

Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes
Option Aquaculture, Pathologie Aquacole et Environnement.

Rapport de stage (mars-août 1997)

Grégoire KUNTZ

Etude des facteurs physiques, chimiques et biologiques potentiellement responsables de mortalités estivales de juvéniles d'huîtres creuses, *Crassostrea gigas*, en rivière d'Auray de 1995 à 1997



Numéro d'identification du rapport : DIR/SER/Typdoc/An/Num Diffusion : libre <input checked="" type="checkbox"/> restreinte <input type="checkbox"/> interdite <input type="checkbox"/> Validé par : MAZURIE Joseph Version du document : définitive		date de publication 1997 nombre de pages 26 et annexes bibliographie (Oui / Non) oui illustration(s) (Oui / Non) oui langue du rapport français
Titre et sous-titre du rapport : Etude des facteurs physiques, chimiques et biologiques potentiellement responsables de mortalités estivales de juvéniles d'huîtres creuses, <i>Crassostrea gigas</i> , en rivière d'Auray de 1995 à 1997. Titre traduit : Study of the physical, chemical and biological factors potentially responsible for summer mortalities of juvenile Pacific oysters, <i>Crassostrea gigas</i> , in Rivière d'Auray (Brittany, France) from 1995 to 1997.		
Auteur(s) principal(aux) : nom, prénom KUNTZ Grégoire	Organisme / Direction / Service, laboratoire DRV RA Laboratoire Conchylicole de Bretagne Sud IFREMER 12, av des résistants 56470 La Trinité Sur Mer	
Collaborateur(s) : nom, prénom	Organisme / Direction / Service, laboratoire	
Travaux universitaires : diplôme : vétérinaire établissement de soutenance : Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes		
discipline : aquaculture et pathologie aquacole année de soutenance : 1997		n° de contrat IFREMER
Titre du contrat de recherche :		
Organisme commanditaire : nom développé, sigle, adresse Organisme(s) réalisateur(s) : nom(s) développé(s), sigle(s), adresse(s)		
Responsable scientifique :		
Cadre de la recherche : Programme : Projet : Campagne océanographique : (nom de campagne, année, nom du navire)		
Convention : Autres (préciser) :		

Résumé :

Depuis le début des années 1990, se sont étendues sur le littoral français des mortalités estivales touchant les juvéniles de l'huître creuse, *Crassostrea gigas*. La rivière d'Auray est un secteur d'élevage conchylicole particulièrement affecté par ce phénomène.

Une enquête menée sur trois années (1995 à 1997) tente de dresser le bilan de ces mortalités et d'identifier les facteurs responsables.

Au cours de l'été 1997 différents suivis environnementaux (phytoplancton, physicochimie,...), physiologiques (croissance, maturation,...) et pathologiques (histologie,PCR,...) ont été menés afin d'avoir une approche la plus large possible des différents facteurs potentiellement impliqués lors de ces mortalités.

Abstract :**Mots-clés :**

MORTALITE/MALADIE/JUVENILE/CRASSOSTREA GIGAS/RIVIERE
D'AURAY/BRETAGNE

Keywords :**Commentaire :**

REMERCIEMENTS

A Hervé LE BRIS,
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes,
Qui a accepté de superviser ce rapport.
A lui et à Guillaume BLANC, professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes,
Pour l'excellente formation en Aquaculture, Pathologie Aquacole et Environnement qu'ils m'ont permis de suivre.

A Joseph MAZURIE,
Chef du laboratoire Ressources Aquacoles IFREMER La Trinité,
Pour avoir encadré mon stage.

A Anne-Geneviève MARTIN,
Cadre de recherche au laboratoire Ressources Aquacoles IFREMER La Trinité,
Pour avoir encadré mon stage en l'absence de Joseph MAZURIE.

A Gilbert TIGIE,
Cadre de recherche au laboratoire Ressources Aquacoles IFREMER La Trinité,
Pour ses compétences en pathologie des mollusques.

A Jean-François BOUGET, Serge CLAUDE, Yvette LE COGUIC, Aimé LANGLADE,
Cadres et techniciens au laboratoire Ressources Aquacoles IFREMER La Trinité,
Pour leur aide précieuse au laboratoire, sur l'eau, sous le crachin ou dans la vase, sans laquelle de nombreux travaux n'auraient pas pu être réalisés et pour leur sympathie.

A Toshio HIRATA,
Cadre de recherche au laboratoire Ressources Aquacoles IFREMER La Trinité,
Pour sa collaboration au laboratoire de PCR.

A Patrick CAMUS,
Cadre de recherche à la Direction de l'Environnement et de l'aménagement Littoral IFREMER La Trinité,
Pour ses compétences en environnement et son approche humoristique de la science ou scientifique de l'humour.

A Elisabeth LASALLE et Guylaine LE MOUROUX,
Secrétaires au laboratoire Ressources Aquacoles IFREMER La Trinité,
Pour leur accueil et m'avoir fait découvrir la dure réalité administrative.

