. XV int. Congr. Zool. Can., 234-236.

WALNE P.R. (1965) - A review of recent work at the shellfish culture unit, Conway. International concil for the exploitation of the sea, C.M. 1965, Shellfish Committes, n° 164.

WALNE P.R. (1956) - Experimental rearing of the larvae of Ostrea edulis L. in the laboratory. Fish. Invest. Lond., ser. 2, 20 (9).

WALNE P.R. (1970) - Present problems in the culture of the larvae of Ostrea edulis L. Helgolander Wiss. Meeresunters, 20, 514-525.

WALNE P.R. (1974) - Culture of bivalve molluscs. 50 years d'experience at CONWY. The whitefriars Press Ltd. ISBN 085238-0631, 1-173.

CHAPITRE IV

CROISSANCE ET MORTALITE DES HUITRES D'ELEVAGE

## CHAPITRE IV

### CROISSANCE ET MORTALITE DES HUITRES D'ELEVAGE

Après la fixation, le jeune naissain est gardé un à deux mois en laboratoire ou en écloserie.

Durant la vie de l'huître d'élevage, trois périodes distinctes sont à prendre en considération :

Le première est une période de protection, qui précède une période de croissance intense, elle-même parfois suivie d'une période d'engraissement, (en vue de la vente ou de la reproduction).

Nous nous sommes efforcés d'étudier la période de protection et la période de croissance sur le matériel obtenu dans nos élevages. Nos expériences ont porté sur 54 270 individus ayant franchi le cap de la métamorphose au Laboratoire maritime de Luc sur Mer. Elles ont commencé le 27 mars 1976.

#### I - ETUDE DE LA PERIODE DE PROTECTION.

Le but de cette période est de protéger le jeune naissain contre :

- Les prédateurs qui sont nombreux (GUERIN - 1906), (MARTEIL - 1960) et (RIOU - 1975) notamment Carcinus maenas ;
- les compétiteurs alimentaires tels Mytilus edulis, Crepidula fornicata et les Ascidiacae ;
- les attaques physiques du milieu naturel : houles et vagues (abrasion), perte des poches (tempêtes), inondations, doussain, gel, turbidité (HIS - 1968).

Cette période a pour but d'augmenter le taux de survie en milieu fermé, plus ou moins contrôlé. Elle peut se diviser en deux sous périodes.

La première a pour but d'amener au laboratoire ou en écloserie le naissain à la taille de 2 mm. C'est la période d'élevage contrôlé intensif.

Le seconde peut se faire dans la nature ou mieux en grands bassins fermés. Le naissain est mis dans des sacs à mailles ou "pochons".

### 1.1. - Elevage contrôle intensif.

Nous avons réalisé un dispositif d'élevage au laboratoire pour élever le naissain après métamorphose et lui donner la possibilité d'effectuer une croissance rapide dans un minimum de temps. (Figure n° 9).

Après tamisage sur maille de 500  $\mu$ , pour enlever la brisure non utilisée, le jeune naissain est remplacé dans des tamis (Fig. n° 9) contenant de l'eau de mer à 20°C et filtrée à 60  $\mu$  comme le préconisent WALNE et SPENCER (1974) mais le circuit est ouvert et l'alimentation donnée en continu.

Tetraselmis constitue la nourriture de base, la concentration des algues étant maintenue à 5000  $^3/\mu\text{l}$ .

Les besoins en nourriture augmentent très rapidement avec la taille des animaux ; ils sont multipliés par 7 lorsque ces derniers mesurent 0,15 cm.

Les bacs d'élevage sont couverts pour empêcher la prolifération des algues macrophytes et éviter les nettoyages qui se font par projection d'eau sous le tamis.

Les huîtres ont été initialement réparties à raison de 13 individus par centimètre carré, ce qui correspondait dans notre élevage à 675 individus par litre d'eau de mer. Celle-ci est distribuée de façon continue à raison de dix litres par heure. Si l'on se réfère au travail de WALNE (1972) et fig n° 10), les besoins en eau du naissain sont largement couverts par ce débit.

La densité d'animaux dans nos élevages est beaucoup plus importante que celles réalisées dans leurs expériences par WALNE et SPENCER (1972) ou par HOLLAND et HANNANT (1974).

Le taux de survie enregistré dans nos élevages a été de 82% pendant le premier mois, soit une mortalité journalière de 0,6%.

Le taux de croissance a été suivi et mesuré par accroissement du volume des animaux, (voir pour la méthode chap. 4 - 2.2). Pendant cette période, le taux de croissance est de 11% par jour.

Avec la croissance, la vitesse de filtration augmente et les besoins en eau et en nourriture de l'animal deviennent plus grands.

Notre installation devint insuffisante en surface (tamis), en volume d'eau et en quantité de nourriture fournie. En effet, si cette dernière baisse, le naissain augmente sa vitesse de filtration, ce qui consomme de l'énergie. D'où une diminution de la croissance et une augmentation de la mortalité constatée par WALNE (1972). Les petits volumes d'élevage en culture intensive nécessitent un apport continu d'algues. Une quinzaine de jours plus tard (Tableau n° 10) les huîtres sont tamisées sur une maille de 2 mm et le refus (5696 huîtres) a été envoyé à l'écloserie de St Vaast la Hougue pour stabulation. Deux mois plus tard le pourcentage de mortalité a augmenté jusqu'à 0,97% par jour, le pourcentage d'accroissement a diminué jusqu'à 2,25% par jour. Ces chiffres montrent la difficulté qu'il y a à vouloir garder trop longtemps les jeunes huîtres en milieu contrôlé. Il faut donc arrêter l'élevage lorsque les huîtres ont atteint 1,5 à 2mm de longueur.

#### 1.2. - Protection en bassin fermé (élevage extensif).

Le naissain a été mis dans un pochon de maille de 1 mm, dans un bassin fermé alimenté à la demande aux marées de coefficient supérieur à 40 centièmes.



Les animaux sont à l'abri des prédateurs et des attaques physiques du milieu marin ouvert. Ils bénéficient d'un réchauffement des eaux et des poussées naturelles de phytoplancton.

La croissance est très réduite 0,6% par jour et le taux de mortalité journalier important, 1,3%. Par la suite, une amélioration de ces "Nursery" consiste à enrichir l'eau des bassins en sels minéraux. L'eau devant être préalablement filtrée pour enlever les organismes phytoplanctoniques.

De ces diverses expérimentations nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

L'élevage intensif du naissain en laboratoire (ou écloserie) ne doit pas dépasser un mois (jusqu'à une taille de 2 mm.). Cette période doit être suivie d'une mise en bassin fermé en élevage extensif dans des pochons de maille de 1 mm., à faible densité durant deux à trois mois (jusqu'à une taille voisine de 1 cm.).

## II - ETUDE DE LA PERIODE DE CROISSANCE.

Elle se passe entièrement en mer, dès que les animaux atteignent une taille supérieure à 1 cm. Les tailles inférieures ont un pourcentage de survie trop faible et leur mise en mer doit être différée pour des raisons de rentabilité. Ces individus sont en effet très vulnérables aux attaques des prédateurs, qui réussissent à s'introduire dans les cuvettes d'élevages grillagées.

### 2.1. - Les caractéristiques du lieu d'élevage.

Nos expériences sur parcs ostréicoles ont été réalisées à St Vaast la Hougue, sur la côte Nord-Est de la presqu'île du Cotentin. (Anse du Cul de Loup)

2.1.1. - Type d'élevage.

La mise à la mer des jeunes huîtres s'est fait dans des pochons de maille de 1 mm. sur des tables métalliques à 40 cm. du substrat (off-bottom culture). Cette zone est accessible par des véhicules terrestres classiques (charrette, tracteur, automobile).

2.1.2. - Niveau de l'élevage.

De tous les paramètres, c'est le plus important pour l'huître plate. Notre parc expérimental se situe au niveau où les marées moyennes de coefficient 70 découvrent pendant environ une heure. Soit à 1,80 m. du N.B.M.V.E.

