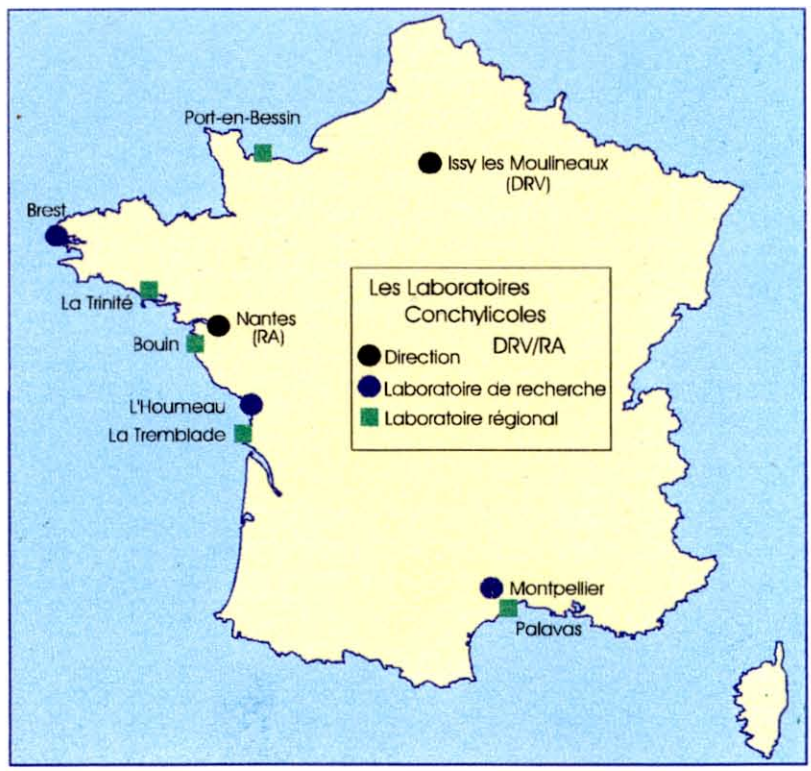
ifremer

direction des ressources vivantes
ressources aquacoles

coordination - Joseph Mazurié
secrétariat - Elisabeth Lassalle

mars 1999

journées conchylicoles 1999
ifremer Nantes
les 24 et 25 mars



LISTE DES COMMUNICATIONS

PATHOLOGIE - MORTALITE

Mortalité de l'huître *Crassostrea gigas* dans le Bassin de Marennes – Oléron.
Patrick Soletchnik , Olivier Le Moine , Nicole Faury, Daniel Razet , Philippe Geairon , Philippe Goulletquer et Stéphane Robert.
Laboratoire Conchylicole de Poitou-Charentes (Ifremer La Tremblade).

Infections à virus de type herpès chez les bivalves marins.
I. Arzul et T. Renault.
Laboratoire de Génétique et de Pathologie (Ifremer La Tremblade).

***Marteilia* , qui es-tu, d'où viens-tu, que fais-tu ?**
Frédérique Le Roux, Corinne Audemard, Franck Berthe.
Laboratoire de Génétique et de Pathologie (Ifremer La Tremblade).

Mise au point d'une méthode standardisée de choc thermique pour du naissain d'huître creuse *Crassostrea gigas* d'écloserie et de captage naturel.
J.P. Baud, S. Catois, Y.M. Glemarec, J. Haure, H. Palvadeau, M. Nourry, C. Penisson et J.L.Martin.
Laboratoire Conchylicole des Pays de Loire (Ifremer Bouin).

IMMUNOLOGIE

Les peptides antimicrobiens de *Mytilus galloprovincialis* :
I - Diversité et développements en biotechnologie.
Noël T., Mitta G., Hubert F., Roch Ph.
DRIM - Montpellier.

Les peptides antimicrobiens de *Mytilus galloprovincialis* :
II - Caractérisation biochimique et génétique, implication dans l'immunité.
Mitta G., Hubert F., Noël T., Roch Ph.
DRIM - Montpellier.

Les peptides antimicrobiens de *Mytilus galloprovincialis* :
III - Influence de l'environnement sur leur expression.
Hubert F., Mitta G., Noël T., Roch Ph.
DRIM - Montpellier.

Voie NF-κB, bases moléculaires en faveur de son existence chez *Crassostrea gigas*.
Montagnani C., Escoubas J-M., Roch Ph.
DRIM - Montpellier.

Protéines du choc thermique et monoxyde d'azote synthase chez *Crassostrea gigas*.
Gourdon I., Escoubas J.M., Torreilles J.
DRIM - Montpellier.

La Perkinsiose à *Perkinsus marinus* : mise au point d'un immuno-diagnostic et recherche des mécanismes de résistance chez *Crassostrea gigas*.
Corbier F., Castillon C., Roch Ph., Romestand B.
DRIM - Montpellier.

Transfert de gènes chez *Crassostrea gigas* et *Mytilus* sp.
Cadoret J-P., Boulo V.
DRIM - Montpellier.

MAITRISE DES ECLOSERIES

Etude de la gonade de *Crassostrea gigas* :
Précautions méthodologiques ; Effet de l'âge et du site d'élevage sur son développement.
N. Devauchelle, L. Philip de Laborie et G. Salaun.
Laboratoire de Physiologie des Invertébrés (Ifremer Brest).

Conditionnement automnal de *Crassostrea gigas*.
J. Barret, J. Chavez, J.C. Cochard et C. Mingant.*
Laboratoire de Physiologie des Invertébrés (Ifremer Brest).
IUEM, UBO Brest.

Culture de micro-algues en continu
Ph. Miner
Laboratoire de Physiologie des Invertébrés (Ifremer Brest)

Programme ROMEO/Research Objective : Mortality in European Oysters
J.C. Cochard, J.R. Le Coz, J.L. Nicolas
Laboratoire de Physiologie des Invertébrés (Brest)

Recherche de molécules actives chez des bactéries marines
et leur utilisation comme probiotiques en élevage larvaire de bivalve.
J.L. Nicolas
Programme réalisé en collaboration avec Micromer et le Laboratoire des Substances marines d'intérêt biologique (Muséum National d'Histoire Naturelle).

Amélioration du conditionnement des géniteurs de *C. gigas* par le contrôle de la digestion et de la gamétogénèse. "GIGANUGA", contrat Fair.
J. Moal, J.F. Samain, C. Séguineau, J.R. Le Coz, C. Quéré
Laboratoire des invertébrés marins (Ifremer Brest)

Critères de compétence à la métamorphose chez la coquille St Jacques, *Pecten maximus* (Lamark).
René ROBERT [1], Laurence NICOLAS [1], Christine MOISAN [2], Georges BARBIER [3].
1 Ifremer, Laboratoire Physiologie des Invertébrés Marins, 29200 Brest.
2 Faculté de médecine, Laboratoire de Physiologie, 29200 Brest.
3 Ifremer, Laboratoire de Caractérisation des Micro-organismes Marins, 29200 Brest.

AMELIORATION GENETIQUE

Amélioration des performances de croissance chez l'huître creuse *Crassostrea gigas* triploïde.

J.M. Chabirand, C. Vercelli, J. Oheix, Y. Pichot, D. Buestel.
Laboratoire Conchylicole de Méditerranée (Ifremer Palavas).

Etude de l'amélioration des performances des huîtres creuses triploïdes. Analyse sensorielle.

C. Vercelli, JM. Chabirand, J. Oheix, Y. Pichot, Dominique Buestel .
Laboratoire Conchylicole de Méditerranée (Ifremer Palavas).
Fabienne Ribeyre (Laboratoire Serisud).

Différenciation génétique et phylogéographie de deux huîtres creuses *Crassostrea gigas* et *Crassostrea angulata* : apport de marqueurs mitochondriaux et microsatellites.

Huvet , A., Boudry P., Gérard A.
Laboratoire de Génétique et Pathologie (Ifremer La Tremblade).

Utilisation des marqueurs microsatellites pour l'étude des contributions parentales chez l'huître creuse *Crassostrea gigas* (Thunberg).

Boudry P.[1], Collet B.[1], Kotoulas G.[2], Hervouet V.[1], Cornette F.[1,] Bonhomme F.[3], Gérard A.[1]
[1] Laboratoire de Génétique et Pathologie (Ifremer La Tremblade).
[2] IBMC, P.O. Box 2214, 71003 Iraklion, Grèce.
[3] Laboratoire de Génétique et Pathologie (Ifremer Sète).

Diversification de l'huître plate *Ostrea edulis* en Languedoc Roussillon. Etude de la mortalité estivale.

J. Oheix, J.M. Chabirand, C. Vercelli, Y. Pichot, D. Buestel.
Laboratoire Conchylicole de Méditerranée (Ifremer Palavas).

Relations entre les paramètres physiologiques de la digestion et la croissance. Le modèle amylase dans la recherche d'un marqueur génétique.

J.F. Samain, J. Moal, J.Y. Daniel
Laboratoire des invertébrés marins (Ifremer Brest)

ECOPHYSIOLOGIE - Toutes espèces

Relations entre la physiologie et la croissance de l'huître plate O*strea edulis* en élevage intensif.

J. Haure et J.P. Baud.
Laboratoire Conchylicole des Pays de Loire (Ifremer Bouin).

Modélisation de la croissance de l'huître plate *Ostrea edulis* en élevage intensif.

J. Haure et A.L. Barillé.
Laboratoire Conchylicole des Pays de Loire (Ifremer Bouin).

Estimation des stocks de mollusques en élevage (*Crassostrea gigas*, *Ostrea edulis*, *Mytilus galloprovincialis*) et des épibiontes dans l'étang de Thau en 1998 - Evolution depuis 1980.

A. Gangnery, J.M. Chabirand, J. Oheix, Y. Pichot, C. Vercelli, D. Buestel.
Laboratoire Conchylicole de Méditerranée (Ifremer Palavas).

Relation entre la concentration en chlorophylle a et la croissance de l'huître creuse *Crassostrea gigas* dans le bassin de Thau en 1998.

D. Buestel, J. Oheix, J.M. Chabirand, C. Vercelli, Y. Pichot.
Laboratoire Conchylicole de Méditerranée (Ifremer Palavas).

Projet d'étude de la capacité trophique en Chine: le début d'une longue marche.

C. Bacher.
CREMA (CNRS Ifremer L'Houmeau).

Filtration biologique des effluents de pisciculture marine intensive basée à terre par l'huître creuse *Crassostrea gigas*: aspects physiologie de la nutrition et modélisation.

Sébastien Lefebvre [1] *et Laurent Barillé* [2]
[1] CREMA (CNRS Ifremer L'Houmeau).
[2] Faculté des sciences - laboratoire de biologie marine - Nantes.

Note de synthèse portant sur les travaux de l'IFREMER réalisés depuis 1990 en Baie des Veys en relation avec les mortalités de coquillages.

J. Kopp et M. Ropert.
Laboratoire Conchylicole de Normandie (Ifremer Port en Bessin).

ECOPHYSIOLOSIE - II - Nacres

Le régime alimentaire de la nacre (*Pinctada margaritifera*). Etude par l'analyse des pigments photosynthétiques du phytoplancton de l'atoll de Takapoto (Polynésie française).

Loret P.[1] *et Pastoureaud A.*[2]
[1] EPHE, URA-CNRS 1453, Univ. de Perpignan, F-66860 Perpignan cédex, et CRIOBE, BP1013 Moorea, Polynésie Française.
[2] CREMA (Ifremer-CNRS - L'Houmeau).

Ecophysiologie de l'huître perlière, *Pinctada margaritifera* : bilan des expérimentations réalisées de 1996 à 1998.

S. Pouvreau[1,2], *S. Robert*[3], *G. Jonquières*[1], *J. Tiapari*[1], *X. Caisey*[1], *A. Bennett*[1], *H. Teissier*[1], *D. Buestel*[4], *A. Bodoy*[1].
[1] Ifremer Cop - Polynésie Française.
[2] CREMA (Ifremer CNRS -L'Houmeau).
[3] Laboratoire Conchylicole de Poitou-Charentes (Ifremer La Tremblade).
[4] Laboratoire Conchylicole de Méditerranée (Ifremer Palavas).

Modèle écophysiologique expliquant la croissance et la reproduction de l'huître perlière, *Pinctada margaritifera*, au sein du réseau planctonique du lagon de l'atoll de Takapoto (Polynésie Française).

S. Pouvreau[1,2], *C. Bacher*[2], *M. Héral*[2]
[1] Ifremer Cop - Polynésie Française.
[2] CREMA (Ifremer CNRS - L'Houmeau).

SYSTEMES D'ELEVAGE - Divers

Utilisation des systèmes d'information géographique dans le cadre des laboratoires côtiers. Etat des lieux au sein du département RA.

O. Le Moine.
Laboratoire Conchylicole de Poitou-Charentes (Ifremer La Tremblade).

Développement de cultures d'huîtres en eaux profondes dans les Pertuis Charentais : étude technico – économique.

P. Goulletquer[1], E. Perrin[1,2], O. Le Moine[1]
[1] Laboratoire Conchylicole des Pays de Loire (Ifremer La Tremblade).
[2] INA Paris Grignon, 75231 Paris Cedex 05.

Inventaire des zones d'aptitude aquacole du littoral français. Méthode et résultats pour l'atlas relatif à la conchyliculture.

J. Mazurié, J.L. Gaignon**, G. Youenou***, R. Loarer***,*
avec la participation de l'ensemble des laboratoires côtiers RA et DEL (et de quelques labos RH).
* Laboratoire Conchylicole de Bretagne (DRV/RA/La Trinité-sur-mer).
** Laboratoire DRV/RA/poissons (Ifremer Brest)
*** Laboratoire DEL/AO (Ifremer Brest)

Situation de la filière coquille St-Jacques (extensive) en Rade de Brest

J.C. Dao
Station DRV (Ifremer Brest)

SYSTEMES D'ELEVAGE - II - Claires

Les protistes : une ressource trophique pour l'huître *Crassostrea gigas* dans les claires ostréicoles.

Christine Dupuy &** et Martine Bréret*.*
* UMR 10 CNRS/IFREMER, CREMA l'Houmeau & ** LBEM, Université de La Rochelle.

Impact des huîtres sur les communautés planctoniques autotrophes des claires ostréicoles: suivi des signatures pigmentaires.

Christine Dupuy & ** et Annie Pastoureaud*.*
* UMR 10 CNRS/IFREMER, CREMA l'Houmeau & ** LBEM, Université de La Rochelle.

Evaluation de la modification de la norme Afnor des huîtres fines et spéciales de claires.

Robert S, Goulletquer P, Soletchnick P, Geairon P, Le Moine O, Razet D, Faury N.
Laboratoire Conchylicole de Poitou-Charentes (Ifremer La Tremblade).

Premiers essais de production de masse de la diatomée *Haslea Ostrearia* en système ouvert sur eau de mer enrichie en période d'affinage.

V. Turpin .
Laboratoire Conchylicole de Poitou-Charentes (Ifremer La Tremblade).
Université de Nantes, ISOMER, 44072 Nantes Cedex 03 .

Mise au point d'un outil de traitement de l'eau salée souterraine à vocation d'élevage de mollusques et de diversification de la production phytoplanctonique.

H. Palvadeau., J. Haure, M. Nourry, C. Penisson et J.P Baud.
Laboratoire Conchylicole des Pays de Loire (Ifremer Bouin).

Optimisation de l'affinage contrôlé en bassin de l'huître creuse *Crassostrea gigas*.

J.P. Baud, H. Palvadeau , C. Mornet, M. Nourry et J. Haure.
Laboratoire Conchylicole des Pays de Loire (Ifremer Bouin).

RESUMES

PATHOLOGIE

MORTALITE

Mortalité de l'huître *Crassostrea gigas* dans le Bassin de Marennes – Oléron.

Patrick Soletchnik , Olivier Le Moine , Nicole Faury, Daniel Razet , Philippe Geairon , Philippe Goulletquer et Stéphane Robert.

Le banc ostréicole de Ronce (175 ha) au sud du Bassin de Marennes-Oléron (France) constitue un site atelier expérimental pour l'étude des mortalités estivales de l'huître creuse *Crassostrea gigas*.

En 1997, la croissance, maturité sexuelle, survie et environnement des élevages à plat et sur tables sont comparés sur 15 sites expérimentaux. En 7 mois, le taux de mortalité des élevages à plat atteint 23-33 % contre 8-19 % pour les élevages sur tables. La mortalité varie avec la saison. Elle s'intensifie avec la température, en période de pré ponte et de catabolisme du glycogène. Des modèles statistiques de production de chair sèche de l'huître sont établis selon la latitude et la longitude des sites. Ces modèles (en poids sec) sont orientés N-NW et montrent que la disponibilité alimentaire pour les cheptels d'huîtres, diminue progressivement du large vers le fond de la baie. Les rendements biologiques (poids total), sont compris entre 85 % et 2 %, respectivement pour des sites sur tables à 25 et 50 % d'exondation. Pour les élevages à plat, une perte de production supérieure à 10 % est enregistrée dans certains parcs du sud du bassin. Les meilleurs sites, à 50 % de production (poids total), sont situés dans la partie E-NE du banc de Ronce.

Infections à virus de type herpès chez les bivalves marins

Isabelle Arzul et Tristan Renault

Laboratoire de Génétique et de Pathologie (Ifremer La Tremblade)

Le premier cas d'infection à virus de type herpès chez des bivalves marins a été rapporté en 1972 aux Etats-Unis chez des adultes d'huître américaine, *Crassostrea virginica*. Des mortalités massives, associées à la détection d'un virus apparenté à la famille des *Herpesviridae* ont été décrites depuis 1991 notamment en France sur des larves et des juvéniles d'huître creuse, *Crassostrea gigas* et d'huître plate, *Ostrea edulis*. Ces épizooties se produisent plus généralement à fortes températures en écloserie-nurserie et en période estivale dans le milieu naturel. Un virus similaire a également été décrit sur des larves d'autres espèces de bivalves telles que l'huître *Tiostrea chilensis*, mais aussi la palourde japonaise, *Ruditapes philippinarum* et la palourde européenne, *Ruditapes decussatus*.

Ces descriptions multiples reflètent le caractère ubiquiste de cette famille de virus chez les bivalves marins.

En microscopie électronique à transmission, les particules virales observées chez ces différentes espèces de bivalves marins présentent les mêmes caractéristiques morphologiques que les virus appartenant à la famille des *Herpesviridae*. Par ailleurs, comme les virus appartenant à cette famille, il semble que les virus de type herpès observés chez les bivalves puissent également présenter des phases de latence chez les organismes infectés et être réactivés sous l'effet de conditions stressantes.

Chez les larves des différentes espèces de bivalves pré-citées, le schéma symptomatique est le même. Les larves infectées cessent de se nourrir et de nager. Des mortalités significatives sont observées à partir du 6ème jour après la ponte. Les animaux présentent d'importantes lésions du vélum. De plus, sur coupes histologiques, les lésions sont essentiellement situées au niveau du tissu conjonctif et consistent surtout en des anomalies nucléaires.

Au vu de ces similitudes, on peut se poser la question de l'unité des virus de type herpès observés chez les bivalves marins : s'agit-il du même virus, présente-t-il des variations selon les espèces infectées, selon l'origine géographique des animaux ?

D'un point de vue diagnostique, l'histologie reste une technique insuffisante dans le cas des pathologies virales en général. En effet, les lésions observées sur les animaux infectés ne sont pas spécifiques de ces infections et les analyses doivent être complétées par d'autres techniques. Dans la mesure où la microscopie électronique à transmission ne peut être utilisée en routine, d'autres outils ont été développés, c'est le cas des réactifs immunologiques, des sondes nucléiques et des amorces utilisées dans la technique de PCR.

Cette dernière technique est actuellement utilisée pour le diagnostic de l'infection à virus de type herpès chez les bivalves. De plus, elle nous a permis **une approche de la diversité** qui peut exister parmi ces virus.

En effet, on a pu détecter des différences au sein du génome viral chez des larves de palourde japonaise et d'huître creuse provenant d'une même écloserie. Ces variations peuvent être mises en évidence par différents outils de biologie moléculaire, l'étape ultime étant le séquençage des fragments de génome viral présentant ces différences.

L'étude de la diversité des virus de type herpès infectant les mollusques bivalves marins peut donc être abordée par le biais d'outils moléculaires mais également par le biais d'essais de reproduction expérimentale de l'infection virale. Des essais de transmission interspécifique de l'infection sont envisagés afin de vérifier ou d'infirmer qu'un virus détecté chez une espèce donnée est capable d'induire une maladie et des mortalités au sein d'une autre espèce.