A Tristan RENAULT, Anne THEBAULT,
Cadres de recherche au laboratoire Génétique, Aquaculture et Pathologie IFREMER La Tremblade,
Et Cécile LIPART,
Technicienne au SMIDAP,
Pour ma formation à la technique de PCR et l'aide apportée à la rédaction de ce rapport

Etude des facteurs physiques, chimiques et biologiques potentiellement responsables de mortalités estivales de juvéniles d'huîtres creuses, *Crassostrea gigas*, en rivière d'Auray de 1995 à 1997

INTRODUCTION	2
1. LA RIVIERE D'AURAY: UN SITE CONCHYLICOLE.....	4
1.1. DESCRIPTION GEOGRAPHIQUE.....	4
1.1.1. Topographie	4
1.1.2. Bathymétrie	4
1.1.3. Hydrographie, hydrodynamisme	4
1.1.4. Sédimentologie	6
1.2. METEOROLOGIE.....	8
1.2.1. Climat Morbihannais.....	8
1.2.2. Météorologie du Morbihan de 1995 à 1997	8
1.3. L'IMPACT DE L'HOMME	8
1.3.1. L'activité humaine.....	8
1.3.2. Points de rejets dans la rivière d'Auray.....	9
1.3.3. Contamination par des composés chimiques	11
1.4. LA CONCHYLICULTURE	11
1.5. CONCLUSION	12
2. DESCRIPTION DES PHENOMENES DE MORTALITE ESTIVALE AFFECTANT LES JUVENILES D'HUITRES CREUSES, CRASSOSTREA GIGAS, EN RIVIERE D'AURAY DE 1995 A 1997	13
2.1. OBJECTIF.....	13
2.2. METHODOLOGIE	13
2.3. RESULTATS	14
2.4. DISCUSSION.....	15
3. ETUDE DES PHENOMENES DE MORTALITE ESTIVALE AFFECTANT LES JUVENILES D'HUITRES CREUSES, CRASSOSTREA GIGAS, EN RIVIERE D'AURAY EN 1997	17
3.1. OBJECTIF.....	17
3.2. METHODOLOGIE	17
3.2.1. Paramètres physico-chimiques.....	17
3.2.2. Chlorophylle et phytoplancton.....	18
3.2.3. Suivi de lots de naissain et de "18 mois"	19
3.3. RESULTATS	20
3.3.1. Paramètres physico-chimiques.....	20
3.3.2. Chlorophylle et phéophytine	20
3.3.3. Phytoplancton.....	20
3.3.4. Suivi de lots de naissain et de "18 mois"	21
3.4. DISCUSSION.....	24
CONCLUSION.....	26

INTRODUCTION

La conchyliculture représente la forme principale de l'aquaculture française. Les espèces cultivées sont les huîtres et les moules essentiellement, auxquelles s'ajoutent les palourdes, les coques et les coquilles Saint-Jacques.

L'ostréiculture est une activité importante pour l'économie locale des zones littorales de production. Elle s'est développée après la seconde guerre mondiale grâce aux progrès zootechniques et par la mise en culture de nouveaux sites. Elle commence à faire appel à des techniques comme la production de larves et la fixation du naissain en bac.

Les huîtres, animaux filtreurs, poïkilothermes,..., sont particulièrement sensibles aux conditions du milieu d'élevage. De plus, de nombreux transferts d'animaux sont réalisés entre bassins de production. Aussi les épizooties prennent-elles très rapidement une ampleur importante.

L'huître plate, *Ostrea edulis*, a subi deux épizooties successives dues à des protozoaires. Le premier, *Marteilia refringens*, est apparu en 1969 et s'est propagé dans les années 1970 (Comps, 1970b; Grizel et al., 1974). Il est toujours présent à l'heure actuelle. Le second, *Bonamia ostreae*, probablement introduit avec du naissain de Californie en 1979 (Elston et al., 1986) est actuellement endémique dans de nombreux pays. La production française avoisine aujourd'hui 2000 tonnes/ an.

L'huître portugaise, *Crassostrea angulata*, a connu deux épisodes de mortalité dus à un Iridovirus en 1966 et 1973 qui l'ont totalement anéantie. Ce virus a peut être été introduit en même temps que l'huître creuse, *Crassostrea gigas*.

L'huître creuse, *Crassostrea gigas*, résistante à l'Iridovirus, a remplacé l'huître portugaise, *Crassostrea angulata*, en quatre ans (1971-1975), par l'importation de géniteurs de Colombie Britannique et de naissains du Japon. Ce remplacement a permis aux ostréiculteurs de poursuivre leur activité. Environ 140 000 tonnes sont produites annuellement en France.

Depuis le début des années 1990 se sont étendus des phénomènes de mortalité estivale touchant les juvéniles de un an, et des larves produites en éclosérie, de cette espèce *Crassostrea gigas*. Certaines mortalités sont associées à un virus de type herpès (Nicolas et al., 1992; Renault et al., 1994a). Ce phénomène s'est répété annuellement depuis 1993 pour atteindre son maximum en 1994 et 1995 et affecte de nombreux bassins ostréicoles.

Ces mortalités ont été moins importantes en 1996, sauf dans la rivière d'Auray où les taux de mortalité ont augmenté d'année en année pour atteindre une moyenne de 71 % (97 % maximum) parmi les 17 cas déclarés. Le secteur le plus touché de cette rivière a été celui de Bascatique.