Nous avons pu définir la courbe donnant la durée de l'émersion (de type  $y = ax + b$ ) en fonction du coefficient.

$$D_i = \frac{1}{20} C - \frac{5}{20}$$

où  $D_i$  = Durée de l'émersion en heure et en centième d'heure.

$C$  = Coefficient de la marée en centième.

Un calcul réalisé sur l'année 1976 donne un pourcentage de la durée d'émersion égal à 9% du temps. WALNE (1972) a montré que la croissance est stoppée à 25-30% d'émersion. Cette zone située entre deux rangées de bouchots orientés Est-Ouest, n'est pas considérée par les ostréiculteurs comme la meilleure pour l'espèce mais elle allie protection et bonne croissance (5% d'émersion étant très favorable à la croissance d'Ostréa edulis).

2.1.3. - Le milieu physico-chimique.

Il a été étudié par DESVERGEE et COLLIN (1976). La salinité moyenne est de 34‰ avec de faibles variations.

Les températures extrêmes sont de 8 à 18°C avec des variations brutales en été lors des grandes marées. D'après MACKIN (1971) au delà de 18°C des risques de maladie peuvent apparaître.

Le substrat est de type sablo-vaseux dur.

## 2.2. - Evaluation de la croissance.

La grande difficulté d'une étude de la croissance chez les huîtres réside dans la difficulté d'évaluer leur indice de qualité sans détruire l'animal. La quantité de chair peut doubler en un ou deux mois et montrer de grandes variations dans le temps selon WALNE (1970), HOLLAND et HANNANT (1976).

### 2.2.1. - Méthodologie des mesures.

La croissance peut être évaluée de plusieurs manières :

- croissance linéaire par des mensurations planes d'axes, dorso-ventral ou antéro-postérieur ;
- croissance pondérale par pesée des animaux ;
- croissance volumique par mesure du déplacement d'eau.

La mensuration est une méthode longue, surtout chez les jeunes individus et elle casse la pousse des animaux. On peut augmenter la vitesse de l'opération à l'aide d'un photocopieur (HAINES - 1972) les mesures étant différées.

La pesée est couramment utilisée par les ostréiculteurs pour la vente du naissain, par échantillonnages on déduit le nombre d'huîtres au kg (1000 à 1500 individus par kg en général). La mesure du volume est peu employée. Notre méthode de mesure par déplacement d'eau, a été décrite antérieurement dans un rapport d'activité du CNEOX (POUVREAU - 1974). Elle peut aussi bien être utilisée avec du naissain de très petite taille inférieure à 1 mm. jusqu'à des huîtres de deux ans d'âge (7 cm.). On peut suivre la croissance d'un lot d'huîtres en évaluant le volume moyen.

Cette méthode présente plusieurs intérêts : elle est rapide et moins fastidieuse que la pesée ou la mesure au pied à coulisse. Le matériel utilisé, simple et peu onéreux, peut être utilisé sur le terrain. Elle est surtout moins traumatisante pour les animaux qui restent toujours dans leur milieu. Elle permet, comme la pesée, d'évaluer le nombre d'individus.

Nous avons pu définir pour nos huîtres d'élevage des formules donnant le poids et le diamètre, ceci dans le but de comparer nos résultats avec ceux des auteurs utilisant ces paramètres. ORTON (1935) avait établi pour des huîtres anglaises une relation entre le volume et la longueur :

$$V_{ml} = L_{cm}^3 \cdot 3,531$$

V = Volume de l'huître en millilitre,

L = longueur de l'umbo au bord ventral en centimètre.

Nous avons préféré exprimer le poids en fonction de la longueur, le volume donnant directement le poids grâce à la densité.

Pour nos huîtres deux cas sont à envisager en fonction de leur taille.

$L_{cm}$	$L^5$	$L^5$
$P_g$	$= \frac{9}{5} L^5$	$= \frac{1}{3} L^5$
$d$	$1,8 = \frac{9}{5}$	$1,7 = \frac{17}{10}$

Il est ainsi aisé de déterminer le poids et la longueur à partir du volume.

Les mesures ont été réalisées environ tous les deux mois pendant 2 ans pour ne pas arrêter la pousse des huîtres (du 27 mars 1975 au 21 décembre 1976). Durant cette opération les huîtres ont été tamisées et réparties en classe de taille comme le font les ostréiculteurs.

Les coquilles vides ont été enlevées lors du triage annuel ou par tamisage pour le naissain de petite taille. Les pochons ont été nettoyés, rapiécés ou changés au besoin.

### 2.2.2. - Résultats.

Les tableaux n° 11 a, b, c, d, e, f, g, h montrent les résultats, période par période.

#### a) Période du 24 juillet au 9 septembre 1975.

Malgré la courte durée de l'expérimentation nous constatons que les individus de taille inférieure à 1 cm. ont un taux de survie très faible. Le taux de survie général est de 50% par contre le taux de croissance est très élevé, de 18%/jour en moyenne.

On peut remarquer que le taux de survie est inversement proportionnel au nombre d'huîtres par pochon, mais qu'une augmentation de la productivité doit s'accommoder d'une légère augmentation de la mortalité.

91,5% de survie pour un pochon de 2000 huîtres

99% de survie pour un pochon de 600 huîtres.

Le nombre optimum d'huîtres par pochon n'est pas un critère biologique mais économique DAVIS (1971). D'après SHELDON (1968) chez Ostrea edulis la production nette de chair est nulle pour une mortalité de 32,5%.

#### b) Période du 9 Septembre au 30 octobre 1975.

Le naissain a été réparti en classes de tailles dans des pochons de différentes tailles. Le taux de survie des animaux les plus petits est extrêmement faible 8% ; il en est de même pour le pochon n° 7 dans lequel trois crabes (*Carcinus maenas*) ont été trouvés. Il ne faut pas utiliser des pochons de maille inférieure à (5 x 4 mm). Le taux de survie moyen est voisin de 32%. On remarque à nouveau que ce taux de survie est inversement proportionnel au nombre d'huîtres par pochon.

La croissance est diminuée (2,41%) par un début de refroidissement des eaux.

c) Période du 30 octobre 1975 au 22 janvier 1976.

Pendant cette période un pochon (n° 8) a été gardé en bassin fermé pour le comparer avec un témoin en mer (n° 7) les animaux ayant des caractéristiques sensiblement égales (volume et nombre d'animaux voisins).

Le taux de survie en mer est légèrement plus faible et la croissance a été du même ordre de grandeur, d'où le rôle protecteur du bassin fermé.

Un taux de survie important est observé lorsque les huîtres sont de taille importante et leur nombre par pochon réduit. Durant ces trois mois d'hiver le taux de croissance journalier a été de 0,63% et le taux de mortalité de 0,42%.

d) Période du 22 janvier au 14 avril 1976.

La survie et l'accroissement des huîtres placées en mer et en bassin sont très similaires. Vraisemblablement par absence de prédateurs et abaissement de la température des eaux. La croissance journalière est très faible 0,33%, ainsi que le taux de mortalité 0,05%.

e) Période du 14 avril 1976 au 15 juin 1976.

La survie des huîtres en bassin et en mer est similaire, par contre le taux d'accroissement est supérieur (trois fois plus important) en bassin. Cela serait dû à un réchauffement plus constant des eaux en milieu fermé. Le taux de mortalité journalier augmente 0,5% à cause de la reprise de l'activité des prédateurs. Le taux d'accroissement journalier augmente à 0,63%.

f) Période du 15 juin au 26 août 1976.

En été l'accroissement des huîtres en mer est supérieure (x 2) à celui des huîtres en bassin, mais le taux de survie est toujours supérieur en bassin.

Durant cette période la croissance journalière est maximale 2,46%. Le taux de mortalité de 0,50%.

g) Période du 26 août au 22 octobre 1976.

Tous les pochons ont été placés en mer, la croissance est proportionnellement plus faible pour les individus les plus gros. Le taux de survie augmente considérablement par diminution de la prédation 0,07% de perte journalière et le taux de croissance diminue 1,38%.

h) Période du 22 octobre au 21 décembre 1976.

Durant cette période la taux de mortalité journalier est faible 0,07%, la croissance ralentie 0,35%.