Marteilia, qui es-tu, d'où viens-tu, que fais-tu?

Frédérique Le Roux, Corinne Audemard, Franck Berthe. IFREMER Ronce les bains.

A l'origine de deux épizooties importantes en France et en Australie, les parasites du genre *Martelia* sont de dangereux agents infectieux pour les huîtres *Ostrea edulis* (*Marteilia refringens*) et *Saccostrea commercialis* (*Marteilia sydneyi*). *Marteilia refringens* a été détecté chez d'autres mollusques dont *Mytilus edulis* et *Mytilus galloprovinciallis*. Une autre espèce de parasite, *Marteilia maurini*, a été décrite chez *Mytilus galloprovincialis*. Le mode de transmission de ce parasite reste inconnu en raison de l'absence de modèle *ex vivo* et des limites des techniques de détection utilisées (histologie, a priori sur la morphologie du parasite). Des expériences de transmission expérimentale ayant échoué l'hypothèse d'un cycle complexe voir hétéroxène a été postulé. Actuellement la lutte contre la marteiliose implique une gestion du risque de contamination, pour cela nous désirons répondre à deux questions: Existe t'-il une ou plusieurs espèces de *Marteilia* en Europe et dans le monde? Quel est le mode de transmission de ce parasite, nécessite t'il un (des) hôtes intermédiaires?

Les gènes codant pour la petite sous unité ribosomique 18S de *Marteilia refringens* isolés à partir d'*Ostrea edulis*, *Mytilus edulis* et *Mytilus galloprovinciallis* ont été séquencés et se sont avérées identiques. La séquence de *Marteilia maurini* reste à déterminer afin de définir s'il existe une seule et même espèce de *Marteilia* en Europe. Par contre la séquence du 18S de *Marteilia Sydneyi* semble différente. Le séquencage de ce gène d'intérêt phylogénique à permis de proposer la position taxonomique de l'espèce *Marteilia refringens* au sein d'un phylum distinct, *Paramyxea*. L'étude récente d'une région plus variable du génome, l'intervalle transcrit ou ITS, révèle un polymorphisme génétique à l'intérieure de l'espèce *Marteilia refringens*. Il nous faut maintenant corréler ce polymorphisme avec un hôte déterminé ou une origine géographique. Le but de ce travail étant de développer des outils de détection de genre, d'espèce et de type du parasite *Marteilia*.

Afin d'étudier le cycle biologique de *Marteilia* nous avons mis au point des outils de détection dirigé contre l'ADN du parasite et ne dépendant donc pas de sa morphologie et de son expression. La séquence du 18S a été comparée à celle de 50 autres espèces. Des oligonucléotides spécifiques de *Marteilia* nous permettent de détecter par PCR l'ADN du parasite, les résultats sont confirmés par hybridation *in situ* avec une sonde spécifique. De plus, nous disposons d'un nouveau modèle d'étude de la maladie constitué par un biotope sélectif vis-à-vis des biocénoses marines (claire ostréicole) ou le cycle de *Marteilia* reste fonctionnel. Notre projet est donc d'établir un schéma fonctionnel du cycle biologique du parasite au sein de ce biotope: criblage par PCR des espèces infectées, distinction ingestion/infection par hybridation in situ et histologie, cinétique de l'infection et enfin reproduction en pathologie expérimentale.

Mise au point d'une méthode standardisée de choc thermique pour du naissain d'huître creuse *Crassostrea gigas* d'écloserie et de captage naturel

J.P. Baud, S. Catois, Y.M. Glemarec, J. Haure,
H. Palvadeau, M. Nourry, C. Penisson et J.L.Martin

IFREMER, L.C.P.L, Polder des champs, 85230 Bouin.

L'apparition et la répétition depuis 1995, de mortalités estivales importantes chez les juvéniles d'huître creuse *Crassostrea gigas* en élevage représente un problème préoccupant pour l'ostréiculture française.
Les premières études réalisées sur l'influence de paramètres environnementaux par rapport à divers lots de naissain ont mis en évidence la nécessité de la mise au point d'un test standard de stress.
Cependant pour pouvoir être utilisé à la fois par la recherche et par la profession ostréicole, ce test doit être facile à mettre en œuvre, rapide et de faible coût.
Ainsi, en 1997 un premier modèle utilisable pour le naissain d'écloserie a été validé. Il permet de prendre en compte le poids moyen des huîtres vis à vis du temps d'application d'un choc thermique en eau douce à 45°C, afin d'obtenir 50% de mortalité. Pour faciliter l'emploi de cette technique, une table de correspondance poids des juvéniles, temps d'application du stress a été calculée pour une gamme de 10 à 500mg et une précision proche de 20%.
La méthodologie retenue pour le choc thermique standard peut être résumée ainsi :
- Tamisage d'une population de jeunes huîtres en trois classes de taille,
- pour une classe de taille, dénombrement de 3 sous lots de 200 individus et stockage du
- naissain à 13°C pendant 5 jours afin de réguler thermiquement le métabolisme,
- stress thermique effectué sur chaque sous lot à 45°C en eau douce en utilisant le temps de contact défini par l'abaque calculé par le modèle.
- stockage pendant 5 jours à 13°C et dénombrement final de la survie

Durant l'année 1998, un deuxième modèle utilisable pour le naissain de captage naturel, et prenant en compte le poids moyen, vis à vis du temps d'application d'un choc thermique à 50°C appliqué à de juvéniles de 500 à 2000 mg, a été établi pour obtenir 50% de mortalité. Une table de correspondance poids des juvéniles, temps d'application au stress a ainsi été obtenue. Cependant, la précision de 40% avec laquelle les 50% de mortalité sont obtenus par cette méthode reste trop élevée et doit être améliorée.
Parallèlement à la mise au point de la méthode standardisée de stress, des populations d'écloseries identifiées ont été soumises à un choc thermique standard à 45°C selon l'abaque établi en 1997. Les résultats mettent en évidence une variabilité inter et intra-population importante dans les mortalités observées à la suite d'un choc thermique. Ces variabilités semblent être corrélées, d'une part aux caractéristiques génétiques propres de chaque population, et d'autre part à la vitesse de croissance des animaux. Cependant, les résultats du suivi en élevage de certaines populations, montre que ce test permet d'évaluer la fragilité d'un lot de façon ponctuelle et ne semble pas prédictif des mortalités ultérieures, susceptibles d'affecter ces lots.
Cependant cet outil pourrait être utilisé à terme sur le plan appliqué par les professionnels pour une évaluation de la sensibilité du naissain de différentes populations vis à vis de l'application d'un choc thermique et par la recherche dans des domaines aussi variés que la génétique, la physiologie et la pathologie.

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

RESUMES

IMMUNOLOGIE

Introduction aux travaux menés à la DRIM - Montpellier

Ph. Roch

Les peptides antimicrobiens de *Mytilus galloprovincialis* : I - Diversité et développements en biotechnologie.

Noël T., Mitta G., Hubert F., Roch Ph.

Une première démarche, inscrite dans un objectif global de sélection de mollusques bivalves, a consisté à rechercher les différents effecteurs de la réponse immunitaire. C'est ainsi que nous avons montré l'existence de protéines cytotoxiques et de protéines antimicrobiennes.

Nous avons ensuite entrepris la caractérisation biochimique des peptides antimicrobiens. Le principe de purification utilise sur les caractéristiques physico-chimiques de ces molécules qui sont cationiques et hydrophobes. Elles sont sélectionnées par acidification des extraits plasmatiques ou hémocytaires suivie d'un fractionnement sur cartouche de phase inverse. Les fractions obtenues sont soumises à des étapes successives de purification en HPLC de phase inverse. A chaque étape de purification, les fractions éluées sont soumises à des tests d'inhibitions de croissance bactérienne en milieu liquide.

La structure primaire des peptides purifiés a été établie par spectrométrie de masse et séquençage par dégradation d'Edman. Trois peptides, plus des isoformes, appartenant tous à la famille des peptides cycliques, c'est à dire comprenant des cystéines participant à des ponts disulfures intramoléculaires, ont été caractérisés :

- Les défensines : MGD1a et MGD2 qui présentent de fortes homologies avec les défensines d'arthropodes,
- Les mytilines b, c, d et e. Les isoformes a et b ont été caractérisées chez *M. edulis*,
- Les myticines a et b qui ne présentent aucune homologie avec des molécules connues.

Les spectres d'activité ont été établis vis à vis de souches de bactéries à Gram positif et négatif et de champignons pathogènes ou non pour les invertébrés marins et également pour l'homme. Les résultats montrent que les peptides caractérisés présentent des spectres d'activité complémentaires et des activités bactériolytiques puissantes.

MGD1, constituée de 39 acides aminés, présente de fortes homologies avec des défensines isolées chez de nombreux insectes et chez le scorpion. Ces défensines forment une famille homogène de peptides cationiques dont la taille varie de 4 à 5 kDa. Elles possèdent six résidus cystéines engagés dans la formation de 3 ponts disulfure. Les défensines d'insectes sont surtout actives contre les bactéries à Gram positif. MGD1 se distingue pourtant par la présence de 2 résidus cystéines supplémentaires et par son activité à la fois vis-à-vis de bactéries à Gram positif, à Gram négatif et des champignons.

La synthèse chimique et l'établissement de la structure tridimensionnelle de MGD1 nous ont permis d'établir que les 2 résidus cystéines supplémentaires sont engagés dans la formation d'un quatrième pont disulfure original. Il reste à établir que cette caractéristique confère des capacités particulières, telles que (i) une meilleure résistance aux protéases, (ii) une plus grande stabilité dans le temps, (iii) la capacité à fonctionner en milieu de force ionique élevée. La fabrication de nouvelles molécules utilisables en tant qu'agents thérapeutiques en agronomie, santé animale ou humaine pourra alors être envisagée.

Les peptides antimicrobiens de *Mytilus galloprovincialis* : II - Caractérisation biochimique et génétique, implication dans l'immunité.

Mitta G., Hubert F., Noël T., Roch Ph.

Parmi les effecteurs immunitaires étudiés à la DRIM, les peptides antimicrobiens ont été choisis pour leur participation, dans l'ensemble du règne vivant, aux processus d'immunité innée. Une première phase de caractérisation biochimique et génétique nous a permis d'accéder aux bases moléculaires des peptides antimicrobiens de la moule. Dix peptides ont ainsi été isolés à partir d'extraits hémocytaires et leurs séquences NH2-terminales ont été déterminées. Il s'agit de peptides cycliques à 4 ponts disulfures, cationiques, ayant un large spectre d'activité et qui ont été classés en trois groupes en fonction de leur structure primaire : les défensines, les myticines et les mytilines.

L'obtention des gènes des peptides nous a montré qu'ils étaient synthétisés sous forme de précurseurs avant d'être stockés, sous forme mature, dans les hémocytes. Par ailleurs, nous avons déterminé que leur expression semble être circonscrite aux hémocytes et que ce type cellulaire véhiculait le peptide dans l'organisme entier, et plus particulièrement au niveau des épithélium de contact avec le milieu extérieur. Enfin, des études d'immuno-cytochimie en microscopie électronique ont montré que la mytiline est localisée dans les gros granules des granulocytes alors que la défensine se trouve dans certaines cellules basophiles, au niveau de petites vésicules.

Dans le but de comprendre l'implication de ces molécules dans la réponse anti-infectieuse, nous avons également suivi la localisation des peptides lors d'une infection expérimentale. En réponse à une injection de bactéries, l'action de la mytiline se déroule en deux phases successives avec (i) une action précoce où le peptide transite via les hémocytes vers le site d'injection et contribue à une réponse locale et (ii) une action systémique plus tardive accompagnée d'une augmentation de la concentration plasmatique en peptide, également observée pour la défensine.

La mise en route de la réponse anti-infectieuse passe par un relargage des peptides depuis les hémocytes vers le plasma. A l'instar des enzymes lysosomiales, nous nous trouvons donc en présence d'effecteurs immunitaires dont la concentration plasmatique va augmenter au cours de la réponse. Le dosage de tels effecteurs dans le plasma, liquide facile d'accès, pourrait donc être appliqué à l'évaluation (i) de l'état immunitaire des animaux et/ou (ii) des potentialités particulières de certains individus face à une infection.

Les peptides antimicrobiens de *Mytilus galloprovincialis* : III - Influence de l'environnement sur leur expression.

Hubert F., Mitta G., Noël T., Roch Ph.

L'étude des mécanismes biologiques par lesquels les bivalves répondent aux variations physico-chimiques du milieu est d'un intérêt majeur pour le développement et le suivi des productions conchylicoles. Parmi les fonctions étudiées, la réponse antimicrobienne semble particulièrement intéressante.

Ayant mis au point des outils moléculaires (anticorps et sondes) permettant de suivre la synthèse et la libération dans la circulation de différents peptides antimicrobiens, nous avons entrepris d'étudier l'influence du milieu sur l'expression des défensines, mytilines et myticines, en la comparant entre des animaux naïfs et des animaux artificiellement soumis à une perturbation du milieu (variation de température ou présence de polluants). Les analyses sont réalisées à deux niveaux : au niveau de la transcription en ARNm par Northern blot sur des extraits d'ARN totaux d'hémocytes, au niveau de la présence des peptides dans la circulation par immunochimie sur des plasmas.

Les résultats montrent que l'expression du gène codant la défensine MGD-1, n'est observée que sur un petit nombre d'individu à l'état naïf. Par contre, elle est fortement modifiée chez les animaux stressés par une augmentation brutale de température ou la présence de phénanthréne. L'expression des gènes de la mytiline et de la myticine est, au contraire, observée chez tous les individus à l'état naïf et n'apparaît pas significativement modifiée par le stress. Enfin, la défensine MGD-1 ne semble pas immédiatement libérée dans la circulation après induction de l'expression de son gène par un choc thermique, mais serait plutôt stockée dans les hémocytes. Les animaux pourraient ainsi répondre de façon efficace à une infection ultérieure par libération massive du peptide préexistant.

La quantification précise de l'expression des peptides pourrait permettre de les utiliser comme indicateurs de qualité ou de dégradation de l'environnement et constituer une aide précieuse pour déterminer les sites de production les moins exposés aux problèmes de maladie infectieuses.

Voie NF-κB, bases moléculaires en faveur de son existence chez *Crassostrea gigas*

Montagnani C., Escoubas J-M., Roch Ph.

Dans le cadre de l'identification de gènes impliqués dans les mécanismes de défense chez l'huître creuse *Crassostrea gigas,* nous avons isolé et caractérisé un gène que nous avons nommé oIKK pour *oyster IκB Kinase*. Ce gène comporte de fortes homologies au niveau de sa séquence en nucléotides, et de la séquence déduite en acides aminés, avec une famille de protéines de mammifères appelées IKK (IκB Kinase). Les sérines/thréonines kinases de la famille IKK sont l'un des chaînons de la cascade d'activation de NF-κB, cascade qui conduit, entre autres, à la production de protéines du système immunitaire (immunoglobulines, cytokines). Une cascade analogue a été décrite chez la drosophile où elle conduit à la production de peptides antimicrobiens. C'est la première fois qu'un homologue d'un élément de la voie NF-κB est décrit chez un mollusque.

L'étude du gène oIKK a permis de montrer qu'il est exprimé dans différents tissus de l'huître creuse (branchies, palpes labiaux, hémocytes, manteau) et ce de façon constitutive, comme le sont les gènes de la famille IKK chez les mammifères. Chez les mammifères, la surproduction de la protéine IKK augmente l'expression des gènes contrôlés par la voie NF-κB. Dans le but d'étudier les propriétés fonctionnelles de oIKK, nous avons utilisé la même démarche expérimentale. Compte tenu de l'absence de lignées cellulaires chez les mollusques, cette étude a été effectuée dans une lignée cellulaire humaine, les cellules CEM. Nous avons montré que la surproduction de la protéine oIKK dans les cellules CEM conduit à l'expression d'un gène rapporteur placé sous le contrôle du facteur de transcription NF-κB. Ces résultats montrent que la protéine d'huître peut se substituer à son homologue humain pour induire la voie NF-κB et activer une expression génique. Par ailleurs, il semble que d'autres éléments homologues de la voie NF-κB soient présents chez *C. gigas*. L'ensemble de nos résultats laisse présager l'existence d'une voie d'activation du système de défense de l'huître creuse homologue aux voies NF-κB de mammifère et d'insecte.

Deux axes de recherche sont désormais développés :

1 - La caractérisation d'autres éléments homologues de la cascade NF-κB afin de démontrer l'existence de cette voie chez *C. gigas* et nous procurer des éléments capables de moduler cette voie de régulation.

2 - L'identification des gènes contrôlés par cette cascade et impliqués dans les mécanismes de défense permettra, par le suivi de l'expression de ces gènes, d'évaluer, voire de contrôler, l'état immunitaire de *C. gigas*.

Protéines du choc thermique et monoxyde d'azote synthase chez *Crassostrea gigas*.

Gourdon I., Escoubas J.M., Torreilles J.

La recherche de nouvelles stratégies pour augmenter l'intensité de la réponse anti-infectieuse des hémocytes de *Crassostrea gigas* nous a conduit à étudier l'induction de la monoxyde d'azote synthase (NOS) et des protéines du choc thermique (hsp) sous l'effet du stress chez les bivalves marins. En effet, dans les phagocytes des vertébrés, ces protéines sont synthétisées *de novo* à la suite d'un stress et elles semblent reliées par une même boucle de régulation.

Les NOS sont des enzymes qui catalysent la conversion de L-arginine en L-citrulline avec libération de monoxyde d'azote. Ce dernier, en se combinant aux radicaux superoxyde formés lors de l'activation de la NADPH-oxydase produit un bactéricide puissant : le peroxynitrite. Des travaux préliminaires semblent montrer la présence d'une NOS dans les hémocytes d'huîtres et actuellement nous recherchons un bon index pour lire la production de cette enzyme.

Les hsp constituent un ensemble de protéines synthétisées en réponse au stress et bien représentées dans l'ensemble du monde vivant. Elles contribuent à la résistance de l'organisme par divers mécanismes de protection et de réparation des protéines cellulaires. Pour caractériser les hsp de *Crassostrea gigas*, nous avons entrepris le criblage d'une banque d'ADNc à partir d'une sonde qui nous a été confiée par le laboratoire LBBM de l'Université de Caen. Cette sonde est un fragment d'ADNc de 387 pb de *Crassostrea gigas* qui présente 73% d'homologies avec les hsp 70 de vertébrés et 75% d'homologies avec les hsp 70 de drosophile. Nous avons effectué des hybridations à faible stringence à l'aide de la sonde hsp pour tenter d'isoler des clones d'ADNc correspondant à différentes hsp. Par la suite le séquençage et la recherche d'homologies sur banque de données devraient nous permettre de produire des sondes spécifiques. Ces sondes seront alors utilisées pour suivre l'induction des hsp dans les hémocytes d'huîtres lors de différentes situations pathophysiologiques.

La Perkinsiose à *Perkinsus marinus* : mise au point d'un immuno-diagnostic et recherche des mécanismes de résistance chez *Crassostrea gigas.*

Corbier F., Castillon C., Roch Ph., Romestand B.

P. marinus est un agent pathogène responsable de fortes mortalités chez l'huître américaine *C. virginica* mais qui ne provoque que des infestations légères chez *C. gigas*, qualifié d'hôte résistant. Parmi les 3 stades cellulaires connus (trophozoïte, hypnospore, zoospore), les trophozoïtes sont les agents responsables de la pathologie. On les observe en grand nombre dans les tissus de l'hôte en phase finale d'infection. De nombreux aspects de cette parasitose sont encore mal connus, tels la détermination des mécanismes infectieux et les processus de défense développés par l'huître.

Dans l'optique de développer un immuno-diagnostic plus fiable et plus rapide que la technique de coloration après culture des tissus infectés sur milieu thioglycollate, nous avons produits des sondes anticorps monoclonales (17B2D5 et 19G3H6) et polyclonales dirigées contre le stade trophozoïte. Ces anticorps reconnaissent également les autres stades parasitaires de *P. marinus* ainsi que le stade trophozoïte de *P. atlanticus*, parasite de la palourde *Tapes decussatus*. Aucune réaction croisée n'est observée avec des tissus sains de *C. virginica* ainsi qu'avec d'autres parasites tels que *Bonamia ostreae* ou *Marteilia refringens*. Après divers essais de configuration de dosages immuno-analytiques, il apparaît que tous ces anticorps semblent identifier, à des degrés variables, les parasites dans des homogénats de tissus infectés. L'anticorps monoclonal 17B2D5, dans la configuration du test C-ELISA, semble être le plus sensible pour dénombrer 1.000 trophozoïtes dans un extrait tissulaire.

Afin d'étudier les réactions de défense développées par *C. gigas*, nous avons cultivé pendant 6 semaines des stades trophozoïtes et nous avons isolé par chromatographie d'affinité sur bacitracine des substances à activité protéasique. Ces composés ont ensuite été purifiés par chromatographie sur résine d'échangeur d'ions et de tamis moléculaire et nous avons pu identifier deux composés de 19 kDa et 35 kDa présentant une activité de type α chymotrypsine.

La suite de ces travaux consistera (i) à augmenter la sensibilité du test de détection immunologique pour les homogénats tissulaires et à adapter ce test à des extraits d'hémolymphe et (ii) à étudier les mécanismes responsables de la résistance de *C. gigas* face aux substances protéasiques élaborées par *P. marinus*.

Transfert de gènes chez *Crassostrea gigas* et *Mytilus* sp.

Cadoret J-P., Boulo V.

Les outils de biologie moléculaire permettent d'envisager une intervention ciblée sur le génome des invertébrés marins ouvrant des possibilités inédites d'études en recherche fondamentale.

Le transfert de gène à l'intérieur d'un ovocyte, d'une larve ou d'un embryon d'huître ou de moule nécessite la mise au point de techniques de transfection et la disponibilité de constructions génétiques fonctionnelles. Nous avons entrepris de mettre au point en l'adaptant, une technique de microinjection pour laquelle nous avons réalisé les outils indispensables. Parallèlement une technique complémentaire de bombardement de particules d'or recouvertes de l'ADN à tranfecter a été mise au point. Ces deux techniques ont été mises en oeuvre pour tester deux promoteurs hétérologues, le promoteur de la protéine de choc thermique (hsp70) de la drosophile, couplée aux gènes rapporteurs luciférase et ß-galactosidase et le promoteur précoce du Cytomegalovirus humain (CMV) en amont des mêmes gènes rapporteurs. Ces vecteurs d'expression se sont montrés efficaces quant à leur capacité à promouvoir l'expression transitoire lors de transfections *in vivo*. Nous disposons ainsi de deux promoteurs complémentaires, l'un inductible (hsp70), l'autre constitutif (CMV) utilisable comme outil de référence.

L'identification de régions régulatrices de gènes de ces bivalves a de plus été entreprise. Les séquences complètes d'un ADN complémentaire de l'actine ont été identifiées chez l'huître *Crassostrea gigas* et la moule *Mytilus sp.* Par le biais de ces gènes d'actine, nous avons été en mesure d'isoler des séquences régulatrices permettant de créer des vecteurs d'expression originaux. La construction comportant le promoteur d'actine d'huître couplé au gène de la luciférase s'est révélée fonctionnelle lors d'expériences de transfection *in vitro*. Ce sont les premiers promoteurs homologues de gènes de bivalves utilisés en transformation génétique. D'ors et déjà, ces techniques et ces constructions sont mises en œuvre à la DRIM, que ce soit pour l'étude des régulations spatio-temporelles des peptides antimicrobiens récemment découverts, ou pour l'analyse des mécanismes de communication cellulaire consécutifs aux infections.

RESUMES

MAITRISE DES ECLOSERIES

Etude de la gonade de *Crassostrea gigas* : Précautions méthodologiques ; effet de l'âge et du site d'élevage sur son développement.

N.Devauchelle, L.Philip de Laborie et G. Salaun

Avec l'intervention sur le terrain, du personnel des stations de Port- en Bessin/DRV, de La Trinité/DRV, de Bouin/DRV, de La Tremblade/DRV, d'Arcachon/DEL, de Thau/DRV ainsi que des ostréiculteurs de l'ABER BENOIT et de L'AULNE

La gonade de l'huître creuse est constituée d'un tissu de réserve et d'un tissu germinal. Elle est située sous la manteau. Les gamètes se développent dans des conduits tubulo-acineux. Leur taille ou leur nombre augmente au détriment du tissu de réserve. Les conduits forment deux arborescences, droite et gauche, facilement repérables par injection de résine.Les conduits se rejoignent dans un tronc collecteur,en amont du gonopore.

L'étude de la gonade nécessite des précautions minimales

- Il existe un gradient de maturité des gamètes de la partie antérieure vers la partie postérieure de la gonade. Les ovocytes situés près du gonopore sont les plus mûrs. La comparaison interindividuelle ou interpopulation implique donc de comparer des échantillons prélevés dans les mêmes zones de la gonade.
- L'identification du sexe est possible par ponctions non destructrices à la seringue. Mais ce type de biopsies donne des résultats très variables selon le stade de maturité des gamètes. Une étude faite au mois d'avril, par exemple, montre que le nombre de mâles et de femelles est sous évalué respectivement de 50 et 30 %. Le nombre d'animaux dits indifférenciés est alors artificiellement augmenté.
- L'intensité de la gamétogenèse est calculable à partir des rapports de surface du tissu germinal, du tissu de réserve et des autres tissus de l'huître. Ces calculs prennent en compte l'évolution de la gamétogenèse chez les femelles et les mâles. Le sex-ratio varie d'une condition d'élevage à l'autre et le mode de développement des mâles et des femelles est différent. Ceci permet de mesurer globalement l'évolution de la gamétogenèse, alors que jusqu'à présent les mesures sont surtout réalisées sur la base de l'évolution des tailles d'ovocytes.

Effet de l'âge et du site d'élevage sur le développement de la gonade

En février 1998, 6000 huîtres de trois classes d'âge ont été réparties sur 8 sites (Baie des Veys, Aber Benoît, Terenez, La Trinité, Bouin, La Tremblade, Arcachon et Thau). Des prélèvements ont été réalisés en avril, juin et septembre 1998. Les chairs ont été fixées, coupées, colorées. Les observations et calculs sur coupes montrent que :

- La proportion de mâles est légèrement supérieure à la proportion de femelles chez les animaux âgés de 1 an. Chez les animaux de 2 ans et 3 ans, la proportion de femelles est systématiquement supérieure ou égale à celle des mâles.
- Chez les juvéniles d'un an aussi bien que chez les adultes de 2 ans, les gamètes et le tissu germinal envahissent la quasi-totalité du tissu de réserve, à l'approche de la maturité.
- Le sex-ratio, le taux de développement des gonades et la capacité des huîtres à pondre peut énormément varier en fonction des caractéristiques des sites d'une même région. Contrairement à ce qui est généralement admis chez les Vertébrés, la latitude ne semble pas avoir un effet primordial sur le développement des gonades.
- Dans les sites où l'émission des gamètes ne se produit pas, les gamètes sont lysés et digérés (ex: Aber-Benoît).
- Postérieurement à l'évacuation des gamètes (par ponte ou digestion), une nouvelle génération de gonies et de gamètes se développe de manière plus ou moins intense selon les sites.

Conditionnement automnal de *Crassostrea gigas*

J. Barret, J. Chavez, J.C. Cochard et C. Mingant*

Laboratoire de Physiologie des Invertébrés Brest
IUEM, UBO Brest

L'automne est considérée comme une période de repos sexuel de *Crassostrea gigas*. Pendant cette saison, il est très difficile d'obtenir en écloserie une production significative de gamètes par les méthodes habituelles qui consistent à nourrir abondamment des reproducteurs à une température élevée (19°C). Nous avons voulu déterminer si la reprise de la gamétogénèse était sous le contrôle direct des principaux facteurs de l'environnement.

Deux lots d'huîtres, âgées de 3 ans (poids moyen total 75 ±10 g) originaires du bassin de Marennes-Oléron, ont été placés dans des bacs régulés au début du mois de juillet. Le premier lot ("cycle naturel") a subi un cycle équivalent au conditions moyennes de température et de photopériode observées à La Tremblade au cours des 15 dernières années, le second lot ("cycle accéléré") a été soumis à une variation deux fois plus rapide de ces deux facteurs, afin de créer les conditions hivernales en Octobre, et de retrouver les conditions estivales en Décembre. Les deux populations ont été nourries d'un mélange *Isochrysis aff. galbana* (T-*Iso*) et *Chaetoceros calcitrans* (10^9 cellules/jour/animal de chaque espèce).

En Octobre, Novembre et Décembre, 40 individus de chaque lot ont été mis en conditionnement (T=19°C, photopériode estivale 16h) pendant 6 semaines. Ces huîtres ont été troussées pour récupérer les gamètes et la viabilité des produits a été évaluée à l'obtention des larves D.

Durant les 6 mois de l'expérience, un suivi biométrique et des prélèvements pour l'histologie (mesure du diamètre des ovocytes) ont été effectués, sur les lots "naturel", "accéléré" ainsi que sur les lots mis en conditionnement.

Résultats.

- suivi histologique

L'évolution du lot "naturel", montre une disparition progressive des ovocytes de grande taille (40 microns), et parallèlement l'apparition de petits ovocytes, qui ne commencent à évoluer qu'au mois de Décembre.

Le lot "accéléré" présente une évolution de la population des jeunes ovocytes dès le mois d'octobre (qui correspond au mois de décembre pour les huîtres de ce lot), tandis qu'à la mi-janvier, on ne voit plus de jeunes ovocytes.

Les trois lots "accélérés" conditionnés présentent après 6 semaines, des ovocytes d'environ 40 microns. Seul le lot "naturel" conditionné en décembre montre une gamétogénèse active allant jusqu'aux gamètes murs.

- obtention de ponte

Les lots "accélérés" ont permis de recueillir dès le mois de novembre en moyenne une dizaine de millions d'ovocytes donnant 30% de larves D, quelque soit la date de mise en conditionnement, à la fin du mois de novembre les femelles de cette population contenaient déjà des ovocytes matures et viables sans conditionnement. Les deux premiers lots "naturels" conditionnés n'ont pas donné de produit viable. En revanche, après plus de six mois en conditions artificielles, le dernier lot a produit en moyenne 8 millions d'ovocytes dont 22% ont donné des larves viables qui ont pu être élevées jusqu'au stade "oeillé" en 19 jours à 24 °C.

Culture de micro-algues en continu

Ph. Miner

Laboratoire de Physiologie des Invertébrés - Centre de Brest

La variabilité des performances des larves de mollusques en écloserie est pour une large part attribuée à une variabilité de la valeur alimentaire des micro-algues fourrage distribuées. Malgré l'attention particulière, apportée d'une façon générale à leur production, la grande sensibilité des micro-algues aux conditions de culture, liée à la technique culturale mise en œuvre, explique dans une large mesure ces variations.
Une culture d'algues en continu, soumise à des conditions invariables, doit en principe permettre de fixer l'âge de la population et d'en stabiliser sa composition biochimique.
La mise au point d'un tel système de production, garantissant une qualité constante de l'aliment, représente le premier volet d'un programme dont l'objectif est l'amélioration des performances d'élevage larvaire et post-larvaire de l'huître Crassostrea gigas, par une meilleure adéquation entre les besoins alimentaires des animaux et les qualités nutritionnelles des micro-algues fourrage.

Trois espèces communément utilisées en écloserie de bivalves, choisies non axéniques, sont concernées. Les expériences, menées dans un premier temps sur Isochrysis affinis galbana, sont ensuite appliquées à Pavlova lutheri et Chaetoceros calcitrans.
Les travaux sont menés dans des unités de faible volume, dont la conception permet notamment une meilleure utilisation de la lumière, premier facteur limitant dans une structure classique. Les autres principaux paramètres de culture, tels que la température, le taux de renouvellement du milieu, la disponibilité en CO2 et l'aération y sont étroitement contrôlés.

Au cours des premiers essais, le seul maintien de ces facteurs à des valeurs jugées optimales, n'a pas permis d'obtenir les résultats escomptés en terme de productivité, de longévité et de stabilité de la composition biochimique.
Des résultats encourageants ont cependant été enregistrés après la modification des milieux de culture initialement utilisés. Sur cette nouvelle base, les tests menés dans un premier temps en culture en [3]bloom[2], montrent un gain significatif en concentration cellulaire sur deux des trois espèces testées.
La modification du milieu nutritif en culture continue, n'a été pour le moment appliquée qu'à Isochrysis affinis galbana, à deux taux de renouvellement de culture : 25 et 33% par jour
Les densités atteintes en phase continue, de l'ordre de 75 millions de cellules par millilitre, sont doubles de celles obtenues avec le milieu nutritif de base. Ces nouvelles conditions ont permis de maintenir T.Iso. en culture continue, au taux de dilution de 33%, pendant une période de deux mois, conformément à l'objectif fixé.
La composition biochimique proximale, présente une relative stabilité jusqu'au second mois de culture au cours duquel on observe une progression de la part des protéines.
Le suivi des populations bactériennes montre une augmentation régulière de la densité sans dépasser les seuils couramment admis. On note cependant, à partir du deuxième mois, une évolution dans la représentation des espèces bactériennes.
Dès le cinquième jour, l'azote n'est plus dosable dans le milieu de culture, mais ceci n'affecte pas immédiatement la prolifération cellulaire, alors encore en phase exponentielle.
Une taille plus importante des cellules, traduisant un vieillissement de la population, est également constatée pour le taux de renouvellement le plus faible.

Programme ROMEO/ Research Objective : Mortality in European Oysters

J.C. Cochard, J.R. Le Coz, J.L. Nicolas

Laboratoire de Physiologie des Invertébrés (Brest)

Ce programme a été initié par plusieurs écloseries d'Irlande (Lissadel), d'Espagne (Tinamenor), d'Angleterre (Seasalter: Walney, Reculver ; Guernesey Sea Farm), de France (Satmar : Barfleur, Leucate ; les Ferranges). L'objectif principal est d'identifier les causes des arrêts de croissance et de mortalité massive observés chez les larves d'huîtres creuses Toutefois les différents problèmes d'élevage larvaire n'ont pas été suffisamment répertoriés et décrits en terme clairs. Après une année de fonctionnement, ces problèmes apparaissent disparates et différents d'une écloserie à l'autre (leur zootechnie est aussi très variée). Pour l'instant quelques cas ont été rapportés et certains identifiés : maladies infectieuses (détection d'herpès virus, de vibrio pathogènes), mortalité dues à des problèmes de qualité d'eau évidente, absence de croissance de cause encore non identifié (Guernsey).
Le laboratoire de Physiologie des Invertébrés s'est impliqué dans l'étude des microalgues par des analyses biochimiques, bactériologiques et par des biotests. Des analyses biochimiques d'oeufs et de larves en situation de développements normal et anormal sont en cours.

Biochimie

Les profils de stérols ont permis d'identifier 2 souches différentes de *Skeletonema costatum* et de déceler des erreurs d'espèces entre *Pavlova* et T-iso, entre *Thalassiossira* et *Skeletonema* et de mettre en évidence un mélange de *Pavlova* et T-iso.. L'étude des oeufs et des larves montre une consommation des esters de stérols pendant le développement embryonnaire et un relais nutritionnel pris dès le jour 3. Ces esters dépendent de la nourriture fournie aux géniteurs.

Biotest

Les premiers résultats de biotests n'indiquent pas d'inhibition de croissance par les souches d'algues provenant de 7 écloseries. Tous les mélanges d'algues ne donnent pas la même croissance mais l'analyse statistique en prenant les moyennes par condition ne les valident pas en général. Cependant les histogrammes de taille des larves permettent d'affiner cette analyse et sur un cas, il a été montré qu'une souche d'algue empêchait la croissance d'une partie des larves.

Bactériologie

Les analyses bactériennes quantitatives et qualitatives (identification par des méthodes de Biologie moléculaire : RAPD, séquençage d'ARN16S) montrent que les populations sont plutôt moins importantes que dans les structures expérimentales d'Ifremer et plus diversifiées. Le nombre de bactéries par cellule algale ne dépasse pas en général 10. La microflore vibrionacée est absente dans la plupart des cas.
Une grande variété d'espèces bactériennes et de genres existent , le groupe le plus représenté est Rhodobacter dont plusieurs espèces sont photosynthétiques. Les gamma bactéries (Pseudomonas, Alteromonas et Enterobactéries) sont très peu représentées. Les Cytophaga sont présents et parfois envahissants. Ils pourraient être le signe d'une certaine dégradation des cultures. Aucune microflore spécifique semble associée à une espèce d'algue. Certaines bactéries identiques se retrouvent dans plusieurs écloseries et plusieurs espèces d'algues. Ainsi s'il s'avère que des bactéries ont un effet dépressif sur l'ingestion, des contaminations d'une espèce d'algue à l'autre et entre écloseries ne sont pas à exclure.
Les souches qui paraissent intéressantes ou suspectes seront réassociées à des algues axéniques et distribuées aux larves afin de tenter de démontrer leur influence sur l'ingestion. Il est prévu à l'issu de ce programme de fournir des algues avec une microflore neutre ou bénéfique.

Recherche de molécules actives chez des bactéries marines et leur utilisation comme probiotiques en élevage larvaire de bivalve.

J.L. Nicolas

Programme réalisé en collaboration avec Micromer et le Laboratoire des Substances marines d'intérêt biologique (Muséum National d'Histoire Naturelle).

L'usage immodéré des antibiotiques est dénoncé périodiquement dans la presse spécialisée ; la médecine humaine et vétérinaire est en effet de plus en plus confrontée à des multirésistances chez les bactéries pathogènes. Un programme financé par le ministère de la Recherche voudrait répondre à un double objectif : éviter l'utilisation des antibiotiques parfois nécessaire dans les élevages en les remplaçant par des probiotiques et trouver éventuellement des molécules antibactérienne susceptibles d'un développement industriel. L'utilisation des probiotiques en élevage aquacole se répand progressivement mais peu de données sont disponibles dans la littérature dans ce domaine.

Il a plusieurs types d'effets probiotiques utilisables dans les élevages :soit stimuler des flores bactériennes dites de barrière par des nutriments ou prébiotiques, soit « occuper » le terrain par des bactéries proches (compétition pour le fer, ou autres mécanismes), soit utiliser des bactéries produisant des antibactériens. Parmi ceux-ci on peut distinguer grossièrement les molécules de type bactériocines (protéiques) et des petites molécules plus proches des antibiotiques.

Des screenings sur environ 600 bactéries prélevées dans différents biotopes ont été effectués. Les activités les plus fréquentes sont retrouvées contre *Vibrio anguillarum*. *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* sont quelquefois sensibles aux bactéries, plus rarement *Candida albicans* (levure) et pas du tout *Pseudomonas aeruginosa*.

Une dizaine de bactéries ont été retenues pour leur activités plus constantes. Les molécules actives sont en cours d'identification pour plusieurs d'entre elles. Curieusement 4 de ces bactéries sont très proches bien que leur activités ne soient pas comparables. Elles appartiennent au genre *Roseobacter* Leurs molécules actives sont de petite taille et leur polarité les rend difficile à séparer. Un *Pseudalteromonas* produit une bactériocine (peptide) de haut poids moléculaire (environ 30 Kd) très active contre *S. aureus* et *V. anguillarum*

Les premiers essais de probiotiques en élevage larvaire de bivalve ont été effectués. *Roseobacter galleaciensis* à 10^6 bact./ml protège efficacement les élevages larvaires de coquille St Jacques contre l'apparition naturelle de la vibriose à *Vibrio pectinicida*. Par contre il n'empêche pas l'infection si ce vibrio est ajouté à 10^4/ml.

En eau de mer la concentration nécessaire est de l'ordre de 10^7/ml pour éliminer les pathogènes. ce qui est une dose toxique pour les larves mais elle peut-être supportée par le naissain. Ainsi on a pu réduire les mortalité sur du naissain de palourde par un autre probiotique (X129) ajouté à cette concentration. Ces probiotiques se développent bien dans des cultures d'algues axéniques qui pourraient être ainsi leur milieu de culture et leur vecteur. Bien que leur activité soit moindre que les antibiotiques ces probiotiques permettraient de protéger les élevages contre l'apparition de bactéries nocives. Il reste à effectuer des tests à plus grande échelle pour valider ces premiers résultats.