2.2.3. - Résultat global.

Les mesures ont été arrêtées le 21 décembre 1976 à la veille des fêtes de Noël soit 21 mois après la naissance des huîtres. On peut se reporter à la taille et au poids des huîtres.

2.2.3.1. - Croissance.

Elle a été figurée sur le Tableau n° 12 pour les périodes étudiées.

En mer les mois les plus chauds entraînent une croissance maximale, les mois d'hiver une croissance ralentie. Il faut souligner que la période de croissance correspond à l'époque de reproduction (KORRINGA -1955).

Finalement la croissance s'est avérée bonne malgré de nombreuses mesures qui perturbent les animaux.

Près de 70% des huîtres ont une taille supérieure ou égale à 6 cm.



% d'animaux	Poids calculés en g.	Longueurs calculées en cm.
32	45,1	7,1
27	39,8	6,8
10	29,2	6,0
20	22,2	5,4
11	19,0	5,0

On peut remarquer que si le premier poids commercial n'est pas atteint (55 g. N° 6) le diamètre est largement atteint par comparaison à des huîtres de culture, en parcs profonds, qui ont une coquille plus épaisse (plus lourde) et une taille inférieure (FERREIRA - 1975). Comme l'avait déjà noté BRENKO (1973) le taux de croissance diminue avec le vieillissement des individus.

Il n'est pas impossible qu'avec une stabulation plus courte (en laboratoire ou en écloserie) et un élevage en bassin plus long d'obtenir des huîtres n° 6 en vingt mois. En effet l'intérêt d'obtenir des pontes précoces est que les jeunes huîtres passent deux étés en mer pour un hiver alors que dans les conditions normales elles auraient subies deux hivers pour un été dans le même temps d'élevage.

#### 2.2.3.2. - Mortalité.

Nous avons évalué le taux de survis et le pourcentage de mortalité journalier (Tableau n° 13). Si les pertes au laboratoire sont minimales, de l'ordre de 0,6 à 1%, en bassin elles ont été de 1,3%, en mer de 1,33% le premier été et de 0,50% le second été. Durant l'hiver les pertes journalières sont faibles 0,05 à 0,07%. Walne (1974) cite des chiffres de 0,7 pour des huîtres de 1 à 2 cm., 0,40 pour des animaux de 3 à 4 cm. et 0,05 à 0,10 pour des tailles supérieures, mais il faut considérer que la durée de la période de prédation est plus courte sur la côte Ouest de l'Angleterre. Néanmoins, la diminution progressive

du taux de mortalité indique une résistance progressive, en fonction de la taille, vis à vis des prédateurs. La mortalité globale est inférieure à celle des huîtres de captage naturel. Le détroquage intraîne 15 à 50% de mortalité selon ANDREU et ARTE (1956), MARTEIL (1971) par casse et traumatismes de post-détroquage.

La mortalité dans l'année qui suit est de 50% et de 20% dans la deuxième année. MARIN (1971) a constaté un taux de 30 à 40% pour des huîtres de 55 à 80 g.

Le naissain d'écloserie se montre tout aussi résistant que le naissain naturel. Seule la période de protection doit être améliorée.

Les pertes dans la nature entre la fixation et le détroquage n'ont jamais été évaluées. Pour YONGE (1970), 3% du jeune naissain d'écloserie donnerait des huîtres de un an. Nous avons obtenu un pourcentage de 2%.

#### 2.2.3.3. - Rapport mortalité/croissance.

Le maintien des huîtres en bassin a fait augmenter le pourcentage de mortalité ; lors de la mise en mer, cette mortalité diminue. Il y avait donc une insuffisance alimentaire, soulignée par une croissance journalière importante (18%/jour), (Fig n°11). Après la période estivale la croissance se ralentit fortement par diminution du phytoplancton et abaissement de la température. En période hivernale l'arrêt presque complet de l'activité des prédateurs fait diminuer le taux de mortalité et la croissance n'est pas arrêtée.

Les courbes montrent que le pourcentage de mortalité et l'incrément peuvent se superposer.

Pour nos huîtres nées début mars, elles auraient dû passer un mois en laboratoire (Avril) et deux mois en bassin (mai-juin) alors qu'elles n'ont été mises en mer qu'à la fin juillet.

2.2.3.4. - Etude comparée de la croissance et de la mortalité des huîtres "Pied de cheval" et "Belon".

En écloserie, l'huître, adulte et sauvage, native de Normandie, appelée "Pied de cheval" donna des larves beaucoup plus viables que les "Belons" cultivées provenant de Bretagne. Mais il faut mentionner que les géniteurs d'origine normande étaient de taille plus importante que les "Belons".

Le tableau n° 14 nous montre que le taux de croissance diminue rapidement en écloserie malgré l'apport de nourriture, alors que la mortalité n'augmente pas. L'apport naturel de phytoplancton suffit à maintenir les animaux en vie.

Les mesures ont été faites annuellement. L'élevage thermorégulé à 20°C. On peut remarquer, après une décroissance de l'incrément et stabilisation de celui-ci, une légère augmentation de la croissance en avril et septembre, ces deux mois correspondant aux deux poussées de phytoplancton dans notre région.

En 1976, l'été particulièrement sec a décalé en automne la période de pousse maximale des huîtres.

Ainsi on peut repérer les périodes d'abondance en phytoplancton à l'aide du jeune naissain en fixant le paramètre température. Le taux de survie pour les deux lots est souvent très voisin, le nombre réduit d'animaux en culture et cette seule expérimentation ne permet pas de tirer des conclusions valables concernant la valeur de ces deux souches. Des considérations d'ordre génétique sont à envisager en vue d'une sélection de géniteurs.

CONCLUSIONS

Le naissain ne peut être tenu plus d'un mois en culture intensive (laboratoire ou écloserie) car les besoins en eau et en nourriture deviennent trop importants.

Après une taille supérieure à 2 mm., il doit être placé en culture extensive en pochon de maille de 1 mm. dans des bassins

fermés en vue de sa protection. Ces bassins pouvant être alimentés en phytoplancton (Nursery).

Après avoir atteint une taille de 1 cm. (2 mois), il peut être élevé en mer.

En moins d'un an il est possible d'obtenir des huîtres commercialisables. Une étude comparée sur la croissance et la mortalité, portant sur des huîtres d'origine différente a été menée, mais aucun résultat n'a pu être tiré.

Actuellement, la faisabilité technique et économique de l'aquaculture de l'huître n'est plus à démontrer. La possibilité de maintenir les géniteurs pour un cycle suivant et la maîtrise de la reproduction par des géniteurs nés en écloserie, permettent d'affirmer qu'une sélection devient une nécessité à ce stade.

BIBLIOGRAPHIE

- ANDREU B. et ARTE P. (1956) - Expériences préalables sur la fixation des larves et la croissance hivernale des jeunes huîtres (Ostrea edulis) des Rias galiciennes. Rap. Cons. Explor. mer, 140 (3), 17-22.
- BRENKO H.R.S. (1973) - Croissance de l'huître (Ostrea edulis L.) et de la moule (Mytilus galloprovincialis Lmk) dans les parcs de culture de l'Adriatique Nord. Rev. C.G.P.M., 52, 35-45.
- DAVIS H.C. (1971) - Design and development of an environmental controls system for culturing oyster larvae. Proceeding of the conference on artificial propagation of commercially valuable shellfish (oyster) Oct. 22-23 1969, 135-149.
- DESERVEE A. et COLIN F. (1976) - Recherches sur la sexualité de l'huître japonaise Crassostrea gigas. DEA de biologie animale, Faculté des Sciences - CAEN.
- FERREIRA L. (1975) - Estudio comparativo de tecnicas de cultivo experimental des estras Ostrea chilensis. Inf. Pesq. Inst. Inv. Pesq. Santiago, (58), 1-18.
- GUERIN J. (1906) - Notes préliminaires sur les gisements de mollusques comestibles des côtes de France. Golfe du Calvaados. Bull. Inst. Océan. Monaco, (67), 15 pp.
- HAINES B. (1972) - A rapid technic for recording size of juvenile pelecypod molluscs. Aquaculture, 1, 433.
- HIS E. (1968) - Survie du naissain de Crassostrea angulata et Ostrea edulis à différentes salinités. Rev. Trav. Inst. Pêche marit., Fr., 32 (4), 409-412.
- HOLLAND D.L. et HANNANT P.J. (1974) - N.E.R.C. Unit of Marine Invertebrate Biology, Marine Science Laboratory, Menai Bridge, Anglesey. Biochemical Changes during Growth of the Spat of the Oyster, Ostrea edulis L. J. mar. biol. Ass. U.K., 54, 1007-1016.
- HOLLAND D.L. et HANNANT P.J. (1976) - The glycogen in winter and summer of oysters, Ostrea edulis L., of different ages. Cons. Int. Explor. mer. J. Cons., 36 (3), 240-242.
- KORRINGA P. (1955) - Recent advances in oyster biology. Quart. Rev. Biol., 27, 266-308.