Amélioration du conditionnement des géniteurs de C.gigas par le contrôle de la nutrition et de la gamétogénèse. "GIGANUGA", contrat Fair

Jeanne Moal, Jean François Samain, Catherine Séguineau, Jean René Le Coz, Claudie Quéré
Laboratoire de Physiologie des Invertébrés (Ifremer Brest)

Les objectifs du programme visent à l'amélioration du conditionnement des géniteurs de l'huître creuse C.gigas dans l'écloserie par une meilleure compréhension des relations entre la nutrition des géniteurs et la qualité des produits sexuels produits.
Les étapes sont :

- une comparaison des résultats obtenus après un conditionnement contrôlé en écloserie et un conditionnement in situ pour définir des critères pertinents des processus de la gamétogénèse.
- identifier les déficiences du régime alimentaire utilisé en écloserie
- corriger ces déficiences par une supplémentation

La description histologique d'un cycle de reproduction à Marennes Oleron montre que l'initiation de la gamétogénèse débute en novembre et que la vitellogénèse des ovocytes démarre en mars. Après la ponte massive en août, aucune reinitiation des mitoses n'est observée mais seulement une restauration du tissu de réserve.
L'analyse biochimique des tissus et des produits sexuels décrit une accumulation de certains composés biochimiques dans la gonade et leur consommation au cours de l'embryogénèse. A ce titre, les acides gras polyinsatures, les esters de stérols, la vitamine B1 seraient des descripteurs de la gamétogénèse.
La comparaison d'une gamétogénèse dans la nature et en écloserie montre que en régime algal standard on identifie des déficiences nutritionnelles au niveau des acides gras polyinsaturés. (n-3).
Après la ponte in situ il a été impossible de reinitier une gamétogénèse en conditions contrôlées. D'autres facteurs que la nutrition sont responsables de cet échec.

Une supplementation du régime algal a été réalisée par ajout d'une émulsion riche en acides gras polyinsatures n-3 et en sterols. Pour le conditionnement printanier aucune amélioration des processus de la gamétogénèse n'a pu être observée et la composition des tissus n'a pas été modifiée. Il semble nécessaire d'augmenter les quantites d'émulsion et de modifier le mode de distribution de l'émulsion. Cependant au conditionnement d'automne l'ajout d'émulsion a accéléré les processus de la gamétogénèse.

Critères de compétence à la métamorphose chez la coquille St Jacques, *Pecten maximus* (Lamark)

René Robert [1], *Laurence Nicolas* [1], *Christine Moisan* [2], *Georges Barbier* [3]

1 Ifremer, Laboratoire Physiologie des Invertébrés Marins, 29200 Brest
2 Faculté de médecine, Laboratoire de Physiologie, 29200 Brest
3 Ifremer, Laboratoire de Caractérisation des Micro-organismes Marins, 29200 Brest

Afin de caractériser la métamorphose de *P. maximus* en écloserie des relations entre paramètres d'élevage larvaire, composition biochimique larvaire élémentaire et métamorphose ont été recherchées. Le pourcentage de double barre est significativement corrélé aux taux de métamorphose. Il en est de même pour la teneur relative en lipide. Une régression multiple intégrant ces deux variables explique 50 % de la variance totale du pourcentage de métamorphose, le poids relatif de ces deux variables étant à peu près équivalent. Afin de rechercher d'éventuels marqueurs endogènes, la cinétique des amines biogènes a été également étudiée au cours du développement larvaire et post-larvaire. Une augmentation marquée de la sérotonine et de la dopamine en fin de vie larvaire, suivie d'une brusque diminution au cours de la métamorphose a été notée. Ces deux amines pourraient servir d'indicateur de la compétence larvaire chez la coquille St Jacques.

RESUMES

AMELIORATION GENETIQUE

Amélioration des performances de croissance chez l'huître creuse *Crassostrea gigas* triploïde

J.M. Chabirand, C. Vercelli, J. Oheix, Y. Pichot, D. Buestel.

Introduction

Depuis plusieurs années, les différents aspects de l'élevage des huîtres creuses *Crassostrea gigas* triploïdes ont été étudiés dans le cadre des programmes de diversification conchylicole de la Station IFREMER de Palavas avec l'appui du laboratoire de génétique de Ronce Les Bains.

Après avoir démontré, expérimentalement en 1995 que les huîtres stériles grossissaient plus vite (+53g) les travaux ont porté, en 1998, sur l'étude de la croissance d'huîtres triploïdes dans des conditions d'élevage réalisé à échelle commerciale.

Protocole

Un suivi d'une durée d'un an a été fait sur une table d'élevage d'un professionnel en utilisant les techniques classiques de production de l'étang de Thau sur trois populations distinctes :

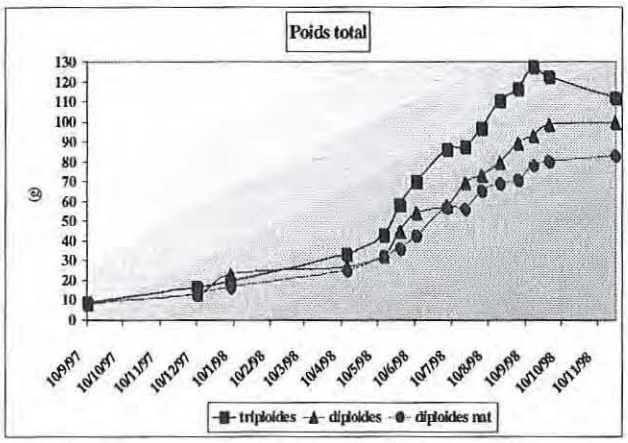
- Huîtres triploïdes produites par l'écloserie de La Tremblade puis prégrossies en nurserie à Bouin,
- Diploides témoins correspondants,
- Huîtres issues de captage naturel du bassin d'Arcachon et prégrossies en Bretagne.

Après 18 mois de pré-élevage, les animaux avaient un poids moyen de 8,5g pour les triploïdes et diploides témoins et de 13,5g pour les diploides naturelles. Ils ont été collés sur des cordes de 6 m à raison de 190 à 200 huîtres par corde. Les huîtres ont été immergées sur une table située dans une zone d'élevage très poussante à Bouzigues. Les paramètres biométriques et biochimiques ont été mesurés entre septembre 1997 et novembre 1998 avec des prélèvements bimensuels entre mai et octobre 1998.

Résultats

Poids total

Les performances de croissance en poids total chez les triploïdes (fig 1) ont été meilleurs tout au long de l'étude.



La taille commercialisable a été atteinte après 8 mois d'élevage.

Figure 1

Biochimie

L'évolution des teneurs en glycogène (fig 2) montre un taux légèrement plus élevé chez les triploïdes en période estivale. Globalement la moyenne est de 9,5 % pour les triploïdes et respectivement de 6,4% et 8,7% pour les diploides témoins et les diploides naturelles.

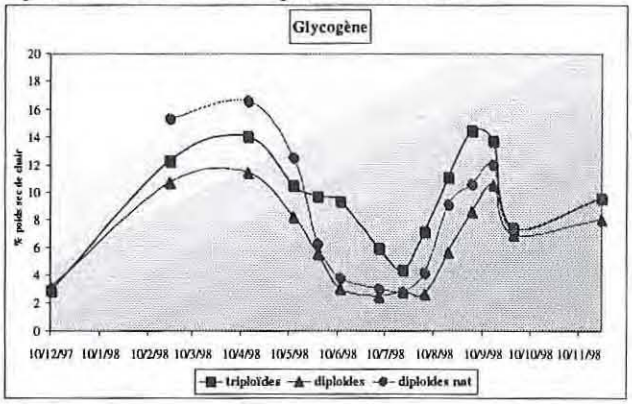


Figure 2

Indice Afnor

L'évolution de l'indice de remplissage (fig 3) montre une tendance homogène, mais plutôt faible pour les triploïdes et diploides témoins, la moyenne se situant à 9. Il est plus élevé chez les diploides du milieu naturel, la moyenne Afnor étant de 11,8 avec deux pics à 13,7 au printemps et en fin d'été.

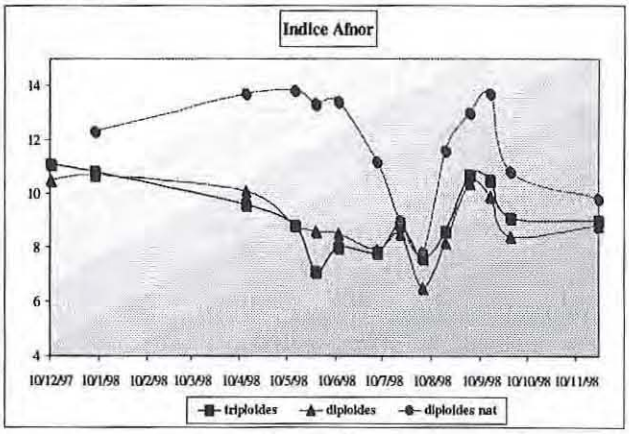


Figure 3

Conclusion

Si les huîtres stériles ont été plus performantes en terme de croissance, avec des réserves en glycogène plus élevées, elles ont eu en revanche un taux de remplissage plutôt décevant pour des huîtres de l'étang de Thau. Ceci s'explique par une poussée en coquille plus importante que la moyenne habituelle, au détriment de la chair. L'étude a cependant confirmé que les triploïdes avaient une meilleure qualité gustative en période estivale, d'où un intérêt commercial évident. La très forte croissance permettrait d'envisager la production de triploïdes sur des calendriers d'élevages courts et spécifiques en vue d'une production estivale.

Etude de l'amélioration des performances des huîtres creuses triploïdes
Analyse sensorielle

C. Vercelli, JM. Chabirand, J. Oheix, Y. Pichot, Dominique Buestel
Fabienne Ribeyre (Laboratoire Serisud)

Introduction -

Outre l'intérêt d'une croissance accélérée, les producteurs méditerranéens espèrent une meilleure qualité de l'huître creuse triploïde durant l'été, période de forte consommation touristique. Les huîtres creuses sont alors soit laiteuses soit maigres, du fait de la reproduction. Cette étude est réalisée fin juillet 1998, dans le but de rechercher une différence du point de vue organoleptique entre les huîtres creuses triploïdes et diploïdes, après 10 mois d'élevage dans l'étang de Thau.

Méthode -

La méthode retenue est l'étude descriptive qui permet d'analyser des grandeurs sensorielles complexes telles que flaveur, goût, texture ... à partir d'une notation confiée à un jury entraîné. Le profil sensoriel des produits étudiés est ensuite dressé et la nature de leurs différences éventuelles est précisée. Chaque variable fait l'objet d'une analyse de variance à 2 facteurs (juge et produit).

Protocole -

Quatre variétés d'huîtres sont testées :

- 3N écloserie Ifremer la Tremblade,
- 2N témoins écloserie Ifremer la Tremblade,
- 2N captage naturel Bretagne,
- 3N Producteur, écloserie commerciale.

Une séance d'entraînement est organisée fin juin afin de fixer le vocabulaire. Durant la 2ème quinzaine de juillet, les huîtres sont dégustées par un jury de 10 personnes, au cours de 4 séances. Chaque juge déguste 12 huîtres par séance, en 3 passages. La notation de 1 à 5 de 20 variables est portée sur des feuilles spéciales (ULISI, INRA) permettant une saisie par scanner et un premier traitement en temps réel sous Excel. On regarde les moyennes et la variance par juge et par produit. Les corrélations entre variables sont également étudiées.

Choix des variables -

- **Coquille :** aspect intérieur
- **Chair :** aspect : charnu, laiteux, couleur
- **Odeur :** intensité globale, iode, algue, vase
- **Goût :** salé, sucré, amer, astringent
- **Flaveur :** iode, algue, noisette
- **Texture :** croquante, fibreuse, élastique, laiteuse

A ces 19 variables est ajoutée une **note globale** qui n'est pas utilisée pour établir le profil sensoriel.

Principaux résultats -

La variabilité entre huîtres d'une même catégorie intervient dans les effets juges, les huîtres testées ne pouvant pas être identiques à l'intérieur d'un même lot. Pour chaque variable, la cohérence de la notation est examinée en se basant sur 2 critères :

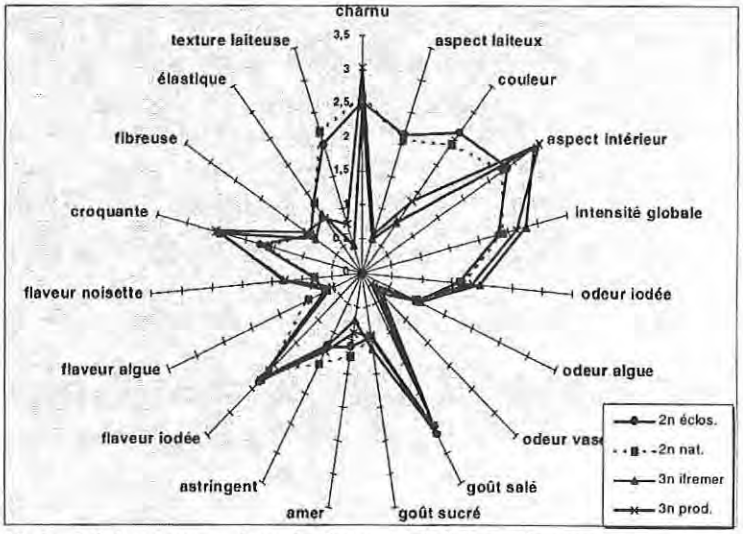
- écarts par rapport à la moyenne
- interaction juges-produits

En cas d'incohérence, il n'est pas tenu compte des juges concernés.

Pour presque toutes les variables on note **2 classes de produits** : triploïdes et diploïdes. Les huîtres triploïdes ont un meilleur aspect intérieur (coquille) et un aspect moins laiteux. Elles ont tendance à être moins amères, elles sont d'une flaveur noisette plus prononcée, et présentent une texture nettement plus croquante, moins élastique et moins laiteuse que les diploïdes.

En revanche, il n'y a pas de différence significative entre ces 2 classes en ce qui concerne le goût et l'odeur. Les triploïdes Ifremer ont une intensité olfactive globale et une odeur iodée plus intenses que les diploïdes naturelles et d'écloserie. Les diploïdes naturelles présentent une flaveur algue plus prononcée que toutes les autres variétés.

Profil sensoriel des 4 variétés d'huîtres :



Note hédonique : Les huîtres triploïdes (Ifremer et Producteur) ont été préférées aux diploïdes.

Mots clés *: Crassostrea gigas, triploïdes, analyse sensorielle, reproduction.*

Différenciation génétique et phylogéographie de deux huîtres creuses *Crassostrea gigas* et *Crassostrea angulata* : apport de marqueurs mitochondriaux et microsatellites

Huvet , A., Boudry P., Gérard A.

IFREMER - Laboratoire de Génétique et Pathologie - BP 133 - 17390 La Tremblade

Le statut taxonomique de *Crassostrea angulata* (Lamark, 1819), l'huître portugaise, et *Crassostrea gigas* (Thuenberg, 1793), l'huître japonaise, a longtemps été problématique. La distinction entre ces 2 taxons était à l'origine basée sur la disparité de leur répartition géographique: *Crassostrea angulata* étant présente au sud de l'Europe et *Crassostrea gigas* originaire d'Asie. Les similitudes morphologiques et physiologiques ainsi que l'absence de barrière à la reproduction ont orienté les auteurs vers un regroupement au sein d'une seule espèce (Menzel, 1974). Plusieurs études, basées sur des marqueurs allozymiques, ont révèlé une homogénéité des fréquences entre populations, concluant à l'absence de différenciation génétique entre ces 2 taxons.

L'étude de populations d'huîtres japonaises et portugaises est ici abordée au moyen de 2 autres types de marqueurs: ADN mitochondrial et nucléaire. L'analyse est réalisée sur le fragment codant pour la Cytochrome Oxydase de l'ADN mitochondrial (par PCR-RFLP) et par 4 locus microsatellites sur un total de 15 populations (590 individus au total).

La plupart des populations échantillonnées comme *C. gigas* présente une forte fréquence de l'haplotype mitochondrial "C" alors que l'haplotype "A" est très fréquent chez les populations espagnoles et portugaises ainsi que taïwanaises. Ces différences génétiques révélées par PCR-RFLP sur l'ADN mitochondrial permettent de distinguer *C. angulata* de *C. gigas* et représente un "marqueur diagnostique" (Boudry *et al.*, 1998). L'analyse par 4 marqueurs microsatellites révèle l'existence d'une faible structuration inter-populations (Fst<4%). Contrairement à l'homogénéité observée jusqu'alors sur les allozymes, les distances génétiques obtenues montrent une différenciation significative entre populations *C. gigas* et *C. angulata*. Trois des 4 marqueurs microsatellites présentent des différences significatives de taille d'allèles entre les 2 taxons: les allèles observés chez *C. angulata* apparaissent significativement plus grands.

Un regroupement des populations *C. angulata* avec les populations *C. gigas* taïwanaises est observé sur les 2 types de marqueurs grâce aux distances génétiques. L'origine taiwanaise des populations *C. angulata* est renforcée. Une étude de séquençage d'ADN mitochondrial (O'Foighil *et al.*, 1998) a récemment confirmé l'origine asiatique de *C. angulata*.

L'étude plus approfondie des relations génétiques entre populations asiatiques est nécessaire afin de comprendre les mécanismes d'isolement reproductif et de spéciation permettant la création et le maintien de ces 2 entités génétiques pouvant être qualifiées de sous-espèces. L'existence de 3 espèces génétiquement proches, *Crassostrea rivularis*, *Crassostrea sikamea* et *Crassostrea gigas*, dont l'origine asiatique est admise, est un matériel important de comparaison dans l'étude des processus de différenciation génétique entre l'huître portugaise et japonaise.

Boudry P., S. Heurtebise, B. Collet, F. Cornette and A. Gérard, 1998. Genetic differentiation between Portuguese [*Crassostrea angulata* (Lamark)] and Pacific [*Crassostrea gigas* (Thunberg)] oyster populations, as revealed by RFLP analysis of PCR amplified mitochondrial DNA segments. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 226 : 279-291.

O'Foighil D., P.M. Gaffney, A.E. Wilbur and T.J. Hilbish, 1998. Mitochondrial Cytochrome Oxidase I gene Sequences support an Asian origin for the portuguese oyster, *Crassostrea angulata.* Marine Biology. 131 : 497-503.

Menzel R.W., 1974. Portuguese and Japanese oysters are the same species. Journal of the Fisheries Resources Board. Canada 31 : 453-456.

Utilisation des marqueurs microsatellites pour l'étude des contributions parentales chez l'huître creuse *Crassostrea gigas* (Thunberg).

Boudry P.[1], *Collet B.*[1], *Kotoulas G.*[2], *Hervouet V.*[1], *Cornette F.*[1]. *Bonhomme F.*[3], *Gérard A.*[1]

[1] IFREMER, BP133, 17390 La Tremblade, France ;
[2] IBMC, P.O. Box 2214, 71003 Iraklion, Grèce ;
[3] LGP, 1 quai de la Daurade, 34200 Sète, France.

Mots-clés : contributions parentales, microsatellites, *Crassostrea gigas.*

De nombreuses espèces aquacoles présentent de très fortes fécondités. Il est donc possible, dans les écloseries, de produire de très grands nombres de descendants à partir d'un nombre réduit de parents. La variabilité génétique des descendants est bien sur directement liée au nombre de parents utilisés, mais elle peut être considérablement réduite par des contributions parentales déséquilibrées. Les marqueurs génétiques très polymorphes sont des outils très utiles pour étudier de ces phénomènes dans les populations en élevage (Harris et al. 1991; Herbinger *et al.*, 1996a; Garcia de Leon *et al.* 1998) ou dans le milieu naturel (Ferguson *et al*, 1995; Kellog *et al.*, 1995; Colbourne *et al.*, 1996; Herbinger *et al.*, 1996b).

Nous présentons ici plusieurs expériences, réalisées dans le cadre du programme européen "GENEPHYS", utilisant des marqueurs microsatellites pour l'analyse des contributions parentales dans des croisements *in vitro* chez l'huître creuse *Crassostrea gigas*. L'analyse de parenté a été facilitée par le grand polymorphisme observé aux 4 locus étudiés. Dans un croisement entre 20 mâles et 20 femelles, le père ou la mère d'un quart des descendants ont pu être déterminés en utilisant un seul locus microsatellite présentant 28 allèles. Dans plusieurs croisements entre 5 mâles et 5 femelles, tous les descendants ont pu être assignés à une famille en utilisant 3 locus. Dans tous les cas, la combinaison des génotypes à 2 locus a permis l'identification des parents. Malgré des contributions gamétiques équilibrées entre parents à la fécondation, des contributions parentales déséquilibrées sont observées dans les descendants, aux stades larvaires et juvéniles. Afin de déterminer les causes de ces déséquilibres, les effets de la compétition gamétique et zygotique sont étudiés en comparant différents types de croisements (avec ou sans compétition gamétique) à différents stades de développement.

Colbourne J.K., Neff B.D., Wright J.M., Gross M.R. (1996). DNA fingerprinting of bluegill sunfish (Lepomis macrochirus) using (GT)n microsatellites and its potential for assessment of mating success. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 53: 342-349.