MACKIN J.G. (1971) - Oyster culture and disease. Proc. Ann. Workshop World Mariculture Soc. 1970, 35-38.

MARIN J. (1971) - Croissance, condition et mortalité des huîtres du Belon. Rev. Trav. Inst. Pêches marit., 35 (2), 201-212.

MARTEIL L. (1960) - Ecologie des huîtres du Morbihan Ostrea edulis L. et Gryphaea angulata Lmk. Rev. Trav. Inst. Pêches marit. 24 (3), 329-446.

MARTEIL L. (1971) - Environnement et mortalité des huîtres plates de la rivière de Belon. (1961-70). Rev. Trav. Inst. Pêche Marit., Fr., 35 (2), 103-108.

ORTON J.H. (1935) - Larves of shell-growth in english native oyster beds (Ostrea edulis). Nature, 135, 340. London.

POUVREAU B. (1975) - Biologie de l'huître plate "Pied de cheval" (Ostrea edulis L.) Rapport d'activité CNEXO - Contrat 74/1148.

RIOU A. (1975) - De l'ostréiculture en Bretagne : ses problèmes. Thèse vétérinaire (Toulouse), n° 72.

SHELDON R.W. (1968) - The effect of high population density on the growth and mortality of oysters (Ostrea edulis). J. Cons. Int. Explor. Mer. 31 (3), 352-263.

WALNE P.R. (1958) - Growth of oysters (Ostrea edulis L.), J. mar. Biol. Ass. U.K., 37, 591-602.

WALNE P.R. (1970) - The seasonal variation of meat and glycogen content of seven populations of oysters Ostrea edulis L. and a review of the literature. Fish. Invest. Ser. 2, 36 (3), 1-35.

WALNE P.R. et SPENCER B.E. (1971) - Further experiments on the growth of the spat of Ostrea edulis L. in a closed water system. Fisheries experiment station, Conway.

WALNE P.R. (1972) - The influence of current speed, body size and water temperature on the filtration rate of five species of bivalves. J. mar. Biol. Ass. U.K., 52 (2), 345-374.

WALNE P.R. et SPENCER B.E. (1974) - Experiments on the growth and food conversion efficiency of the spat of Ostrea edulis L. in a recirculating system. J. Cons. int. Explor. mer. 35 (3), 303-318.

WALNE P.R. (1974) - Culture of bivalve molluscs. 50 years d'expérience at CONWY. The whitefriars Press Ltd. ISBN 085.235 0881 1-178

YONGE C.M. (1970) - Oyster cultivation, Underwater Science Tech. J., 2 (3), 138-144.

CHAPITRE V

ESSAI D'ANALYSE GENETIQUE DE DIFFERENTES POPULATIONS

d'Ostrea edulis



## CHAPITRE V

### ESSAI D'ANALYSE GENETIQUE DE DIFFERENTES POPULATIONS

#### d'Ostrea edulis

#### INTRODUCTION

L'huître plate Ostrea edulis est largement répandue sur les côtes de France. Son abondance et sa distribution ont été grandement influencées par l'homme. Actuellement, sa maladie a fait régresser la culture sur les côtes atlantiques et seules les ostréicultures normandes sont encore indemnes. Les huîtres méditerranéennes ne sont presque plus exploitées. Bientôt le réapprovisionnement en naissain dépendra des élevages sélectionnés en éclosérie. Mais avant de tenter une sélection, il faut connaître le patrimoine génétique de nos populations d'huîtres sauvages ou cultivées.

Nous avons essayé, dans ce chapitre, d'analyser la variabilité génétique des populations d'huîtres plates provenant de la Manche, de l'Atlantique et de Méditerranée, en étudiant le polymorphisme enzymatique au niveau de cinq loci. Cette méthode a été employée avec succès par WILKINS et MATHERS (1973) pour comparer différentes populations d'huîtres plates d'Irlande et de la Mer du Nord. Aucune recherche de ce type n'ayant été effectuée sur Ostrea edulis des côtes de France, nous avons tenté une première approche de ce problème.

#### I - MATERIEL ET METHODES

##### 1.1. - Principe de la méthode.

La séquence des acides aminés d'une chaîne polypeptidique est codée par les doublets du segment d'ADN.

Ces loci aboutissent à la synthèse de protéines dont la séquence des acides aminés est toujours la même. Toute modification survenant dans un gène change la structure de la protéine synthétisée correspondante. Ces protéines peuvent être séparées les unes des autres lorsqu'on les oblige à migrer dans un gel d'amidon sous l'influence d'un champ magnétique (électrophorèse). Ces protéines, par leur charge électrique, leur taille, leur structure spatiale, leur séquence d'acides aminés ont des vitesses de migration différentes. Les enzymes sont des protéines et leur localisation finale dans le gel, après électrophorèse, est révélée par leur substrat ou par la formation d'un sel qui se combinera avec l'enzyme (ou le produit de réaction) pour donner un précipité coloré insoluble sur le site de l'activité enzymatique.

### 1.2. - Le matériel utilisé.

La provenance de nos huîtres est diverse. (Tableau n° 15). A la demande des ostréiculteurs de Saint VAAST LA HOUGUE, qui, ayant acheté du naissain d'huître plate à une écloserie, s'aperçurent que sa croissance était faible et sa forme plus allongée, nous avons étudié ces huîtres d'écloserie appelées "X" car les géniteurs étaient d'origine inconnue.

### 1.3. - Préparation des échantillons.

Selon la taille de l'animal les prélèvements de tissus, pour analyse, se font dans le muscle adducteur à contraction rapide (portion vitreuse) qui est le plus riche en enzyme, ou bien dans la glande digestive ou l'animal entier avec sa coquille lorsque nous avons affaire à du naissain.

Les prélèvements ( $1 \text{ cm}^3$  au maximum) sont placés dans des tubes en polyéthylène dans lesquels on ajoute à partie égale du tampon d'extraction froid, (composition donnée dans le tableau n°16)

Après une nuit à 4°C, on homogénéise rapidement le tissu avec un potter, puis on centrifuge à 3200 t/mn pendant 20 mn à 5°C.

#### 1.4. - Préparation des gels d'amidon.

Les gels d'amidon sont réalisés la veille d'après la technique de SCOPES (1968). (Fig. n° 11 et tableau n° 17). Ils comportent 21 fentes d'insertion correspondant à 10 échantillons et 1 fente centrale pour le colorant (Bleu de Coomassie) marquant le front de migration et permettant d'orienter les gels après découpage. Ces gels sont coupés en 2 dans leur épaisseur et dans leur largeur, (Fig. n° 12), ce qui nous permet de révéler 3 enzymes dans les gels et 2 autres sur papier par contact, en fardant un gel en cas d'erreur ou de destruction lors des manipulations.

#### 1.5. - Electrophorèse.

Elle se fait en chambre froide à 4°C. Les bacs d'électrolyte contiennent 250 ml de tampon. Les électrodes sont en fil de platine (Fig. n° 13). Les ponts conduisant l'électrolyte aux gels latéraux sont réalisés par 3 feuilles de papier à Chromatographie Whatman n° 3. Un film de cellophane empêche la déshydratation de l'ensemble.

##### 1.5.1. - Tension et intensité.

L'intensité maximale à appliquer est de 40 mA, le voltage de 400 v ; on ne dépassera pas ces valeurs pour ne pas dénaturer les protéines par la chaleur (effet Joule). Le voltage maximum est obtenu une heure et demie après la mise en marche. (Fig. n° 14).

##### 1.5.2. - Durée.

On arrête l'électrophorèse lorsque le colorant atteint le gel latéral, soit en moyenne 3 à 4 heures après la mise en route. (Fig. n° 13)

## II - ETUDE ELECTROPHORETIQUE.

L'analyse porte les isoenzymes qui sont des enzymes pouvant exister sous des formes moléculaires multiples - SHAW (1965). Pour PALMER (1971) ce sont des enzymes qui ont les mêmes (ou presque les mêmes propriétés catalytiques mais qui diffèrent par leur propriétés chimiques ou physiques. Les mutations n'altèrent en rien les activités enzymatiques de ces protéines. Les techniques d'électrophorèses ont été décrites par SCOPES (1968), GORDON (1972) et AYALA et coll. (1973).

### 2.1. - Les Isoenzymes étudiés.

Le gel utilisé nous permet d'analyser 5 isoenzymes (SHAW et PRASAD 1970), qui par ailleurs ont déjà été étudiées chez l'huître plate par WILKINS (1975).

#### 2.1.1. - Les Isoenzymes de la glycolyse.

PGI Phosphoglucose Isomérase (E.C. 5.3.1.9.)

PGM Phosphoglucomutase (E.C. 2.7.5.1.)

Méthode de Scopes (1968) : La présence de ces enzymes est mise en évidence par la réduction du "nitro blue tetrazolium" (NBT) par la Nicotinamide Adenine Dinucléotide phosphate (NAD-P) en présence de la Glucose Phosphate déhydrogénase (G-6-P-DH) et de la Phénazine méthosulfate (PMS).

Les enzymes doivent être très pures et ne pas diffuser trop rapidement ; pour cela on les révèle par plaquage sur le gel d'un papier filtre imbibé de révélateur. Par cette technique les besoins en produit sont moindres mais il faut éviter les bulles d'air.

Nous obtenons des bandes bleues de NBT-réduit au niveau des sites de l'activité enzymatique.

Le papier filtre peut être lavé et séché pour conserver les résultats.

Révélateurs (pour 2 gels)

	PGI	PGM	
NAD (P)	2	2	mg
NBT	5	5	mg
PMS	3	3	mg
G-6-P DH	50	50	U
F-6-P	25	0	mg
GIP	0	30	mg
Tampon d'extraction	10	10	ml
Durée incubation	10	60	mn

Résultats : Nous avons pu mettre en évidence les phénotypes suivants :

- PGI L'huître plate possède deux phénotypes pour la PGI. Cet enzyme est un dimère codé par deux allèles sur un même locus (Fig n° 15 ).

- PGM Il existe 5 phénotypes (Fig n° 15 ) avec 3 allèles. Les phénotypes avec une bande sont homozygotes, ceux avec deux bandes sont hétérozygotes.

### 2.2.2. - Les peptidases.

Leur révélation se fait selon les techniques mises au point par AYALA et coll. (1973)

LAP = Leucine aminopeptidase (E.C. 3.4.1.1.)

Substrat :

L Leucyl B Naphthylamide	20 mg
Diméthylformamide	15 ml
Tampon tris maléique (Ph 7,4)	85 ml

Incubation 1 heure à 37°C puis rinçage à l'eau

Révélation

Fast Garnet GBC	100 mg
Tampon tris maléique	100 ml

Coloration rouge en 1/2 heure.

Résultats : Nous trouvons 2 bandes. Ce résultat peut s'interpréter de deux façons différentes : (Fig. 16)

- Tous les individus sont hétérozygotes pour un locus
- Tous les individus sont monomorphiques au niveau de deux loci distincts. Cette dernière hypothèse semble le plus en conformité avec les résultats des Auteurs.

Estérase

Est<sub>F</sub> = Estérase (E.C. 3.I.I.2.)

Nous avons étudié que les estérases à migration rapide car le groupe intermédiaire interfère avec la révélation des PGI.

(Fig n°16) L'incubation se fait à 37°C pendant 15mn dans de l'acide borique à 0,25 M.

Révélation :

Tampon estérase		100 ml
Fast Garnet GEC salt		60 mg
Solution d'alpha <sup>N</sup> aphtyl acétate (ANA)		1,5 ml

Coloration en rouge des sites enzymatiques en 60 mn

Tampon estérase	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1M
	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,5M
Solution ANA	Acétone	100 ml
	H <sub>2</sub> O	100 ml
	Alpha Naphtyl	
	Acétate	2 g

Résultats :

Les estérases à migration rapide seraient codées par 2 allèles sur un locus ; nous trouvons 2 phénotypes, 1 homozygote et 1 hétérozygote.

MDH

MDH Malate deshydrogénase (E.C. 1.1.1.37.)

substrat

Tampon tris HCl (Ph 8,6)	100 ml
Nitro blue tetrazolium	20 mg
B Nicotinamide Adénine dinucléotide	25 mg
L malic acide	50 mg

Incubation : 1 heure.

Révélation par 5 mg de Phénazine méthosulfate en plus d'une heure par coloration en bleu des sites enzymatiques (NBT-réduit)

Résultats : (Fig.17)

Nous avons distingué 2 zones :

Zone I : Monomorphique (1 allèle) Homozygote

Zone II : Polymorphique (3 allèles) avec 6 phénotypes (Fig n° 17)

D'après PARK et coll. (1974) la Malate deshydrogénase, par sa grande spécificité, serait très utile pour différencier les espèces.

## 2.2. - Utilisation des méthodes statistiques en génétique.

Il importe de préciser un certain nombre de paramètres.

### 2.2.2. - Liste et nombre des phénotypes.

Elle est fonction du nombre d'allèles. Pour LAP nous n'avons trouvé qu'un seul phénotype alors que pour la MDH nous en avons trouvé 6.

2.2.3. - Calcul de la fréquence des allèles. On considère que la répartition se fait suivant le type Mendélien. Pour deux Allèles A et B on a :

$$(p + q)^2 = p^2 + 2 pq + q^2 = 1$$

où : p = fréquence de l'allèle A

q = fréquence de l'allèle B

Prenons pour exemple la PGI :

Nous avons : AA, 86

AB, 14

BB, 0

---

Total 100

$$\text{Fréquence de A : } F_a = \frac{(2 \times 86) + 14}{2 \times 100} = 0,93 = p$$



$$\text{Fréquence de B : } F_b = \frac{14}{2 \times 100} = 0,07 = q$$

Si il y a plus de 2 allèles les fréquences sont alors p, q, r, s, t, ...

Les fréquences théoriques peuvent être calculées par la formule

$$(p + q + r + s + t + \dots + z)^2 = I$$

#### 2.2.4. Calcul du nombre théorique de phénotypes.

La fréquence des phénotypes est constante et, de génération en génération, la population gardera des fréquences de gènes constantes. Les populations qui remplissent ces conditions sont dites en équilibre (Loi de HARDY-WEINBERG). Le nombre théorique de phénotypes est égal à la fréquence des allèles multipliés par le nombre total d'animaux étudiés.

$$\begin{array}{l} \text{Soit} \quad AA \quad AB \quad BB \\ \quad \quad p^2 \quad 2pq \quad q^2 \end{array}$$

Pour l'exemple PGI

$$AA_t = 0,93 \times 0,93 \times 100 = 86,5$$

$$AB_t = 0,93 \times 0,07 \times 2 \times 100 = 13$$

$$BB_t = 0,07 \times 0,07 \times 100 = 0,5$$

#### 2.2.5. - Condition de validité

Il faut : que les effectifs de la population soient élevés, de telle sorte que les écarts dus au hasard entre les fréquences réelles et les fréquences théoriques soient négligables.

- que les fécondations se fassent au hasard dans la population (Une telle population est dite panmictique). Nous verrons que ce n'est plus le cas en éclosion.