Ferguson, A., Taggart J.B., Prodohl P.A., McMeel O., Thompson C., Stone C., McGinnity P., Hynes R.A. (1995). The application of molecular markers to the study and conservation of fish populations, with special reference to *Salmo*. Journal of Fish Biology 47(Suppl. A): 103-126.

Harris A.S., Bieger S., Doyle R.W., Wright, J.M. (1991). DNA fingerprinting of tilapia, *Oreochromis niloticus* , and its application to aquaculture genetics. Aquaculture 92(2-3): 157-163.

Garcia de Leon F.G., Canonne M., Quillet E., Bonhomme F., Chatain B. (1998). The application of microsatellite markers to breeding programmes in the sea bass, Dicentrarchus labrax. Aquaculture 159(3-4): 303-316.

Herbinger C.M., Doyle R.W., Pitman E.R., Paquet D., Mesa K.A., Morris D.B., Wright, J.M., Cook D. (1996a). DNA fingerprint based analysis of paternal and maternal effects on offspring growth and survival in communally reared rainbow trout. Aquaculture 137(1-4): 245-256.

Herbinger CM, Doyle R.W, Taggart C.T., Lochmann S.E., Brooker A.L., Wright J.M., Cook D. (1996b). Family relationships and effective population size in a natural cohort of cod larvae. Canadian journal of Fish and Aquatic Science54 (Suppl. 1) 11-18.

Kellog K.A., Markert J.A., Stauffer J.R., Kocher T.D. (1995). Microsatellite variation demonstrate multiple paternity in lekking cichlid fish from lake Malawi, Africa. Proceedings of the Royal Society, London 260B: 79-84.

Diversification de l'huître plate *Ostrea edulis* en Languedoc Roussillon
Etude de la mortalité estivale

J. Oheix, J.M. Chabirand, C. Vercelli, Y. Pichot, D. Buestel

Introduction

Le programme de 1997 sur l'huître plate en Méditerranée, mené en collaboration avec l'équipe génétique de La Tremblade, a été orienté vers la recherche des causes de mortalité estivale.

Au vu des résultats d'une pré étude menée de 1995 à 1996, plusieurs questions se posaient :

- *Les souches d'huîtres plates atlantiques et méditerranéennes sont-elles différentes du point de vue génétique ?*
- *Les huîtres méditerranéennes sont-elles mieux adaptées que les huîtres atlantiques aux conditions estivales de l'étang de Thau ?*
- *Quelle est la responsabilité du parasite Bonamia ostraea dans la mortalité ?*
- *Un passage en mer pendant l'été améliorerait-il la survie ?*

Méthode

Nous avons comparé les performances de plusieurs souches d'huîtres plates en élevage dans l'étang de Thau et en mer pendant l'été :

- Souche Atlantique captée à Quiberon et élevée à Cancale.
- Souche méditerranéenne originaire de Carteau (pêche).
- Souche de Thau (pêche).
- Souche Tolérante au *Bonamia* issue d'une sélection génétique effectuée au laboratoire IFREMER de la Tremblade à partir d'huîtres originaires de Quiberon naturellement résistantes à ce parasite.

Principaux résultats

La croissance pondérale est satisfaisante avec un gain de poids mensuel moyen de 3 à 4 g sur 10 mois.

La mortalité débute au moment de la montée de température du début de l'été et se poursuit durant les mois d'août et septembre.

Les souches de Thau et de Méditerranée présentent de meilleurs taux de survie, 67 et 62 % alors que les souches atlantiques et tolérantes ont des survies finales de 32 et 26 %. Le passage en mer retarde l'apparition de la mortalité d'un mois. La mortalité apparaît après les montées de température enregistrées un mois plus tard en mer.

Ce résultat confirme l'influence majeure des augmentations brusques de température dans le phénomène de mortalité.

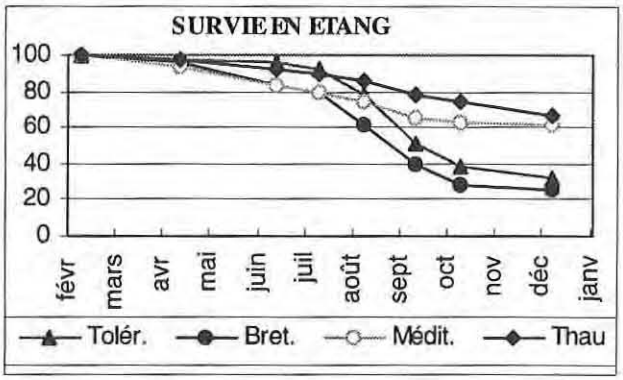
L'infestation par *Bonamia* est faible. Elle touche préférentiellement la souche Atlantique. Les souches Tolérante et Thau ont le même degré d'infestation et présentent pourtant des performances de survie très différentes. Le *Bonamia* ne serait donc pas la cause principale de la mortalité.

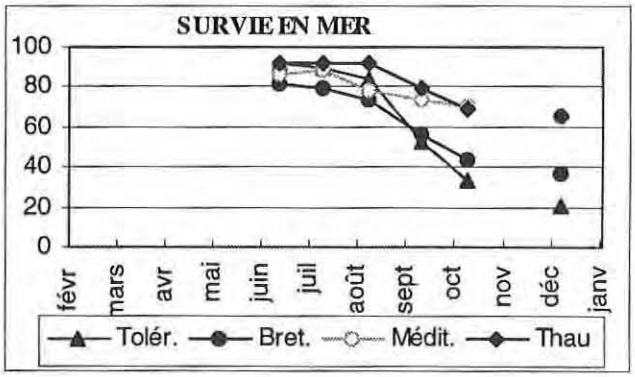
La caractérisation des souches par la technique des microsatellites montre que les souches Atlantique et Méditerranée sont différentes du point de vue génétique. La souche de Thau est intermédiaire entre les deux, du fait vraisemblablement des nombreux apports atlantiques.

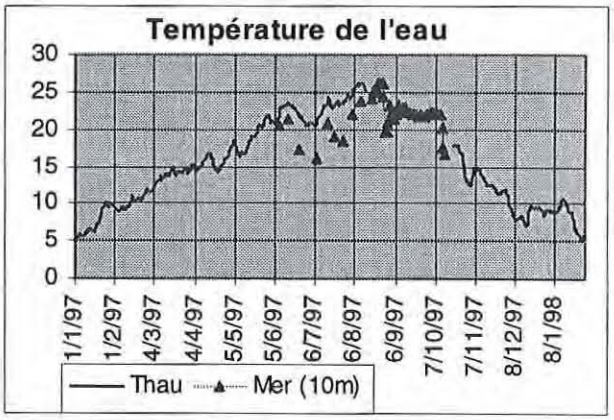
Conclusion

Il est recommandé d'utiliser du naissain d'origine méditerranéenne (écloserie ou captage naturel).

Le passage en mer en été, dans une zone plus profonde (moins sensible aux augmentations de température) peut limiter la mortalité. Un travail sur la physiologie de l'huître plate en période estivale à Thau serait nécessaire pour mieux comprendre les mécanismes de la mortalité.







Relations entre les paramètres physiologiques de la digestion et la croissance.
Le modèle amylase dans la recherche d'un marqueur génétique.

Jean Francois Samain, Jeanne Moal, Jean Yves Daniel -
Laboratoire de Physiologie des Invertébrés (Ifremer Brest)

Les relations entre l'équipement digestif, le rendement d'assimilation et la croissance sont analysées à partir d'une étude sur une enzyme modèle : l'amylase. Des connaissances sont aussi acquises sur le gène et l'existence de 2 gènes a été mise en évidence. Ce polymorphisme génétique ouvre des perspectives pour définir un marqueur génétique basé sur le rendement d'assimilation.

Dans le cadre du programme Genephys, nous avons modélisé les relations ingestion , rendement d'assimilation avec le niveau de l'enzyme amylase. Par cette approche nous avons discriminé chez des individus dont les paramètres ingestion, assimilation, croissance sont connus, 2 groupes qui se caractérisent par des constantes physiologiques différentes. La signification de cette constante a été recherchée au niveau des constantes physico-chimiques de l'enzyme (Km) et au niveau du polymorphisme génétique. Le Km enzymatique de l'amylase est très variable. Cependant le Km de chaque groupe présente des relations différentes avec la croissance et le rendement d'absorption.

La connaissance de la séquence nucléotidique du cDNA de la glande digestive et de l'existence de 2 gènes, a permis de définir un jeu d' amorces qui permet par PCR d'étudier le polymorphisme individuel. Les résultats montrent que les 2 gènes sont plus ou moins facilement amplifiés. L'origine de ces difficultés est inconnue mais pourrait provenir soit de la présence d'un très long intron dans l'un des gènes soit de mutations à l'endroit de fixation des amorces. Des catégories génétiques ont cependant été définies sur ce critère. Une relation entre catégorie génétique et croissance a été observée. Ces résultats sont prometteurs car ils soulignent que la fonction croissance à travers le rendement d'absorption pourrait avoir une base génétique.

RESUMES

ECOPHYSIOLOGIE

Relations entre la physiologie et la croissance de l'huître plate *Ostrea edulis* en élevage intensif

J. Haure et J.P. Baud

IFREMER, L.C.P.L, Polder des champs, 85230 Bouin.

Une population d'huîtres plates *Ostrea edulis* de 2 ans et provenant de l'écloserie de l'IFREMER de Ronce les Bains a été étudiée de manière à mettre en évidence les relations Existantes entre le comportement physiologique et la croissance des animaux élevés en système contrôlé.

La pente de croissance individuelle d'une trentaine d'individus numérotés a été mesurée sur une durée de 300 jours, de mars à novembre 1998. A l'issue de cette période, 20 animaux ont été choisis pour une étude physiologique. Ils ont été sélectionnés de façon à avoir la plus grande variabilité au niveau des pentes de croissance pour une répartition pondérale la plus homogène possible de 50 à 69 g.

L'étude écophysiologique a été réalisée à 20°C avec de l'eau de mer filtrée à 30-40 µm sur filtre à sable. La concentration algale a été fixée à environ 30 cellules de *Skeletonema costatum* par µl de mélange. Les taux de filtration et de consommation d'oxygène ont été mesurés sur 24 heures avec, respectivement un enregistrement de la fluorescence et de la concentration en oxygène dissous (ppm). Les données ont été enregistrées toutes les minutes par une centrale d'acquisition, et les animaux étaient mesurés les uns après les autres selon un rythme identique, dirigé par un automate.

Les résultats montrent que la filtration, la consommation, l'ingestion et l'absorption semblent être corrélées de manière hautement significative avec la pente de croissance. Les coefficients de détermination de chacune des fonctions linéaires sont respectivement de 0,65, 0,58, 0,51 et 0,49.

En revanche, la consommation d'oxygène présente une pente négative avec la pente de croissance des animaux, mais n'est pas significative au seuil de 5%.

Mots clefs : *Ostrea edulis*, croissance, écophysiologie, élevage intensif.

Modélisation de la croissance de l'huître plate *Ostrea edulis* en élevage intensif

J. Haure et A.L. Barillé

IFREMER, L.C.P.L, Polder des champs 85230 Bouin.

La simulation de la croissance de l'huître plate *Ostrea edulis* a été réalisée en 1998 à partir d'observations du L.C.P.L obtenues en 1995 sur l'élevage intensif en bassins.

Les données ou variables forçantes (non calculées par le modèle) ont été définies par les paramètres hydrobiologiques de température et d'énergie particulaire. Les variables d'état choisies étaient le poids sec et le poids de coquille de l'animal. L'objectif à été de calculer l'évolution des variables d'état en fonction des variables forçantes du milieu ayant une action effective sur la croissance et sur l'activité de nutrition d'*Ostrea edulis*.

Les données physiologiques qui ont permis d'établir les équations mathématiques du modèle sont issues des travaux réalisées au L.C.P.L dans les conditions d'élevage intensif avec apport de l'algue *Skeletonema costatum*. Elles proviennent également de données issues de la littérature.

La modélisation a été réalisée au moyen du logiciel SENECA (Simulation Environment for Ecological Application) conçu pour la simulation de processus en fonction du temps.

Les variables annexes calculées, telles que la filtration et la consommation d'oxygène sont sous l'influence directe de la température. La filtration et la respiration atteignent respectivement 2 $l.h^{-1}.ind^{-1}$ et 20 $j.h^{-1}.ind^{-1}$ à 24°C, ainsi que 0,5 $l.h^{-1}.ind^{-1}$ et 4 $j.h^{-1}.ind^{-1}$ à 10°C. L'efficacité d'absorption est exprimée en fonction du pourcentage de matière organique dans le milieu afin de tenir compte de la dilution de la nourriture par les particules minérales.

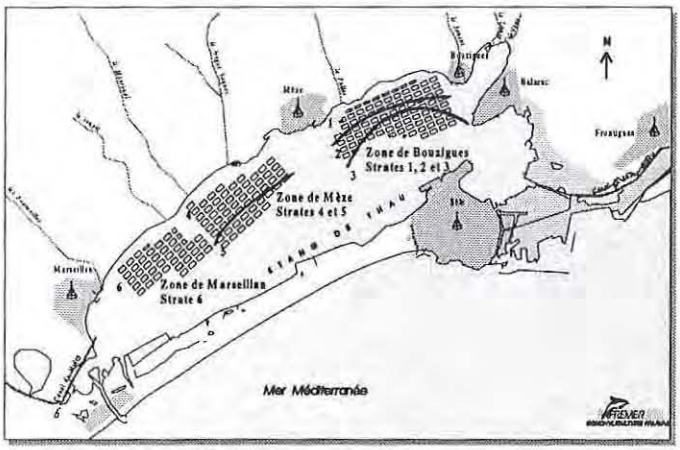
La modélisation permet de définir les compartiments moins connus de la physiologie de l'animal, notamment l'énergie allouée à la gamétogenèse et celle perdue lors de la ponte.

Mots clefs : *Ostrea edulis*, modélisation, croissance, écophysiologie, élevage intensif.

Estimation des stocks de mollusques en élevage (*Crassostrea gigas, Ostrea edulis, Mytilus galloprovincialis*) et des épibiontes dans l'étang de Thau en 1998 Evolution depuis 1980

A. Gangnery, J.M. Chabirand, J. Oheix, Y. Pichot, C. Vercelli, D. Buestel

Une nouvelle méthode d'échantillonnage des coquillages élevés dans l'étang de Thau a été mise au point et testée en 1998. Elle avait pour objectifs l'estimation du stock de bivalves total et par secteurs géographiques (déterminés en fonction d'un gradient de richesse trophique), ainsi que l'évaluation des biomasses par espèce et technique d'élevage. Selon l'objectif, deux traitements statistiques sont appliqués aux données recueillies. Pour le premier, le plan combine les méthodes de l'échantillonnage aléatoire stratifié et de l'échantillonnage du second degré (unité primaire : carré ; unité secondaire : segment de corde). Pour le second, le plan correspond à un échantillonnage aléatoire simple.



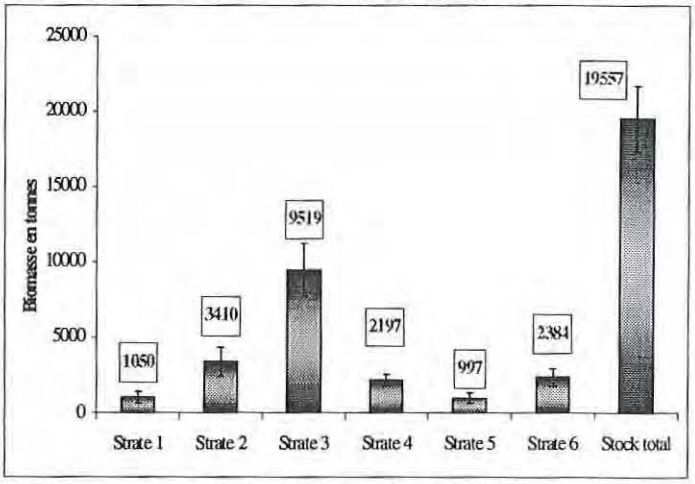
Stratification de l'étang

Les résultats acquis en juillet 1998 montrent une biomasse totale de 19 600 (± 2 200) tonnes avec environ 15 000 tonnes d'huîtres et 4 500 tonnes de moules. L'élevage de l'huître plate est marginal avec 25 tonnes. 60 % des huîtres creuses sont élevées en " pignes " (captage sur coquilles) et 40 % sont collées sur les cordes d'élevage. La zone de Bouzigues (strates 1, 2 et 3) contient plus des deux tiers du stock, les zones de Mèze (strates 4 et 5) et de Marseillan se partageant le reste (strate 6).

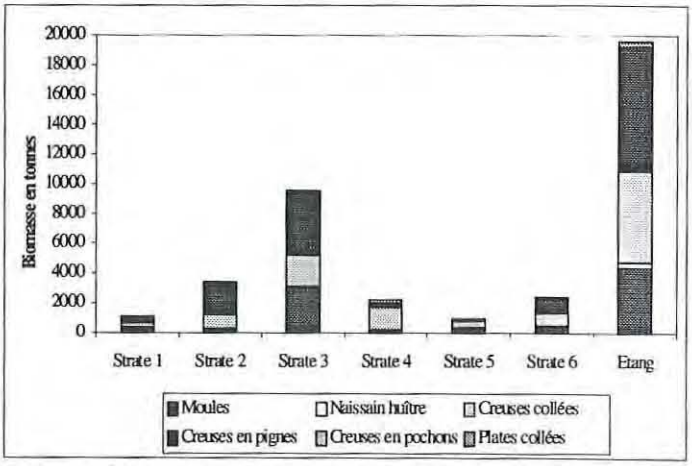
Ce travail a également été l'occasion d'estimer la biomasse des principaux épibiontes fixés aux mollusques (ascidies essentiellement).

Cette biomasse s'élève à 9 000 (± 1 200) tonnes en juillet 1998. Une relation entre les stocks de bivalves (B) et d'épibiontes (E) a pu être exprimée par un modèle de régression linéaire simple d'équation E = 0,465.B ($R^2 = 0,99$).

L'évolution du stock total de mollusques depuis 1980 montre une rupture apparente entre les années 1980-87 (30-35 000 tonnes sauf en 1987 avec 25 500 tonnes) et 1997-98 (20 000 tonnes). Cette différence pourrait provenir de la méthode d'échantillonnage, impliquant une surévaluation des premières données ou une sous-évaluation des secondes. L'évolution des biomasses par espèce montre une baisse importante et régulière du tonnage de moules entre 1980 et 1987 (12 000 à 2 500 tonnes) au profit de l'élevage ostréicole. Cependant, on remarque un doublement de la biomasse en 1998.



Biomasses par strate et par catégorie d'élevage



Mots-Clés : *Etang de Thau, C.gigas, O.edulis, M. galloprovincialis, épibiontes, échantillonnage.*

Relation entre la concentration en chlorophylle *a* et la croissance de l'huître creuse *Crassostrea gigas* dans le bassin de Thau en 1998

D. Buestel, J. Oheix, J.M. Chabirand, C. Vercelli, Y. Pichot

Introduction

La croissance des huîtres creuses est très hétérogène à Thau : elle diminue simultanément du large vers la terre et de l'est vers l'ouest. Ce gradient est globalement bien corrélé avec la répartition de la chlorophylle a. Le réseau REMORA fournit des données de croissance précises et il était intéressant de les coupler à des mesures régulières de chlorophylle a pour *vérifier* et *quantifier* la relation croissance - chlorophylle à un niveau local.

Matériel et méthodes

Croissance : les données de croissance de cinq points du réseau REMORA fournissent des poids totaux en mars (départ), juin, septembre et décembre permettant de calculer des gains de poids saisonniers et annuels. Un point supplémentaire faisant l'objet d'une étude fine de la croissance de *Crassostrea gigas* a également fourni le même type de données.

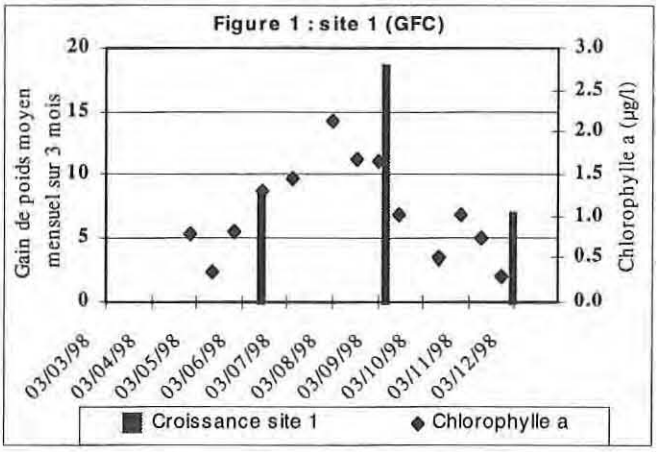
Chlorophylle : Les échantillons sont prélevés tous les 15 jours d'avril à décembre 1998 (13 mesures sur 6 sites). L'eau, prélevée à 1 m de profondeur (3 réplicats de 50 cc) a été filtrée sur filtres GFC (porosité d'environ 1,2µ) et GFF (0,7µ). Les dosages de chlorophylle a ont été effectués au fluorimètre.