- que les individus de phénotype différent soient également viables et fertiles, c'est à dire qu'il n'y ait pas de sélection en certaines catégories.

- qu'aucune mutation ne vienne augmenter, ni diminuer la fréquence d'aucun gène.

- qu'il n'y ait aucun apport d'individus étrangers, susceptibles de modifier les fréquences de gènes et de phénotypes dans la population fille. Les progrès dans la vitesse des transports font que le naissain et les huîtres voyagent à des distances considérables. Ces individus sont parfois capables de s'hybrider avec les populations indigènes.

2.2.6. - Calcul du  $\chi^2$ .

C'est la somme des termes égal au rapport :

$$\chi^2 = \frac{(\text{Nombre de phénotypes observés} - \text{Nb phénotypes théoriques})^2}{\text{Nb. phénotypes théoriques}}$$

La somme des  $\chi^2$  ou  $\sum \chi^2$  exprime l'ampleur des différences entre les résultats expérimentaux et les nombres théoriques. Plus cette différence est grande, plus le  $\chi^2$  est élevé.

Prenons comme exemple de calcul PGI

(Echantillon )

$$AA \quad \chi^2 = \frac{(86 - 86,5)^2}{86,5} = 0,003$$

$$AB \quad \chi^2 = \frac{(14 - 13)^2}{13}$$

$$BB \quad \chi^2 = \frac{(0 - 0,5)^2}{0,5}$$

Le faible nombre de cas observés pour BB n'autorise pas à calculer le  $\chi^2$ . On peut donc grouper le  $\chi^2$  pour le calcul de AB + BB.

On obtient ainsi :

$$(AB + BB) \chi^2 = \frac{(14 - 13,5)^2}{13,5} = 0,018$$

$$\chi^2 = 0,003 + 0,018 = \underline{\underline{0,021}}$$

2.2.7. - Calcul du degré de liberté.

A chaque test statistique est attachée une caractéristique appelée "degré de liberté" qui exprime le nombre de comparaisons indépendantes intervenant dans le calcul de  $\chi^2$ . Ce nombre est égal au nombre de comparaisons effectuées pour le calcul du  $\chi^2$ .

diminué du nombre de paramètres expérimentaux distincts nécessaire pour le calcul des valeurs théoriques.

Degré de liberté = Nombre de comparaisons - Nombre de paramètres

Le nombre de paramètres est égal à 1 (c'est le paramètre "total des individus observés").

Soit pour notre exemple  $3 - 1 = 2$  degré de liberté.

Mais ceci est purement théorique puisque nous avons dû regrouper AB + BB. Nous n'avons donc plus que  $2 - 1 = 1$  degré de liberté.

Pour la loi de HARDY-WEINBERG, le niveau de signification a été fixé à 5% par LEWONTIN et COCKERHAM (1959). Sur le tableau n°19 (PGI - population ), nous trouvons une  $\chi^2 = 0,188$ .

Par ailleurs, l'examen du tableau n°18 montre que pour 1 degré de liberté on trouve un  $\chi^2 = 3,841$ .

On peut alors considérer que les résultats <sup>ne</sup> sont <sup>pas</sup> significatifs et en accord avec la Loi de HARDY-WEINBERG.

2.2.8. - Calcul du nombre effectif d'allèles = Ne.

Ce nombre Ne est égal à l'inverse de la somme des carrés des fréquences des allèles ; c'est aussi une évaluation de la fréquence des hétérozygotes soit :

$$Ne = \frac{1}{(p^2 + q^2 + \dots + n^2)}$$

On a H = fréquence actuelle des hétérozygotes.

$$H = \frac{\text{fréquence actuelle du Nbre d'hétérozygotes}}{\text{Nbre total des individus}} = \frac{2pqN}{N}$$

$$Ne = \frac{1}{(p^2 + q^2 + \dots)}$$

$$(p^2 + q^2 + \dots) = 1 - (2pq, 2pr, 2qr, \dots)$$

soit  $Ne = \frac{1}{1-H}$

### III - RESULTATS ET DISCUSSION.

#### 3.1. - Résultats.

##### a) PGI (Tableau n° 19).

La lecture des bandes révélant les sites de l'activité enzymatique est aisée. De petites bandes satellites, nettement plus claires, représentent des formes altérées ou modifiées de la fraction principale. La distribution des phénotypes est en accord avec la loi de Hardy-Weinberg. Les phénotypes hétérozygotes sont plus nombreux dans la population d'origine méditerranéenne. La population d'origine inconnue (X) se rapproche de cette dernière par la fréquence de ses allèles. (1) En ce qui concerne les populations originaires de St VAAST la HOUGUE et de LOCMARIAQUER aucune différence notable n'est visible.

La fréquence de l'allèle le plus courant varie (A) de 0,91 à 0,98, WILKINS et MATHERS (1974) avaient trouvé des fréquences variant de 0,94 à 0,99 pour des populations norvégiennes et Irlandaises.

##### b) PCM (Tableau n° 20).

Le nombre d'individus analysés est assez important. Nous avons trouvé 5 phénotypes et 3 allèles. La répartition des fréquences des allèles est en accord avec la loi de Hardy-Weinberg. On peut noter que la fréquence de l'allèle le plus commun est plus forte dans la population méditerranéenne et celle d'origine inconnue (X) alors que les 3 autres populations ont des fréquences d'allèles assez semblables.

##### c) LAP (Tableau n° 21)

Chez Mytilus edulis MILKMAN (1971), MITTON et KOEHN (1972), LEVINTON et FUNDILLER (1974) et MURDOCK et coll. (1975) s'accordent pour montrer que la variabilité de l'enzyme est fonction de l'habitat et de la taille de l'animal.

(1) Nous avons eu depuis la confirmation que ces animaux étaient d'origine méditerranéenne.

De même chez Modiolus demissus cet enzyme montre plusieurs phénotypes MILKMAN et BEATY (1970). SCHOPF et GOOCH (1970) chez Schizoporella unicornis démontrent que la fréquence des allèles fluctue dans le même sens que la température. Pour toutes nos populations nous n'avons trouvé qu'un seul phénotype avec 2 bandes bien séparées. (Tableau n° 21).

Comme nous l'avions supposé ci-dessus nous sommes vraisemblablement en présence de deux loci monomorphiques.

Parmi les individus récoltés en méditerranée nous avons observé la présence d'huîtres dont les bandes sont décalées par rapport à celles d'Ostrea edulis. Par comparaison avec les enzymogrammes de Crassostrea gigas et d'Anomia ephippium nous avons pu identifier ces huîtres comme du genre ostrea. D'après la description donnée par TORIGOE et INABA (1975) ce serait Ostrea futamiensis, d'origine japonaise, apportée lors de l'importation de naissain d'huîtres japonaises, Crassostrea gigas, après la maladie de Crassostrea angulata. Grâce à cet enzyme nous avons pu différencier deux espèces d'ostrea. Ostrea futamiensis se distingue d'Ostrea edulis par quelques caractères morphologiques (crênelures du bord de la coquille).

d) Est f (Tableau n° 22).

Cette enzyme a permis à MATHERS et coll. (1974) de montrer que les espèces Crassostrea gigas et Crassostrea angulata sont similaires par la fréquence de leurs allèles et le schéma de leur bande. Crassostrea angulata serait un "isolat" de Crassostrea gigas. MENZEL (1974) confirme cette théorie par des hybridations entre les deux huîtres. Crassostrea angulata serait une sous-espèce de Crassostrea gigas. Malgré une lecture parfois difficile des gels, les estérases à migration rapide montrent que les populations normandes et bretonnes sont très similaires par la fréquence de leur allèle. (Tableau n° 22).

La population d'ARCACHON se rapproche, par ses caractéristiques, de la population méditerranéenne et de celle d'origine inconnue. La fréquence de l'allèle le plus courant varie de 0,84 à 0,93. WILKINS et MATHERS (1973) trouvent des fréquences de 0,9 à 1,0 pour les huîtres irlandaises et norvégiennes.

e) MDH (II) (Tableaux n° 23 et 24).