Résultats

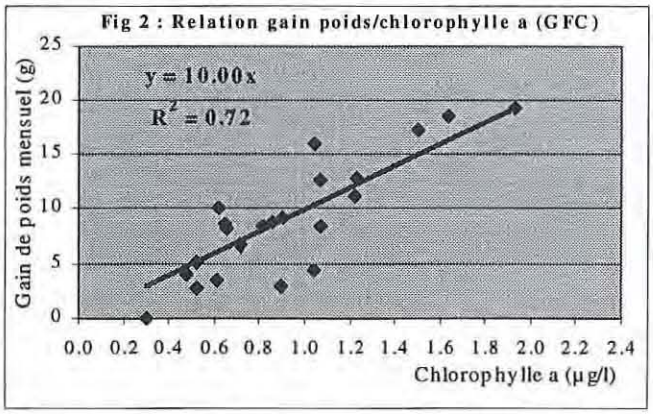
La moyenne annuelle de l'ensemble des échantillons de chlorophylle a mesurée sur filtre GFC est de 0.86 µg/l (écart type s=0.62, n=223). Elle est supérieure pour les filtres GFF (m=1.16, s= 0.8, n=227) qui prélèvent le picoplancton abondant à Thau.

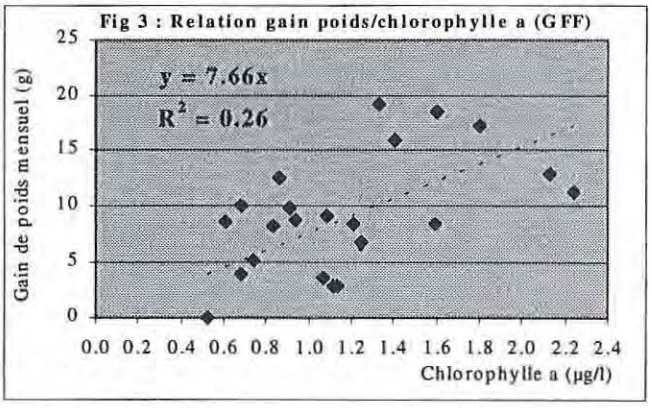
La figure 1 montre un exemple de résultats obtenus sur un des sites.

Les gains de poids moyens mensuels correspondant à chaque saison (variable dépendante) peuvent être associés aux moyennes des valeurs de chlorophylle a correspondantes (variable explicative). Les figures 2 et 3 décrivent les liaisons obtenues pour l'ensemble des couples de valeurs croissance-chlorophylle disponibles dans le cas des filtres GFC et GFF.



La relation croissance chlorophylle est bonne dans le cas des filtres GFC. Elle est de la forme : **Gain de poids moyen mensuel en g = 10 x teneur en chloro a en µg/l**. Elle est quasiment inexistante pour les filtres GFF. Ces résultats semblent indiquer que le picoplancton n'intervient vraisemblablement que pour une très faible part dans la nourriture des huîtres qui consomment essentiellement les microalgues captées sur filtre GFC. Aussi il apparaît préférable d'utiliser les filtres GFC pour caractériser la richesse du milieu du point de vue de la nourriture des huîtres. Il convient cependant d'être prudent et ces premiers résultats demandent à être confirmés par un suivi systématique du milieu dans le cadre de REMORA.





Projet d'étude de la capacité trophique en Chine: le début d'une longue marche

C. Bacher

Cet exposé décrit le projet d'étude de la capacité trophique de 2 baies chinoises, commencé en novembre 1998 et finissant en novembre 2001, dans le cadre de l'appel d'offres Européen INCO-DC - thème 1.1 "Sustainable management of renewable natural resources".

1. Projet

L'aquaculture est une activité économique importante en Chine qui a une production annuelle globale de 4 000 000 tonnes dont 600 000 sont représentés par la culture d'algues et 1 000 000 par les coquillages (Prou, 1996). Dans le cadre de la coopération franco-chinoise lancée en 1995, des contacts ont été noués entre l'Ifremer d'une part, le FIO (First Institute of Oceanography) et l'YSFRI (Yellow Sea Fisheries Research) plus particulièrement d'autre part. Deux baies situées dans la péninsule du Shandong font l'objet d'une attention particulière.

La baie de Sanggou couvre 80 km^2, a une profondeur moyenne de 8 m et sa totalité est occupée par les cultures de Chlamys farreri (pour le 1/3 de la surface, stock de 100 000 tonnes, production de 50000 tonnes en 1994, population de 2 10^9 individus, densité d'élevage de 50 individus/m^2 - Kuang et al., 1995) et de Laminaria japonica (pour les 2/3 restant, représentant une production de 80 000 tonnes). C'est l'un des sites d'élevage d'importance au nord de la Chine. Récemment, une baisse des performances de croissance et une augmentation des taux de mortalité ont été observées et reliées à la capacité trophique de la baie (Kuang et al., 1995). La baie de Jiaozhou couvre une surface de 400 km^2, sa profondeur moyenne étant de 7 m et le marnage moyen de 2.7m avec des courants de marée supérieurs à 15 cm/s à l'intérieur de la baie qui conduisent à des temps de renouvellement des masse d'eau de l'orde de 10 jours (Ji, 1996). Un recensement des stocks, productions et modes de culture des différents espèces d'intérêt économique a été entrepris (Collaudin, 1996). La production d'algues Laminaria japonica est ici minoritaire (1300 tonnes en 1995 - Collaudin, 1996) alors que la production de pétoncle (C. farreri et Argopecten irradians) atteint 44000 tonnes. Le stock de pétoncles en élevage est, comme dans l'exemple précédent, suffisant pour filtrer l'ensemble de la baie en quelques jours (si l'on suppose un mélange rapide des masses d'eau). Mais d'autres espèces sont pêchées: la palourde Ruditapes philippinarum (production officielle 77 000 tonnes), et l'huitre Ostrea plicatula (production 12 000 tonnes). Enfin, certains secteurs intertidaux ont été convertis en marais consacrés à l'aquaculture de Penaeus chinensis. Sans que l'analyse de la capacité trophique ni des impacts de l'aquaculture sur l'environnement ait été véritablement menée, les taux d'occupation croissant de l'espace par les différents modes de culture, l'existence d'apports terrigènes (pollution liée à la pression démographique) ont rendu sensibles les questions de développement durable et de gestion de l'environnement et des activités qui se développent en milieu côtier (Ji, 1996).

Dans ce type de système à potentialité limitée, il est par conséquent nécessaire de mettre au point une méthodologie pour la gestion intégrée, en mettant en place des études sur :

- les interactions aquaculture/environnement dans des baies à fort développement aquacole et industriel,
- les interactions entre les différents types d'aquaculture ou d'exploitation des ressources naturelles,
- la réglementation et le contrôle des pratiques culturales (densités, surfaces, stocks, cheptels).

2. Actions

Un projet de ce type repose sur plusieurs niveaux de compétence: écophysiologie, stratégie d'échantillonnage, modélisation hydrodynamique et écologique, SIG. Sur les deux baies décrites plus haut, les actions suivantes sont prévues:

- écophysiologie des filtreurs et biologie des macrophytes en élevage.
- évaluation et suivi des stocks en élevage et des espèces naturelles.
- variation spatiale et temporelle des principaux descripteurs (sels nutritifs, chlorophylle a, matière organique et minérale particulaire, température et oxygène).

- apports des rivières et hydrodynamisme: modélisation de la circulation des masses d'eau et du transport des matières dissoutes et particulaires et des échanges avec l'océan.
- instrumentation: suivi en continu des descripteurs hydrobiologiques.
- estimation des flux de matière: interface eau-sédiment et production primaire.
- modélisation de la capacité trophique et des impacts de l'aquaculture sur l'environnement, validation sur les données acquises in situ et expérimentalement et définition de scénarii de gestion.
- intégration des informations relatives aux élevages (surfaces, densités, espèces, pratiques culturales) et à l'environnnement (descripteurs physiques et hydrobiologiques) dans un SIG.

3. Partenaires

Coordination : IFREMER

Partenaires Chinois : FIRST INSTITUTE OF OCEANOGRAPHY,
YELLOW SEA FISHERIES RES. INSTITUTE,
SHANDONG MARICULTURE INSTITUTE,
SECOND INSTITUTE OF OCEANOGRAPHY

Partenaires Européens :
PLYMOUTH MARINE LABORATORY (Angleterre),
INSTITUTO DO MAR (Portugal)

Partenaire associé :
DALHOUSIE UNIVERSITY (Canada)

Filtration biologique des effluents de pisciculture marine intensive basée à terre par l'huître creuse *Crassostrea gigas* : aspects physiologie de la nutrition et modélisation.

Sébastien Lefebvre [1] *et Laurent Barillé* [2]

[1] Centre de recherche en écologie marine et aquaculture (CNRS-Ifremer), B.P. 5, 17137 L'Houmeau

[2] Faculté des sciences, Laboratoire de biologie marine, 2 rue de la Houssinière, 44072 Nantes Cedex 03.

Cette étude rentre dans le cadre d'une recherche développée depuis trois ans au CREMA l'Houmeau concernant le traitement biologique des effluents de pisciculture marine intensive (bars) basée à terre. L'épuration des formes dissoutes est assurée par le contrôle de cultures continues de diatomées *(Skeletonema costatum)*. La filtration des huîtres est utilisée dans deux buts qui sont la valorisation économique et/ou la réduction de l'impact environnemental de la matière organique produite par l'élevage de poissons (nourriture non consommée et fèces) et par le système de traitement (phytoplancton). L'objectif de ce travail est d'évaluer le comportement nutritionnel de *Crassostrea gigas* vis à vis de ces deux sources de matière organique. En particulier, nous avons étudié les processus de sélection pré-ingestive ainsi que l'efficacité d'absorption. Ces résultats sont ensuite intégrés dans un modèle éco-physiologique modifié et adapté au concept de traitement biologique. Les simulations du modèle nous permettent d'envisager la gestion des biomasses d'huître dans ce type de système.

Les expériences de physiologie de la nutrition sont réalisées en laboratoire (20°C) entre les mois de mai et juillet 1998 et selon la méthode des biodépots décrite par Iglésias *et al.* (1998). Les fonctions sont déterminées pour les deux sources organiques séparées puis mélangées. Le modèle éco-physiologique est emprunté à Barillé *et al.* (1997). L'effet de différentes charges en biomasse d'huîtres est testé sur l'absorption, la croissance, l'épuration de la matière organique particulaire ainsi que la quantité de biodépots produits.

Les principaux résultats montrent que l'efficacité d'absorption du matériel détritique d'origine poisson est de 56%. Celle-ci est significativement inférieure à celle du phytoplancton 70% mais est tout de même élevée. Les fèces de poisson ont potentiellement une valeur énergétique plus élevée (15 J/mg) qu'un matériel détritique de type estuarien (5 J/mg) dû a son fort taux de protéine (35%). En condition de mélange des deux sources organiques, la matière organique phytoplanctonique est préférentiellement ingérée au détriment de la matière organique des fèces. Les taux de filtration moyens sur des périodes de 8 h de mesures se situent entre 1.5 et 2.5 l/g/h correspondant à des consommations totales de 30 à 40 mg/g/h à 45% de matière organique en conditions de mélange.

L'épuration de la matière organique particulaire est une fonction de la biomasse en huître ainsi que de leur filtration. Les simulations du modèle montrent qu'une politique d'épuration maximale correspond à une prise de risque importante quant à la survie des huîtres. En effet, dans un souci d'épuration et ou de valorisation, la recherche d'une absorption maximale des sous-produits poisson équivaut à des charges importantes d'huîtres et à des concentrations de matière en suspension faibles dans le milieu (<5mg/L). Ceci correspond à des croissances individuelles faibles, et un ratio absorption/biodépots supérieur ou égal à 1. Le transfert de l'azote des sous-produits du poisson vers les huîtres ainsi que la gestion du système seront également discutés.

Barillé, L.,Héral, M. et Barillé-Boyer , A.L, 1997. Modélisation de l'écophysiologie de l'huître Crassostrea gigas dans un environnement estuarien. Aquat. Living Resour., 10, 31-48.

Iglesias, J.I.P., Urrutia, M.B., Navarro, E. et Ibarrola, I., 1998. Measuring feeding and absoption in suspension-feeding bivalves : an appraisal of the biodeposition method. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 219: 71-86.

Note de synthèse portant sur les travaux de l'IFREMER réalisés depuis 1990 en Baie des Veys en relation avec les mortalités de coquillages

Joël Kopp et M. Ropert

La première étude importante qui ait été réalisée par l'IFREMER sur la conchyliculture en Baie des Veys a été publiée en 1991. Elle mettait en évidence les risques d'ensablement des parcs et contenait une cartographie de la variabilité spatiale de la mortalité des huîtres.

Dès le début du mois d'août 1997, des mortalités anormales de moules puis d'huîtres ont été signalées en Baie des Veys par les professionnels. Des comptages et une cartographie de ces mortalités ont été immédiatement réalisés. Le taux variaient de 9,63 à 23,22 % en ce qui concerne les huîtres et de 9,81 à 39,21 % pour les moules. Les cartographies réalisées mettaient en évidence le fait que les mortalités ostréicoles étaient spatialement corrélées avec ce qui avait été constaté en 1990 et que les mortalités de moules semblaient liées à la proximité du chenal d'Isigny.La seule hypothèse possible pour expliquer ce phénomène estival reposait sur la possible désoxygénation de l'eau provoquée par :

- des apports de matière organique (rejets accidentels et massifs de la laiterie UCL),
- des températures d'eau élevées (prés de 22 ° dans la masse d'eau, début août),
- une météorologie calme.

Contrairement à ce qui a été constaté en 1997, les mortalités durant l'été 1998 ont été faibles et diffuses. Par contre, depuis l'automne, ces mortalités ont fortement augmenté. Au mois de février 1999 elles ont atteint 25 à 30 %.

Les données hydrologiques montrent qu'en marée de vive-eau, à la fin du jusant mais surtout au début du flot, les coquillages baignent dans une eau fortement dessalée. La salinité peut ainsi passer de 5 ‰ à une valeur «normale» de 32 ‰ en moins d'une heure. Les mollusques subissent donc un stress salin important d'une durée d'environ une heure.

Parallèlement, la localisation et le déroulement de ces mortalités récentes sont en cours d'étude grâce à des comptages sur parc et à une enquête épidémiologique auprès des professionnels.

Un des problèmes majeurs rencontrés sur la zone conchylicole de la Baie des Veys réside dans l'accélération des processus de sédimentation et d'engraissement des fonds observé depuis quelques années.

Sans disposer à ce jour de preuves formelles, on peut penser que l'envasement des parcs et le relèvement périodique des tables qu'il implique, ont conduit les coquillages à demeurer de plus en plus longtemps dans la strate hydrologique de surface dessalée et souvent désoxygénée en milieu estuarien, voire même en dehors de l'eau.

Pour porter remède à cette situation, une solution envisageable consiste à faire glisser l'ensemble de la partie occidentale des parcs vers le large, c'est à dire sur la moulière de Guinehaut. Il est important de noter que cette proposition ne doit pas occulter les questions qui restent en suspens concernant la qualité des eaux douces et marines et qui constituent l'inquiétude majeure des conchyliculteurs. Les suivis de la qualité des eaux douces restent indispensables mais ne sont pas du ressort de l'IFREMER.

Quant à la qualité des eaux marines, des recherches ciblées ne sont pas programmables par la DEL tant que les éventuels polluants d'origine terrigène n'auront pas été identifiés par les services départementaux responsables.

Le régime alimentaire de la nacre (*Pinctada margaritifera*). Etude par l'analyse des pigments photosynthétiques du phytoplancton de l'atoll de Takapoto (Polynésie française).

Loret P.[1] *et Pastoureaud A.*[2]

[1]. EPHE, URA-CNRS 1453, Univ. de Perpignan, F-66860 Perpignan cédex, et CRIOBE, BP1013 Moorea, Polynésie Française.
[2]. IFREMER-CNRS, CREMA-L'Houmeau, BP 5, F-17137 L'Houmeau.

Cette étude s'intègre dans le cadre de la deuxième phase du Programme Général de Recherche sur la Nacre (PGRN) dont le principal objectif est de déterminer la capacité trophique des atolls de Polynésie vis-à-vis de l'huître perlière *Pinctada margaritifera*. L'un des objectifs majeurs de notre travail est de caractériser le régime alimentaire et les capacités de sélection de la nacre dans son milieu naturel.

Les résultats présentés concernent le matériel particulaire autotrophe, étudié par l'analyse des pigments photosynthétiques en HPLC (Chromatographie Liquide Haute Performance). Les cellules autotrophes contiennent, outre la chlorophylle *a*, plusieurs pigments dits accessoires (chlorophylles et caroténoides) qui peuvent être spécifiques d'un ou plusieurs groupes d'algues. Cette méthode permet d'identifier et de quantifier les différents groupes d'une communauté phytoplanctonique.

Le principe de l'étude repose sur la comparaison entre la composition pigmentaire du matériel particulaire de l'eau du lagon et celle du contenu du tube digestif de la nacre. Les expérimentations ont été réalisées *in situ* en avril 1997. L'eau a été échantillonnée toutes les 3 heures à proximité des nacres pendant 24 heures et 3 stations ont été étudiées. Le contenu digestif de 4 nacres a été prélevé toutes les 6h. Lors de la dissection, les parties proximales (entre bouche et oesophage) et distales (intestin) ont été prélevées séparément. Afin de comparer les 2 types de prélèvements (eau et contenu stomacal), la quantité de chaque pigment est exprimée en pourcentage de la quantité totale de pigments marqueurs.

Cinq groupes d'algues sont identifiés par 6 marqueurs pigmentaires dans le lagon de Takapoto en avril 97. Les Cyanobactéries (zéaxanthine), les Chlorophytes ou flagellés « verts » (chlorophylle *b*, lutéine), les Prymnésiophytes (19'hexanoyloxyfucoxanthine), dont les plus connues sont les coccolithophorides, les Cryptophytes (alloxanthine) et les Dinoflagellés (péridinine). L'importance relative de ces groupes est différente aux 3 stations échantillonnées. Les cyanobactéries sont dominantes à l'une des stations alors que les flagellés appartenant aux groupes des Prymnésiophytes et des Chlorophytes sont plus abondants aux deux autres stations.

Dans les tubes digestifs des nacres, 3 groupes sont dominants: les Cryptophytes (surtout concentrés dans la partie proximale), les Prymnésiophytes et les flagellés verts. Ces deux derniers groupes sont assez bien représentés dans l'eau du lagon ce qui explique cette abondance. Par contre, les Cryptophytes sont peu abondantes dans l'eau et donc paraissent particulièrement bien retenues et ingérées. Ce groupe joue probablement un rôle dans l'alimentation de la nacre plus important que leur abondance relative dans le milieu pouvait le laisser supposer. Les résultats confirment une faible rétention des Cyanobactéries.

La composition pigmentaire de la partie distale du tube digestif, suggère qu'une partie des algues ingérées ne sont pas digérées. Cette hypothèse est renforcée par l'observation au microscope de Chlorophytes vivantes dans les fèces de nacres. Ce phénomène, s'il n'est pas limité dans le temps, pourrait avoir une importance dans l'évolution des populations algales du lagon.

Ecophysiologie de l'huître perlière, *Pinctada margaritifera* : bilan des expérimentations réalisées de 1996 à 1998.

S. Pouvreau[1,2], S. Robert[3], G. Jonquières[1], J. Tiapari[1], X. Caisey[1], A. Bennett[1], H. Teissier[1], D. Buestel[4], A. Bodoy[1].