Cette enzyme a été étudiée par KOEHN et MITTON (1972) chez Mytilus edulis et Modiolus modiolus. Elle a permis à MANWELL et coll. (1967) de différencier deux espèces de Calanus. Chez Ostrea edulis la zone I monomorphique s'avère de lecture facile et montre aucune différence entre les populations. (Tableau n° 23). Par contre la zone II polymorphique présente de grandes différences avec 6 phénotypes et 3 allèles. Malheureusement le petit nombre d'animaux étudiés nous fait donner ces chiffres sous toute réserve. Par contre les populations normande et bretonne paraissent semblables (Tableau n° 24).

3.2. - Discussion (Tableau n° 24)

D'après LUBET (1976) il n'est pas surprenant que des populations habitant des milieux différents varient par leurs caractéristiques biochimiques. Ces différences biochimiques sont plus prononcées entre des races séparées géographiquement. Ces races sont adaptées à leur milieu grâce à des potentialités génétiques particulières gouvernant entre autres la croissance ou la température de la ponte ; elles peuvent être appelées des "races physiologiques" selon LOOSANOFF et NOMEJKO (1955) ou KORRINGA (1956).

Les recherches enzymologiques que nous avons effectuées permettent de suggérer que les populations étudiées se divisent en deux groupes (Tableau n° 24) : un groupe "Manche Atlantique" (Bretagne), un groupe "Méditerranée".

La population d'ARCACHON semble s'éloigner de celle du groupe "Atlantique" mais on sait que cette population "sauvage" d'huîtres plates, prospère jusqu'en 1880, a progressivement disparu pour être remplacée par une population d'huîtres de culture reconstituée avec des huîtres d'origine diverse (Bretagne - Hollande) (1) Son origine génétique est donc douteuse. Par ailleurs, le milieu très spécial que constitue le Bassin d'Arcachon introduit des facteurs de sélection importants.

La population X, d'origine méditerranéenne a produit du naissain qui a peu poussé en Manche car la température des eaux était trop froide.

Dans aucun des cas étudiés dans ce travail, nous n'avons pu mettre en évidence un polymorphisme adaptatif aussi prononcé que celui de Mytilus edulis BOYER (1974), KOEHN, MILKMAN et MITTON (1976) où la répartition des allèles se fait en fonction de la latitude (température), de la salinité ou de la taille.

### 3.2.1. - Problème de la sélection.

La sélection de géniteurs donnant des larves particulièrement robustes, réfractaires aux maladies, poussant rapidement, rendrait d'immenses services à l'ostréiculture moderne.

Chez Crassostrea gigas, (BUROKER et coll. - 1975), une souche résistante, aux maladies causées par Vibrio sp., a été sélectionnée.

La compréhension des modes d'adaptation de ces organismes est en cours. D'après LEWONTIN (1957) il y aurait une homéostasie individuelle ; la survivance d'une population est due au fait que certains membres sont capables de survivre dans un environnement différent, les hétérozygotes seraient à la base d'un tel phénomène.

---

(1) Le même phénomène s'est produit en Hollande où l'on a reconstitué des gisements naturels à la fin du XIXe siècle à partir d'huîtres plates d'Arcachon.



Il existerait également une homéostasie de population, car la composition génétique d'une population est diverse, et contient de nombreux génotypes. Chaque génotype a des caractéristiques distinctes des autres individus de la population si bien que l'ensemble des génotypes a des limites plus grandes que chaque génotype pris individuellement. Certains de ces génotypes seront capables de survivre si des changements sévères interviennent dans leur environnement.

### 3.2.2. - Problème des écloséries.

D'après ROBERTSON (1972) la génétique biochimique aurait peu d'avenir en éclosérie car les corrélations entre les génotypes et les résultats sont très faibles ; la variabilité des gènes est plus grande que l'on ne le soupçonne et on estime à 1/3 le nombre des substitutions mises en évidence par des techniques d'électrophorèse.

Mais chez les Invertébrés, nous sommes en présence d'un haut degré de variabilité en rapport avec leur environnement qui est souvent très hétérogène. L'analyse du polymorphisme génétique des gènes codant les enzymes est un moyen simple et efficace de détecter cette variabilité.

Les remarquables travaux de WILKINS (1975) montrent qu'une réduction de variabilité des allèles peut être mise en évidence chez les animaux élevés en éclosérie : on constate une diminution du nombre des phénotypes. Car nos méthodes d'élevage larvaire stabilisent les variables (température, salinité, nutrition, ...), ce qui crée une forte sélection unidirectionnelle. De par la grande fécondité des géniteurs un petit nombre de larves est utilisé, (passage sur tamis avec élimination des individus les plus faibles) d'où une réduction des phénotypes. Par la suite, les hybridations entre populations filles ne font qu'exagérer ce phénomène. On se doit donc de conserver la plus grande proportion de phénotypes.

Chez Gassostrea gigas LONGWELL (1976) a montré que les hybridations entre individus homozygotes diminuaient la vigueur et la viabilité des larves.

Le taux de mortalité, de fixation, de croissance des larves élevées en écloserie sont étroitement influencés par le patrimoine génétique des parents. Dans la nature les animaux ayant passé le stade planctonique et la métamorphose ont subi une sélection plus ou moins forte du milieu. En écloserie, la standardisation des méthodes d'élevage fait que les paramètres sont les mêmes pour toutes les familles de larves ; la sélection est orientée et seuls les génotypes adaptés à ces conditions particulières d'élevage se conservent. WALNE et WOOD (1975) chez la Palourde, Venerupis decussatus, ont montré des taux de survie et de croissance différents en fonction des croisements effectués.

Les corrélations entre ce polymorphisme enzymatique et les différents résultats enregistrés sont encore inconnus.

On se doit donc, en écloserie, de prendre des géniteurs sauvages pour maintenir une grande variabilité dans les phénotypes. On conservera pour la reproduction, si une étude enzymatique est réalisée, les individus hétérozygotes montrant une plus grande adaptabilité, surtout si le naissain doit être exporté vers des régions différentes.

#### CONCLUSIONS.

Nous avons pu suggérer, chez Ostrea edulis, l'existence de races physiologiques montrant des variations dans la fréquence de leurs allèles. Les animaux d'origine bretonne et normande sont très peu différents. Les huîtres d'origine "inconnue" sont biochimiquement à rapprocher des huîtres méditerranéennes et sont physiologiquement inadaptées aux eaux normandes.

Nous avons détecté la présence d'Ostrea futamiensis, d'origine japonaise, dans la population originaire de TAMARIS.

Nous avons étudié les variations pouvant exister entre des populations séparées géographiquement, mais comme chez Mytilus edulis, il peut exister des variations en fonction de l'habitat dans un même lieu géographique, ce qui permettrait d'établir les corrélations existant entre la variabilité et l'hétérogénéité du milieu. Certaines espèces comme le clam Mercenaria mercenaria et Mercenaria campechiensis peuvent s'hybrider (PESH - 1974). Malgré leurs différences biochimiques, l'isolement sexuel n'est pas encore atteint et ce ne sont que des "espèces naissantes" comme l'envisageait DOBSHANSKY (1970).

Pour l'avenir, si des analyses sont réalisées dans les écloséries pilotes, il faudra retenir des géniteurs ayant les plus grandes variabilités. Actuellement les résultats les meilleurs sont obtenus avec des géniteurs sauvages montrant en général un taux d'hétérozygotes important. Le naissain obtenu est mis en culture dans les mêmes eaux d'élevage que les géniteurs. Les travaux de LONGWELL et STILES (1973 a,b) montrent que les hybridations entre descendants sont à éviter. De toute façon chez Ostrea edulis, espèce larvipare, l'hybridation sélectionnée est techniquement plus difficile que chez les Crassostrea sp. Une sélection devient nécessaire pour améliorer la qualité du produit et augmenter la résistance aux maladies ; l'étude du polymorphisme biochimique par électrophorèse est un moyen d'investigation qui permet d'estimer le degré de variabilité génétique dans une espèce.

BIBLIOGRAPHIE

- AYALA F.J., HEDGECOCK D., ZUMWALT G.S. and VALENTINE J.W. (1973) Genetic variation in Tridacna maxima, an ecological analog of some unsuccessful evolutionary lineages Evolution, 27, 177-191.
- BOYER J.F. (1974) - Clinal and size-dependant variation at the LAP locus in Mytilus edulis. Biol. Bull., 147 (3), 535-549.
- BUROKER N.E., HERSHBERGER W.K. and CHEW K.K. (1975) - Genetic variation in the Pacific oyster, Crassostrea gigas. J. Fish Res. Board Can. 32 (12), 2471-2477.
- DOBZHANSKY T. (1970° - Genetics of the evolutionary process. Columbia university Press, New-York, 505.
- GORDON A.H. (1972) - Electrophoresis of proteins in polyacrylamide and starch gels. Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology. Ed. T.S. WORK and E. WORK, 1-149.
- KOEHN R.K. and MITTON J.B. (1972) - Population genetics of marine pelecypods. I - Ecological heterogeneity and evolutionary strategy at an enzyme locus. The American Naturalist., 106 (947).
- KOEHN R.K., MILKMAN R. and MITTON J.B. (1976) - Population genetics of marine pelecypods. IV - Selection migratic and genetic differentiation in the blue mussel Mytilus edulis. Evolution 30 (1), 2-32.
- KORRINGA P. (1956) - Water temperature and breeding throughout the geographical range of Ostrea edulis. Ann. Biol. 30, 1-17.
- LEVINTON J.S. and FUNDILLER D.L. (1974) - An ecological and physiological approach to the study of biochemical polymorphisms. In Ninth European Marine Biology Symposium, OBAN, U.K., BARNES H. Ed. 165 - 178.
- LEWONTIN R.C. (1957) - The adaptation of populations to varying environments. Cold spring Harbor Symposia on quantitative Biology, 22, 395-408.
- LEWONTIN R.C. and COCKERHAM C.C. (1959) - The goodness of fit test for detecting natural selection in random meeting populations. Evolution, 13, 561-564.
- LONGWELL A.C. and STILES S.S. (1973) - Oyster genetics and the probable future role of genetics in aquaculture. Malacological Review, 6 (2), 151-177.

LONGWELL A.C. and STILES S.S. (1973) - Gamete cross incompatibility and inbreeding in the commercial american oyster, Crassostrea virginica Gmelin, Cytologia, 38, 521-533.

LONGWELL A.C. (1976) - Review of genetic and related studies on commercial oysters and other pelecypod Mollusks. J. Fish Res. Board Can., 33 (4), 1100-1107.

LOOSANOFF V.L. and NOMEJKO C.A. (1955) - Existence of physiologically different races of oysters Crassostrea virginica. Biol. Bull. Woods Hole, 101 (2), 151-156.

LUBET P. (1976) - L'espèce chez les lamellibranches marins. in Les problèmes de l'espèce dans le règne animal. Mém. St. Zool. France. 1 : 341-374.

MATHERS N.F., WILKINS N.P. and WALNE P.R. (1974) - Phosphoglucose isomerase and esterase phenotypes in Crassostrea angulata and C. gigas. Biochemical Systematics and Ecology, 2, 93-96.

MANWELL C., BAKER C.M.A., ASHTON P.A. and CORNER E.D.S. (1967) - Biochemical differences between Calanus finmarchicus and C. helgolandicus, esterases malate and triosephosphate dehydrogenases, aldolase, "peptidases" and other enzymes. J. mar. biol. Ass. U.K., 47, 165-169.

MENZEL R.W. (1974) - Portuguese and Japanese oysters are the same species. J. Fish. Res. Board Canada. Canada, 31, (4), 453-456.

MILKMAN R.D. and BETTY L.D. (1970) - Large scale electrophoretic studies of allelic variation in Mytilus edulis. Biol. Bull., 139, 430.

MILKMAN R. (1971) - Genic polymorphism and population dynamics in Mytilus edulis. Biol. Bull., 141 (2), 397.

MITTON J.B. and KOEHN R.K. (1973) - Population genetics of marine pelecypods. III - Epistasis between functionally related isoenzymes of Mytilus edulis. Genetics, 73, 487-496.

MURDOCK E.A., FERGUSSON A. and SEED R. (1975) - Geographical variation in leucine aminopeptidase in Mytilus edulis L. from the Irish coast. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 19 (1), 33-42.

PALMER L.S. (1971) - Comparative studies on binomial distributions of LDH Isoenzymes. Thèse Göteborg - Suède.

PARK S.Y. KIM S.Y., CHO D.H. (1974) - NAD dependant MDH isoenzyme of ten species of bivalvia. Korean Zool., 17 (4), 163-166.

PESCH G. (1974) - Protein polymorphisms in the hard clams Mercenaria mercenaria and Mercenaria campechiensis. Biol. Bull., 146, 393-403.

ROBERTSON F.W. (1972) - Value and limitations of research in protein polymorphism. In XII th Europ. Congr. Anim. Blood Groups Biochem. Polymorph., ed. G. KOVACS et M. PAPP. Akademiai Kiado, Budapest, 41-53.

SCHOPF T.J.M. and GOOCH J.L. (1970) - Gene frequencies in a marine ectoproct : a cline in natural populations related to sea temperature. Evolution, 25 (2), 286-289.

SCOPES R.K. (1968) - Methods for starch-gel electrophoresis of sarcoplasmic proteins. An investigation of the relative mobilities of the glycolytic enzymes from the muscles of a variety of species. Biochem. J., 107, 139-150.

SHAW C.R. and PRASAD R. (1970) - Starch gel electrophoresis of enzymes - a compilation of recipes. Biochem Genet, 4, 297-320.

TORIGOE K. and INABA A. (1975) - Electrophoretic studies on some oysters. Venus, 33 (4) 177-183.

WALNE P.R. and WOOD P.C. (1975) - A review of the Shellfish research undertaken at the fisheries laboratories in 1974. Shellfish Inf. Leaflet, M.A.F.F. Fish. Lab., 34, 1-38.

WILKINS N.P. and MATHERS N.F. (1973) - Enzyme polymorphisms in the European oyster, Ostrea edulis L. Anim. Blood Grps biochem. Genet., 4, 41-47.

WILKINS N.P. and MATHERS N.F. (1974) - Phenotypes of phosphoglucose isomerase in some bivalve molluscs. Comp. Biochem. Physiol., 48B, 599-611.

WILKINS N.P. (1975) - Genic variability in marine bivalvia : implications and applications in molluscan mariculture. 10 th E.M.B.S. Ostend. Septembre 1975.



CONCLUSION GENERALE

Le fonctionnement d'une unité de production d'algues représente la dépense la plus importante d'une opération d'aquaculture de bivalves, de par les besoins en main-d'oeuvre et en énergie.

Par le conditionnement des géniteurs, il est possible d'obtenir des pontes précoces mais seulement à partir de la fin-février/début-mars.

L'élevage contrôlé de la larve d'Ostrea edulis s'avère facile et rentable sans employer d'antibiotique. Lors de la métamorphose, une méthode de fixation sur brisure permet d'obtenir du naissain "un à un" sans perte par détroquage précoce.

Cette fixation est induite par un facteur biologique (phéromone) émis par les huîtres ou le jeune naissain. L'élevage intensif du naissain s'il demande moins de soins, nécessite néanmoins un apport important d'algues de culture et il est plus rentable de passer rapidement à une culture extensive en bassin extérieur fermé et protégé dès que la taille du naissain atteint deux millimètres. La mortalité en mer est toujours importante pour les individus de petite taille, la croissance, mesurée par une méthode volumétrique, est bonne et les premières tailles commercialisables peuvent être obtenues en moins de deux ans. Grâce à l'analyse de caractères biochimiques (polymorphisme enzymatique) nous avons pu mettre en évidence l'existence probable de "races physiologiques" adaptées à leur milieu. (Mer du Nord, Atlantique et Méditerranéenne).

Dans l'avenir, l'étude de la variabilité génétique pourra permettre d'envisager une sélection en faveur de géniteurs hétérozygotes plus aptes à s'adapter à des conditions différentes d'élevage.