[1]IFREMER COP [2]CREMA-L'HOUMEAU [3]IFREMER-RONCE [4]IFREMER-PALAVAS

L'huître perlière vit naturellement sur le fond des lagons d'atoll de Polynésie Française. Depuis une vingtaine d'année, elle y est aussi cultivée sur filière pour la perle noire qu'elle produit. Or, dans ces milieux oligotrophes, la matière particulaire en suspension, nourriture potentielle des élevages, est faiblement concentrée (< 1.5 mg l^{-1}) et se compose principalement de très petites particules (picoplancton, <2 µm). Afin d'expliquer les performances de croissance réalisées par l'huître perlière dans ces milieux apparemment pauvres et peu favorables, différentes fonctions physiologiques (*i.e.* de l'acquisition de la nourriture à son utilisation par l'organisme) ont été étudiées en laboratoire et confirmées *in situ* dans le lagon de Takapoto.

(1) L'efficacité de rétention (**RE**, %) est indépendante du poids l'huître perlière (**W**, g) et varie en fonction de la taille des particules (**Sz**, µm) de 15 % pour des particules de 1 µm (cyanobactérie, *Aphanocapsa* sp.) à 98 % pour des particules de 5 µm (micro-algues, *Chaetocerocs gracilis* et Tahitian *Isochrysis* aff. *galbana*), selon l'équation logistique :

$$RE = 100/(1+52.16x0.137^{Sz}) \qquad n=16 ; R^2=0.86 ; P<0.05$$

L'huître perlière semble donc peu adaptée à retenir les pico-particules pourtant abondantes dans le milieu. D'un point de vue anatomique, cette conclusion a été confirmée par l'observation microscopique des filaments branchiaux. Ceux-ci ont montré l'absence de cirres latéro-frontaux développés, connus pour favoriser la rétention des pico-particules chez les bivalves.

(2) Le taux de filtration (**CR**, l h^{-1}) a été mesuré tout d'abord en laboratoire en utilisant les méthodes classiques d'éclaircissement d'un milieu pour deux types de systèmes différents (*i.e.* fermés et ouverts). Les deux méthodes aboutissent au même résultat : la filtration dépend du poids de l'huître perlière (**W**, g) selon l'équation allométrique :

$$CR= 25.88\ W^{0.57} \qquad n=43 ; R^2=0.91 ; P<0.05$$

Le coefficient *a* de proportionnalité de cette équation, 25.88 l h^{-1}, est le plus fort jamais publié dans la littérature concernant les bivalves. Une explication à de telles capacités de filtration réside dans un large développement du système branchiale par rapport au reste de l'organisme, démontré par biométrie. Ce très fort taux de filtration a aussi été confirmé *in situ* en utilisant une méthode différente (*i.e.* méthode des biodépôts) au cours de trois missions réalisées à différentes saisons (juin 1996, mars et novembre 1997) dans le lagon de Takapoto. Au cours de chacune des missions, les suivis de la matière particulaire totale (**TPM**, mg l^{-1}), de la matière particulaire inorganique (**PIM**, mg l^{-1}) et de la matière organique particulaire (**POM**, mg l^{-1}) ont montré : (1) une forte corrélation avec les conditions météorologiques locales ; (2) une influence significative sur les fonctions physiologiques. Un nouveau modèle plus complet (incluant le modèle précédent) a été proposé pour le taux de filtration *in situ*:

$$CR= 26.96\ PIM^{-0.42}\ POM^{0.96}\ W^{0.61} \qquad n=196 ; R^2=0.75 ; P<0.05$$

(3) Dans la même série d'expériences, la biodéposition a été mesurée et a montré de fortes variations en fonction de W, PIM et POM. La production de pseudofèces (**PF**, mg h^{-1}) commence pour de très faibles valeurs de charge en PIM et POM, les seuils de productions respectifs étant de 0.17 mg l^{-1} et 0.28 mg l^{-1}, et varie selon l'équation générale :

$$PF = 32.60\ (POM-0.28)\ (PIM-0.17)\ W^{0.77} \quad n=196 ; R^2=0.75 ; P<0.05$$

Chez la plupart des bivalves, les pseudofèces sont généralement observés pour des valeurs de seston (PIM et POM) beaucoup plus fortes. Les pseudofèces récoltés ont aussi montrés qu'ils étaient principalement constitués de matière minéral (plus de 80 % en poids), ce qui implique que l'huître perlière possède la capacité de trier les particules riches en minéral des particules riches en organique, afin d'améliorer la qualité de la fraction ingérée. La production de fèces (**F**, mg h^{-1}) varie, quant à elle, en fonction de TPM et de W, selon l'équation :

$$F= 20.00\ W^{0.49}(1-e^{-0.66xTPM}) \qquad n=196 ; R^2=0.66 ; P<0.05$$

(4) Enfin, la respiration (**R**, mg d'O_2 h^{-1}) et l'excrétion ammoniacale (**U**, µmol $NH_{3,4}$ h^{-1}) ont aussi été mesurées. Si l'étude de l'excrétion a été réalisée uniquement en laboratoire, l'étude de la respiration a été menée *in situ* au cours de l'hiver austral (T_{eau} =27.5 °C) mais aussi au cours de l'été austral (T_{eau} =30.3 °C). Ces deux fonctions physiologiques varient de façon allométrique avec le poids sec de chair (W, g) selon les équations suivantes :

$$R = 0.84\ W^{0.72} \qquad n=113 ; R^2=0.87 ; P<0.05$$

$$U = 1.64\ W^{0.78} \qquad n=32 ; R^2=0.84 ; P<0.05$$

Ainsi, l'étude des fonctions physiologiques a permis de mettre en évidence une adaptation exemplaire de l'huître perlière à la pauvreté ambiante du milieu : les capacités de filtration de *Pinctada margaritifera* sont décuplées par rapport aux autres bivalves couramment étudiés dans la littérature, à tel point qu'elles apportent une nourriture suffisante à l'huître perlière, malgré sa faible efficacité à retenir les pico-particules. Cette stratégie trophique doit être à la base des performances de croissance chez ce bivalve non symbiotique, vivant dans des eaux pauvres. Cette hypothèse sera vérifiée par un modèle déterministe de croissance permettant d'intégrer de façon quantitative l'ensemble de ces processus physiologiques.

Modèle écophysiologique expliquant la croissance et la reproduction de l'huître perlière, *Pinctada margaritif*era, au sein du réseau planctonique du lagon de l'atoll de Takapoto (Polynésie Française).

S. Pouvreau[1,2], *C. Bacher*[2], *M. Héral*[2].

[1]IFREMER COP [2]CREMA-L'HOUMEAU

En reprenant l'ensemble des résultats obtenus sur l'écophysiologie et le milieu de vie de l'huître perlière, un modèle déterministe a été construit afin de simuler la croissance, la reproduction et la ponte d'huîtres perlières en élevage dans les conditions lagonaires de Takapoto. Ce modèle est basé sur le concept du bilan énergétique et les équations physiologiques précédemment estimées. L'unité de base est le carbone. Les fonctions d'entrée du modèle sont : le taux de filtration (CR, l h^{-1}), l'efficacité de rétention (RE_i, %) pour chaque type de particules du réseau trophique, les productions de pseudofèces et fèces (PF & F, mgC h^{-1}), l'excrétion U (mgC h^{-1}), et la respiration R (mgC h^{-1}). Le carbone assimilé (*i.e.* SFG, mgC h^{-1}) est ensuite partitionné dans chaque variable d'état : tissu somatique, coquille et gonade. La partition du SFG dépend entre autre de l'effort de reproduction ER (%) augmentant avec l'âge. Le forçage du modèle est réalisé à partir de la matière en suspension autour des élevages (PIM et POM, mg l^{-1}) et de la composition taxinomique de POM en faisant l'hypothèse d'un réseau trophique à l'équilibre. Compilé sous le logiciel STELLA, ce modèle prédit l'évolution annuelle du poids total de la chair (W_{Tissue}, g poids sec), de la coquille (W_{Shell}, g Ps) et de la gonade (W_{Gonad}, gPs) d'huîtres perlières en élevage en fonction la matière en suspension environnante. Enfin, faisant l'hypothèse que le dépôt journalier de nacre se fait à la même vitesse sur la coquille que sur le nucleus de la perle, il a été inclus dans le modèle une fonction permettant de calculer le temps nécessaire pour produire une perle commercialisable.

Comparées aux observations obtenues lors du suivi de croissance-reproduction réalisé en 1997-1998 dans le lagon de Takapoto, mais aussi lors des suivis de croissance antérieurs (1990-1991), les simulations indiquent que le modèle de croissance obtenu pour *Pinctada margaritifera* fournit des prédictions réalistes conformes aux observations de terrain aussi bien pour la coquille, la chair, la gonade et la perle. Le modèle prédit aussi les dates de pontes, conformément aux observations de collectage.

Parce que les simulations du modèle sont très proches des observations de terrain, nous sommes en droit de penser que notre compréhension du fonctionnement de l'huître perlière, présentée au cours des travaux antérieurs, est satisfaisante. Ainsi l'huître perlière grandit assez rapidement dans les milieux oligotrophes des lagons en filtrant d'importantes quantités d'eau dont elle extrait la plupart des particules > 2 µm (*i.e.* micro-algues, protozoaires, détritus et micro-zooplancton). Bien que majoritaire dans le milieu lagonaire, les plus petites particules (*i.e.* bactéries, cyanobactéries, et pico-détritus) joue un rôle direct négligeable dans le régime alimentaire de l'huître perlière. Par ailleurs, l'absence d'une saisonnalité marquée dans la température de l'eau, et la disponibilité quasi-permanente de POM explique la stratégie de reproduction opportuniste et les rapides cycles de maturation (~ 1 mois) de *P. margaritifera* dans les lagons d'atoll. De légères réductions de POM pendant certains mois de l'année (*e.g.* Juillet- Août) ralentissent la maturation et retarde la ponte. A l'inverse, des légères augmentations de POM en saison chaude autorise plusieurs événement de ponte successifs. Ceci explique complètement la variabilité des collectages de naissain observés chaque année à Takapoto.

Ce modèle fournit aussi des informations utilisables pour la profession et la gestion de la perliculture :

(1) En premier lieu, il est apparu que le dépôt de nacre sur la coquille mais aussi sur le nucleus décroît avec l'âge de l'huître porteuse. Cette exploration du modèle suggère qu'il conviendrait de greffer des huîtres perlières plus jeunes. De nouvelles expérimentations sont à engager dans cette voie.

(2) Ensuite il est apparu que des scenarii de réduction de POM, même faible (20 %), pendant plusieurs mois induisent par exemple une augmentation exponentielle du temps nécessaire pour obtenir une perle commercialisable, mais aussi la disparition progressive des phénomènes de pontes. Ces phénomènes de réduction de POM peuvent par exemple survenir lors de phénomènes de déplétion locale quand les courants lagonaires sont faibles (*i.e.* <1 cm s^{-1}).

(3) Enfin, à une échelle globale, le modèle a permis de calculer le temps théorique nécessaire pour filtrer l'intégralité du lagon (CT, j). CT serait de plus de 1000 jours pour les huîtres perlières en élevage, et chuterait à moins de 10 jours en prenant en compte tous les bivalves compétiteurs recensés dans le lagon. Ce temps reste cependant encore élevé si on le compare au turn-over de la production primaire (< 1 jour).

Ainsi cet écosystème qualifié de " rapide " devrait pouvoir supporter sans incident une augmentation du stock en élevage, tant que l'on évite les concentrations de filière d'élevage, surtout dans des zones faiblement renouvelées. De futures expérimentations sur les phénomènes de déplétion localisée apparaissent cependant indispensables.

RESUMES

SYSTEMES D'ELEVAGE

Utilisation des systèmes d'information géographique dans le cadre des laboratoires côtiers. Etat des lieux au sein du département RA.

O. Le Moine, Laboratoire Conchylicole de Poitou-Charentes, BP 133, 17390 La Tremblade.

Les systèmes d'information géographique sont maintenant relativement bien développés au sein de l'IFREMER. Dans le cadre d'un laboratoire côtier, les applications qui peuvent être développées sont multiples, de niveaux et natures variées, outre la simple mise en forme cartographique de données. La possibilité de disposer d'un tel système embarqué ouvre des horizons de recherche et d'exploitation nouveaux et originaux dignes d'être explorés et exploités. Une " revue " des applications utilisées au Laboratoire Conchylicole de Poitou-Charentes est présentée, ainsi que l'état des lieux dans les autres laboratoires du département Ressources Aquacoles.

Applications développées à La Tremblade :

Etudes de zones d'élevage : celles-ci comprennent aussi bien les recherches de nouvelles zones d'élevage (e.g. zones de culture en eau profonde), comme les restructurations de bancs ostréicoles, ou zonages dépendants du schéma des structures. Le système embarqué autorise alors la vérification locale de la bathymétrie, et le positionnement exact des différents échantillons sédimentaires prélevés dans le cas des études de zones en eau profonde.

Etablissement de stratégies d'échantillonnage spatial, qui peut se faire dans les trois dimensions, dès lors que l'on suppose une influence de la géographie sur les données biologiques à expliquer (e.g. suivi des mortalités estivales du banc de Ronce).

Application spatiale de modèles biologiques, qui résultent de l'analyse des données acquises selon les stratégies précédentes. Des modèles de production de chair, ou de coquille d'huîtres, peuvent alors être appliqués sur la zone d'échantillonnage. Dans un second temps, une validation du modèle peut également être faite, toujours par couplage des données acquises au SIG.

Analyses des stocks en élevage, pour ce qui est de l'analyse des stocks d'huîtres en élevage surélevé, l'analyse du taux d'occupation peut être automatisé. Les modules existants d'analyse d'image spatialisée d'orthophotos couplés au SIG existent et le permettent. Dans un second temps, les interpolations spatiales de ces taux d'occupation paraissent le moyen d' analyse le plus fin de leur évolution d'une campagne à l'autre. Cela permet d'autre part de vérifier la conformité des données cadastrales papier avec le terrain.

Spatialisation de données environnementales, par couplage de sondes d'acquisition multiparamétriques (température, pH, salinité, NTU, fluorimétrie...) avec le SIG embarqué. Cette application a été mise au point pour localiser des zones " atypiques " du point de vue physico-chimique, et devrait également nous aider à estimer la capacité trophique à l'échelle d'un banc ostréicole (consommation fonction de l'hydrodynamique).

Au sein du département Recherche Aquacole, l'utilisation des systèmes d'information géographique s'est peu développée, et souvent limitée aux laboratoires thématiques (e.g. visualisation des simulations de modèles, REPAMO). Le laboratoire de La Tremblade a bénéficié d'une certaine avance grâce aux bases de données acquises précédemment par le groupe sillage. Des bases de données sont maintenant acquises au niveau national par l'IFREMER, et disponibles pour les laboratoires qui le désirent. Il apparaît également un besoin de formation à l'utilisation des logiciels, et dans certains cas de matériel supplémentaire.

Développement de cultures d'huîtres en eaux profondes dans les Pertuis Charentais : étude technico – économique

P. Goulletquer[1], *E. Perrin*[1,2], *O. Le Moine*[1]

[1] IFREMER L.C.P.C., Ronce Les Bains, B.P. 133, 17390 La Tremblade
[2] INA Paris Grignon, 75231 Paris Cedex 05.

Le projet d'expérimentation de cultures d'huîtres en eaux profondes dans les Pertuis charentais provient d'une demande professionnelle qui remonte au début des années 1990 suite à la baisse des rendements en milieu intertidal. Les rapports régionaux IFREMER ont confirmé l'intérêt de ce projet dans un contexte d'aménagement général des cultures marines dans les Pertuis, et d'une meilleure gestion spatiale des élevages. Une première étude en 1994 a permis de déterminer les secteurs potentiels d'expérimentation (LEC, 1993; Sillage, 1994). Ces sites ont fait l'objet d'une vérification in-situ de la nature des sols en 1996 et 1997 (Le Moine et al., 1996, 1997). Du fait de conflits d'usage, les demandes répétées des deux sections régionales d'une concession expérimentale en cogestion n'ont, à ce jour, pas abouti malgré un dossier conforme au cahier des charges défini par la Commission des Cultures Marines de La Rochelle (1997). Un deuxième site a été identifié afin de limiter le conflit d'usage suscité par la première sélection. L'objectif principal du projet consiste à diminuer les coûts de production à l'élevage par l'utilisation de cette technique extensive, avec en contrepartie une diminution des surfaces en élevage en milieu intertidal, et le tout à production totale constante. Un tel développement consisterait à une meilleure gestion spatiale des élevages actuels. Si la technique est utilisée dans d'autres régions française de production, elle représente une nouveauté sur le plan régional.

Le programme de recherches est subdivisé en 3 actions concernant 1) la faisabilité in-situ des élevages et leur optimisation, 2) une étude technico-économique afin d'établir les contraintes de développement d'entreprises et leurs modes de gestion et 3), une étude socio-économique visant à étudier les impacts sur les professions existantes ainsi que sur les différents secteurs économiques de la zone concernée.

En absence d'expérimentations sur le terrain, l'étude technico-économique a été développée en 1998 afin d'aboutir à un modèle économique et des simulations de projets, et ceci en coopération avec le Services d'Economie Maritime de l'IFREMER, les Centres de gestion et les Sections Régionales de la Conchyliculture directement concernées. Dans un premier temps, l'étude a été réalisée à partir de collectes d'informations sur les techniques, les résultats zootechniques et économiques d'entreprises conchylicoles de la Baie de Quiberon. Ces informations ainsi que des résultats complémentaires obtenus sur la Charente-Maritime avec l'aide de Centres de gestion ont permis la conception de l'outil d'analyse développé sur un tableur informatiuque. Cet outil informatisé convivial est aisément adaptable afin de permettre l'incorporation des résultats zootechniques qui seront ultérieurement obtenus par l'expérimentation sur le terrain. L'outil de simulation permet de calculer les résultats financiers de l'entreprise ainsi que les critères de rentabilité (e.g., coût de production, ratio de rentabilité) à partir d'hypothèses zootechniques (e.g., durée du cycle d'élevage, taux de croissance et de survie) et techniques (e.g., dimensionnement du matériel). L'analyse démontre une rentabilité très satisfaisante de l'activité associée à des coûts de production moins élevés que ceux obtenus sur le Bassin de Marennes-Oléron. Ces bons résultats sont conditionnés par la validation des hypothèses choisies via l'expérimentation in-situ. En effet, l'analyse de sensibilité fait apparaître un lien étroit entre la qualité des paramètres zootechniques et la rentabilité de cette nouvelle technique.

Inventaire des zones d'aptitude aquacole du littoral français
Méthode et résultats pour l'atlas relatif à la conchyliculture

Coordonné par J. Mazurié, JL Gaignon**, G. Youenou***, R. Loarer***,*

avec la participation de l'ensemble des **laboratoires côtiers** RA et DEL (et de quelques labos RH).
* Laboratoire Conchylicole de Bretagne (DRV/RA/La Trinité-sur-mer)
** Laboratoire DRV/RA/Poissons Ifremer Brest, *** Ifremer Brest (DEL/AO)

Introduction

Cette étude répond à une demande du Ministère de l'agriculture et de la pêche, d'identification des zones potentielles de développement de l'aquaculture, dans une perspective de création d'emplois. Elle a été menée pour l'essentiel de janvier 98 à mars 99, a été coordonnée par un groupe DRV/RA (Mazurié pour la conchyliculture, Gaignon pour la pisciculture) et DEL (Youenou et Loarer), et s'est largement appuyée sur l'expertise des laboratoires cotiers RA et DEL, ainsi que du laboratoire RH/ESIH (Woerhling et Aldebert).
Elle a consisté à définir et appliquer des critères d'identification de zones conchylicoles potentielles, puis à cartographier numériquement (tracés et attributs) les zones retenues, et éditer l'ensemble sous forme d'atlas.

1- Trois conditions de développement de la conchyliculture inégalement prises en compte comme critères de de sélection de zones

a- « aptitude aquacole » de la zone : seul critère retenu pour la cartographie
« L'aptitude » d'une zone à l'aquaculture d'une espèce est le résultat de la compatibilité entre d'une part les caractéristiques environnementales de cette zone (qualités naturelles du milieu principalement, mais aussi contaminations anthropiques éventuelles) et d'autre part les exigences liées à la biologie de l'espèce (fonctions de croissance et survie), à la technique culturale (tenue des structures...), et aux souhaits de qualité du consommateur (qualité sanitaire en particulier). Il est à noter que plusieurs zones potentielles identifiées devraient venir en substitution plutôt qu'en supplément des zones existantes, dans les nombreux secteurs saturés du littoral.

b- disponibilité : des contraintes non prises en compte dans la cartographie. Dans cette étude, la prise en compte des critères d'usage dans les tracés cartographiques se révélant trop difficile, à la fois pour des raisons d'accès à l'information et de représentation, il a été décidé pour l'essentiel de les reporter uniquement dans les fiches ; seules les contraintes très fortes et jugées non négociables ont conduit à une censure dès l'étape cartographique. Pour l'essentiel, des zones aquacoles potentielles n'ont donc pas été exclues ou restreintes par des critères de défaut de disponibilité.

c- rentabilité économique : un facteur limitant essentiel peu pris en compte car dépendant à la fois de conditions macro-économiques évolutives et d'options micro-économiques des entreprises candidates.

2- Une démarche empirique d'application des critères et seuils par les laboratoires côtiers

La méthode la plus systématique pour appliquer ces critères et seuils en guise de filtre sur l'espace étudié est celle des systèmes d'information géographique. Dans le projet présenté ici, le délai imparti, l'échelle nationale et l'indisponibilité de données numérisées ont imposé une démarche essentiellement empirique, reposant sur l'expertise des laboratoires côtiers.

3- Intégration cartographique

L'Ifremer a dû faire l'acquisition de fonds de référence (scan IGN au 1/100 000 pour la conchyliculture). Les tracés manuels y ont été intégrés, puis renseignés sous Arc View. L'ensemble représente 105 zones réparties sur 40 cartes A3 au format paysage, avec les fiches descriptives de chaque zone en vis à vis.

Conclusion

Cet atlas répertorie donc les zones naturellement favorables (aptitudes aquacoles) et non pas les zones dans lesquelles le développement de l'aquaculture serait prioritaire ou même recommandé (vocation aquacole).

Situation de la filière coquille St-Jacques (extensive) en Rade de Brest

J.C. Dao

Station DRV (Ifremer Brest)

Les protistes : une ressource trophique pour l'huître *Crassostrea gigas* dans les claires ostréicoles.

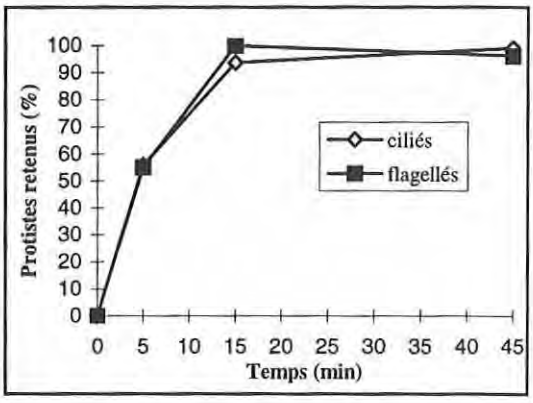
Christine Dupuy &** et Martine Bréret**

* UMR 10 CNRS/IFREMER, CREMA l'Houmeau & ** LBEM, Université de La Rochelle

L'huître *Crassostrea gigas* tire ses ressources énergétiques de l'eau de mer qu'elle filtre: elle se nourrit en captant au niveau de la branchie des particules organiques en suspension. Cependant, elle ne retient efficacement que les particules de taille supérieure à 5 µm.

Dans les claires ostréicoles charentaises, la production bactérienne est importante, alimentée par les fortes teneurs en MO. Mais du fait de leur petite taille, les bactéries échappent à la prédation par l'huître.
Les particules de taille >5 µm, retenues préférentiellement, sont représentées par plusieurs groupes planctoniques, en particulier les microalgues et les protistes. La production du phytoplancton, dont on connait l'importance dans la nutrition des bivalves, est limitée dans les bassins clos par l'épuisement rapide des nutriments.
Les protistes flagellés, dinoflagellés et ciliés, qui consomment une part importante de la production bactérienne et phytoplanctonique, sont abondants dans les claires ostréicoles. D'une taille accessible à l'huître, ils pourraient alors représenter un relai trophique expliquant la croissance paradoxale du bivalve dans un milieu pauvre en microalgues.

Des expériences de broutage sur une communauté planctonique naturelle montrent que l'huître est capable de retenir efficacement les protistes: après 15 minutes d'expérience en microcosme, 94 % des ciliés et 96 % des flagellés ont été captés. Les protistes, plus riche en carbone que le phytoplancton, représentent des microproies d'une grande valeur nutritive. Ils prolifèrent dans les eaux protégées des claires, et fournissent à l'huître jusqu'à 4 fois plus de carbone que les microalgues.



L'impact des huîtres sur les peuplements de protistes dans les claires a été étudié à trois périodes de l'année (mai-juin, septembre-octobre et novembre-décembre 1998) en comparant l'évolution sur un mois de ces communautés dans une claire sans huîtres et dans une claire avec 20 huîtres /m^2. La présence des huîtres entraîne toujours une limitation du développement des protistes, activement captés par filtration du bivalve.

Les protistes, très abondants dans les claires (jusqu'à 2,7 x 10^5 ciliés l^{-1} et 1,5 x 10^6 flagellés l^{-1} en juin 1996) et bien retenus par l'huître, constituent donc une ressource nutritive complémentaire de grande importance, en permettant la récupération indirecte de la matière organique et des bactéries sous une forme particulaire de taille accessible au filtreur.

Impact des huîtres sur les communautés planctoniques autotrophes des claires ostréicoles: suivi des signatures pigmentaires

Christine Dupuy & ** et Annie Pastoureaud**

* UMR 10 CNRS/IFREMER, CREMA l'Houmeau & ** LBEM, Université de La Rochelle

Dans le cadre d'un suivi trophodynamique du réseau microplanctonique des claires ostréicoles charentaises, l'impact des huîtres sur les communautés autotrophes a été étudié à trois périodes de l'année, en suivant sur un mois de stabulation leurs peuplements dans une claire avec 20 huîtres/m^2, comparée à une claire témoin sans huîtres.

L'évolution des communautés phytoplanctoniques a été étudiée par analyse des pigments photosynthétiques en HPLC (High Performance Liquid Chromatography). En effet, les cellules autotrophes contiennent, outre la chlorophylle *a*, plusieurs pigments dits "accessoires" (chlorophylles et caroténoides) qui sont spécifiques d'un ou plusieurs groupes d'algues. L'information taxinomique ainsi obtenue n'est pas seulement qualitative mais aussi quantitative puisque la concentration d'un pigment marqueur est liée à l'abondance du groupe d'algue qu'il caractérise.

Les 3 cycles étudiés (juin, septembre-octobre et décembre 1998) ont présenté des évolutions radicalement différentes, aboutissant pour 2 d'entre eux à des situations atypiques que l'on pourrait appeler "eaux vertes" et "huîtres rouges".

Les eaux vertes sont apparues en juin, uniquement dans le bassin avec huîtres, par suite du développement d'un picoeucaryote (1µm) présentant une signature pigmentaire de Chlorophyte; la chlorophylle *a* est passée de 2,6 à 20 µg l^{-1}. Dans le bassin témoin, la chl *a* a peu évolué pendant les 4 premières semaines (environ 5 µg l^{-1}) avec une succession de diatomées et de dinoflagellés; la chute à 1 µg l^{-1} en dernière semaine peut s'expliquer par un fort broutage des autotrophes, en relation avec une poussée massive de protistes ciliés. Dans le bassin avec huîtres, l'augmentation de la chl *a* résulte du développement exclusif de ce picoeucaryote. Ce bloom s'explique par l'absence de prédation et de compétition: les cellules sont de trop petite taille pour être retenues par l'huître, qui par ailleurs élimine les autres prédateurs potentiels (protistes) et les compétiteurs autotrophes. Il est également possible que l'excrétion des huîtres ait eu un rôle favorisant. **Ce phénomène s'est traduit par un verdissement visible de l'eau du bassin.**

Le cycle de décembre a été caractérisé par un bloom de Crytophycées qui s'est développé dans les 2 bassins: la chl *a* est passée de 0,4 à 14 µg l^{-1} dans le bassin témoin et de 0,5 à 5 µg l^{-1} dans le bassin avec les huîtres. Ce bloom semble donc lié aux conditions environnementales. L'impact des huîtres s'est traduit par une limitation du développement de ces organismes: l'augmentation de biomasse dans le bassin témoin a été régulière alors qu'elle ne s'est manifestée que faiblement et à partir de la $5^{ème}$ semaine dans le bassin à huîtres. La conséquence de la forte prédation de ces Cryptophycées par les huîtres a été constatée au moment de leur consommation! **A l'ouverture de la coquille de certaines huîtres, un pigment rouge se répandait dans l'eau de mer; une pression au niveau de la glande digestive montrait que ce pigment était rejeté au niveau de la bouche de l'huître.** Il s'agit très probablement de phycoérythine, un pigment hydrosoluble présent chez les Cryptophycées, mais que notre méthode d'analyse ne permet pas de déceler. Cette hypothèse est en cours de vérification (Lantoine), ainsi que l'identification de l'espèce responsable (Chrétienot-Dinet).

Le cycle suivi en septembre-octobre présente une évolution plus classique: une succession de diatomées et, à un moindre degré, de Cryptophycées, puis de dinoflagellés en fin de stabulation du bassin témoin. La présence d'huîtres limite le développement des dinoflagellés et semble favoriser, en début de stabulation, la croissance des Cryptophycées.

Evaluation de la modification de la norme Afnor des huîtres fines et spéciales de claires.

Robert S, Goulletquer P, Soletchnick P, Geairon P, Le Moine O, Razet D, Faury N.

Laboratoire Conchylicole de Poitou Charente, IFREMER La Tremblade 17390 Ronce Les Bains

La section régionale conchylicole de Marennes Oléron souhaite voir évoluer les normes zootechniques d'élevage AFNOR NF V 445-056 (1985) pour les huîtres fines et spéciales de claires. Plutôt qu'un conditionnement annuel fixe, 10 à 20 huîtres/m² pendant 1 à 2 mois, la profession propose une gestion saisonnière de la biomasse, avec respectivement 1 et 3 kg / m² pendant 2 semaines entre le 1er avril et le 31 octobre et 3 semaines du 1er novembre au 31 mars.

Le Laboratoire Conchylicole de Poitou-Charentes (LCPC) a engagé des expérimentations afin de répondre à la demande professionnelle et administrative pour évaluer l'effet des modifications des normes d'élevage proposées sur la qualité finale des huîtres fines et spéciales de claires.

Les expérimentations s'appuient sur les résultats obtenus depuis 1994 dans le cadre des programmes de recherches relatifs à la valorisation des claires ostréicoles. Elles consistent en deux séries d'élevages représentatifs des deux normes concernées. Trois variables ont été testées selon un plan factoriel croisé à trois modalités concernant ① la qualité des lots mis en élevage, définie par l'indice de condition AFNOR initial, ② la durée d'élevage, et ③ la biomasse par m^2. Pour tester l'effet de la " qualité initiale ", les lots diffèrents en indice AFNOR pour des classes d'âge et de taille similaires. Ils montrent de meilleures conditions zootechniques en utilisant la norme modifiée, du fait principalement de la réduction du temps d'élevage qui limite l'amaigrissement et le taux de mortalité des huîtres. L'amaigrissement des huîtres est proportionnel au temps d'élevage en claires. Même des densités plus faibles, telle que celles de la norme " spéciales de claires ", ne constituent pas un avantage significatif comparé au handicap d'une durée supérieure d'élevage en claires. L'effet de l'augmentation de la biomasse des huîtres aux cours de la seconde périodes est compensé par une durée réduite d'élevage. La qualité d'origine des produits reste prépondérante dans le résultat final d'affinage et aucun déclassement significatif de l'indice AFNOR ne résulte de l'utilisation de la nouvelle norme, avec cependant des cheptels d'indice initial élevé variant de 9 à 14. La composition biochimique des huîtres se trouve modifiée par le passage en claires ostréicoles, quelle que soit la norme d'élevage. La diminution de l'indice AFNOR se traduit par une augmentation de la teneur en protéines concomitante à une diminution de la teneur en lipides. La norme " spéciales de claires " reste la plus défavorisée au cours des deux périodes expérimentales au niveau des glucides, la nouvelle norme étant la plus favorable. Au niveau des conditions expérimentales, l'impact des cheptels et des biomasses supérieures en élevages (3kg/m²) n'a pas été critique jusqu'en mars. En particulier, l'évolution des concentrations et saturations en oxygène n'a pas présenté une condition stressante pour les animaux. Cependant, en fonction de la variabilité inter annuelle, une augmentation plus précoce de la température pourrait affaiblir les cheptels au cours du moi de mars à une biomasse de 3kg/m² compte tenu des désaturations potentielles en oxygène.

Par conséquent, à partir des paramètres caractérisant le produit, tel qu'ils sont définis dans la norme AFNOR actuelle, les durées d'élevage et de qualité initiale du produit restent déterminantes et favorisent le choix de la densité et du temps d'élevage de la proposition de nouvelle norme. Cet avantage résulte d'une durée d'affinage plus courte. Avec une durée réduite en claires, on observe au minimum une similitude dans les résultats d'indice " spéciales de claires " et " nouvelle norme ". Dans les deux expérimentations, l'évolution de la teneur en glycogène dans la chair d'huître reste plus favorable à l'adoption de la nouvelle norme.

Premiers essais de production de masse de la diatomée *Haslea ostrearia* en système ouvert sur eau de mer enrichie en période d'affinage.

V. Turpin

IFREMER – Laboratoire Conchylicole de Poitou-Charentes, Ronce Les Bains, BP 133- 17390 La Tremblade.
Université de Nantes, ISOMER, 44072 Nantes Cedex 03.

Plusieurs auteurs ont démontré la possibilité d'envisager la production de masse de diatomées, à partir d'eau de mer enrichie. Dans le but de permettre à l'ostréiculteur de favoriser l'installation et le développement du phénomène de verdissement dans ses claires, nous avons mis au point un fertilisant, composé des sels nutritifs majeurs azote, phosphore et silicates, répondant aux besoins nutritionnels de la diatomée *Haslea ostrearia*.

Une première expérimentation *in situ*, sur le marais expérimental de Mus de Loup, a été réalisée afin de tester le milieu enrichissant NPSi mis au point *in vitro* grâce au rapport d'assimilation en nutriments d'*Haslea ostrearia* suivant N:P:Si = 15.2:1:15.5. A partir de 4 concentrations initiales *d'Haslea ostrearia,* nous avons recherché les concentrations permettant d'obtenir un verdissement significatif de microcosmes de 170 litres immergés dans une claire.

Nous avons pu montrer, que pour des concentrations initiales de 1000 et 2000 cellules.ml^{-1}, après 10 jours d'incubation en conditions naturelles, les plus fortes valeurs (nombre de cellules et marennine excrétée) sont observées avec un enrichissement de l'eau de mer avec le milieu NPSi.

Ces résultats ont permis d'envisager la faisabilité de culture de la diatomée *Haslea ostrearia* sur eau de mer enrichie en volume de 500 litres, puis en grand volume de 10 m^3. Le but est d'alimenter ensuite une claire ostréicole à partir de ces cultures en grand volume pour induire le verdissement.

En octobre 1998, des cultures en bac de 500 litres, sur eau de mer enrichie et filtrée, ont été réalisées sous serre horticole. Après 7 jours, ces cultures ont été utilisées pour inoculer des liners de 10 m^3 d'eau de mer filtrée et enrichie. Le suivi journalier de la densité numérique en cellules *d'Haslea ostrearia,* ainsi que celui de la concentration en marennine dissoute excrétée ont été réalisés, permettant de constater le verdissement des liners au bout de 8 jours.

Mise au point d'un outil de traitement de l'eau salée souterraine à vocation d'élevage de mollusques et de diversification de la production phytoplanctonique

H. Palvadeau., J. Haure, M. Nourry, C. Penisson et J.P Baud

IFREMER, L.C.P.L, Polder des champs 85230 Bouin.

Depuis 1984 le L.C.P.L utilise l'eau salée souterraine à des fins de production en grands volumes de la diatomées *Skeletonema costatum.* La maîtrise des élevages de coquillage dans le domaine de la génétique mais aussi pour le contrôle de l'affinage et de l'écloserie nécessite de limiter les variations du milieu.

Suite aux travaux de recherche sur le traitement de cette eau par Aqualive, repris à grande échelle sur le poisson par France Turbot, il était opportun d'expérimenter un traitement spécifique de l'eau salée souterraine de Bouin pour les mollusques et pour la diversité des productions de microalgues.

C'est dans cette perspective qu'a été réalisé un outil de traitement expérimental. Afin d'optimiser chaque étape du traitement, un certain nombre d'expérimentation ont été réalisées, en particulier sur la partie déferrisation, ceci avec le suivi physico-chimique des paramètres suivants : pH, O_2, $N\text{-}NH_4$, $N\text{-}NO_2$, $N\text{-}NO_3$, , $P\text{-}PO_4$, $SI\text{-}SIO_3$, système carbonique (HCO_3, CO_3, CO_2), fer, manganèse.

Pour une charge hydraulique de $48m^3$/jour soit une vitesse apparente de 7m/h et un volume de support de $0,35m^3$, avec une valeur de $N\text{-}NH_4$ de 4,7mg/l à traiter (IC à 95% = 0,2) un rendement d'épuration de l'azote qui se situe à 95,2% d'épuration (IC à 95% = 2,84) est obtenu.

De plus des concentrations en fer de 4mg et de manganèse de 1,2mg/l sont épurées respectivement à 97,2% et 86,7% . Le pH proche de 7, après dégazage se stabilise à une valeur de 8.

Par ailleurs, plusieurs expérimentations sur des coquillages (*Crassostrea gigas*) et des microalgues tel que *Isochrysis galbana* ont permis de valider l'intérêt de cette eau par rapport à l'eau de mer ou l'eau de forage brute.

A court terme, sur la base des résultats obtenus à partir de cet outil, la réalisation d'un outil capable de traiter des volumes beaucoup plus importants ($720m^3$/jour) est envisagée dans une conception plus moderne puisque celui-ci sera complètement automatisé par un jeu d'électrovannes pneumatiques pilotées par un automate.

Mots clefs: Eau salée souterraine, traitements physico-chimiques, *Crassostrea gigas*, *Isochrysis affinis galbana.*

Optimisation de l'affinage contrôlé en bassin de l'huître creuse *Crassostrea gigas*

J.P. Baud, H. Palvadeau , C. Mornet, M. Nourry et J. Haure

IFREMER, L.C.P.L., Polder des champs 85230 Bouin.

L'analyse des résultats de la technique d'affinage contrôlé de l'huître creuse transférée à la profession ostréicole depuis 1991 a montré des irrégularités dans la qualité du produit final. Pour une ration alimentaire de 2 10^9 cell/animal/jour de la diatomée *Skeletonema costatum* quatre paramètres principaux de variabilité ont été identifiés :
La température, la qualité de l'huître, de l'eau de mer et le taux de renouvellement.
En février, mars 1997 durant 35 jours, 4 températures d'affinage (6,10,14 et 18°C) ont été testées.
Le meilleur affinage est obtenu à 14°C. A cette température le poids sec de chair est multiplié par 2,7 l'indice AFNOR atteint 13,4, les sucres totaux progressent d'un facteur 8 et le glycogène d'un facteur 14.
En novembre 1997, durant 35 jours, 3 états initiaux d'engraissement (6,5 ; 9 et 12, I_{AFNOR}) ont été comparés à 14°C.
L'évolution de la croissance de chair et de l'indice de condition est parallèle pour les 3 qualités avec en final une appellation spéciale pour toutes les huîtres (I_{AFNOR} =11, 13 et 17).
La pente de la concentration en glycogène est croissante en fonction de la maigreur initiale.
Aucune influence de la qualité initiale peut être montrée par rapport au niveau d'homogénéité d'engraissement final.
En novembre 1998, durant 35 jours 2 types d'eau (eau de mer et eau salée souterraine traitée) ont été comparés ainsi que 3 débits d'eau de renouvellement (0,6 ; 1,0 et 3,0 L/h/individu) par type d'eau ont été testés.
Aucune différence significative n'a été notée entre les débits de renouvellement étudiés.
Jusqu'au $30^{ème}$ jour la qualité d'affinage des huîtres creuses a été identique en fonction des deux qualités d'eaux testées. De plus aucune différence de goût de la chair n'a été mise en évidence.
En moyenne sur toute la durée de ce dernier affinage, le poids total des huîtres a progressé de 10%, le poids sec de 230%, l'indice AFNOR de 80% et la concentration en glycogène de 450%.

La faisabilité de l'affinage contrôlé de *Crassostrea gigas* sur eau salée souterraine traitée est donc dès à présent démontré. Il reste toutefois à transposer cette technique à grande échelle et à calculer les coûts de cette filière avant un transfert à la profession.

Mots clefs : *Crassostrea gigas*, affinage contrôlé, *Skeletonema costatum*, eau salée souterraine.