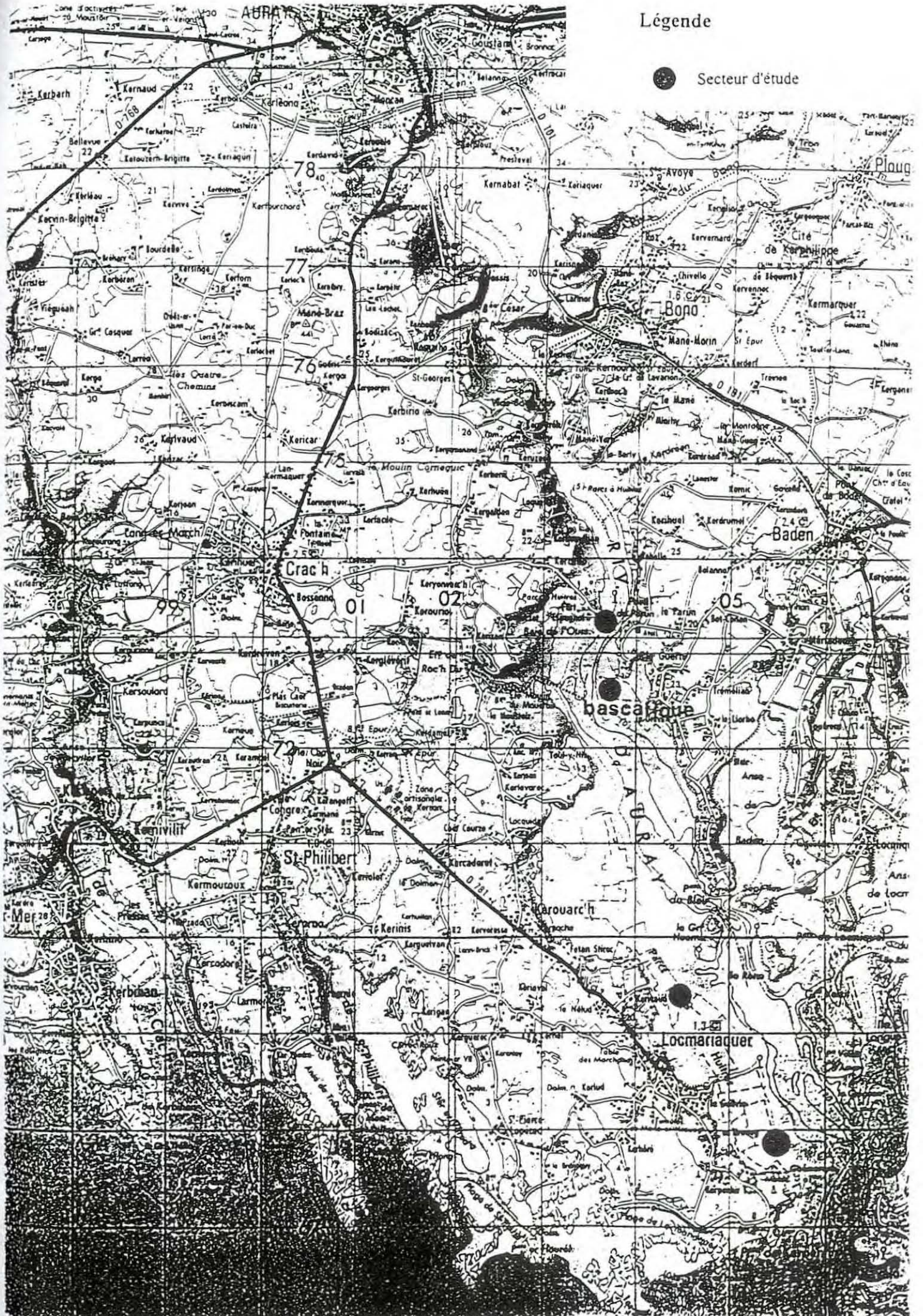
Il existe une mortalité naturelle modérée (5 à 15 %) au sein des cheptels d'huîtres qui est acceptée et prévue par les ostréiculteurs. Mais les taux atteints (50 à 100 %) lors des mortalités estivales sont difficilement acceptables comme une fatalité dans un secteur ayant jadis bonne réputation pour le naissain.

Les professionnels sont demandeurs d'une explication auprès des scientifiques et proposent également des hypothèses. Ces hypothèses sont variées (physiologie de l'huître, milieu, pollution, maladie, génétique...) et proviennent souvent des observations qu'ils ont faites sur le terrain.

L'IFREMER avec son laboratoire de pathologie des invertébrés de La Tremblade, et ses laboratoires régionaux (Port-En-Bessin, La Trinité-Sur-Mer, Bouin, La Tremblade, Palavas) tente d'apporter des explications et de trouver des parades à ces mortalités. Certains organismes de recherche (CNRS Roscoff, Université de Caen) ou structures régionales (SMIDAP des Pays de la Loire) contribuent également aux études.

L'objectif de notre étude est double: apporter une réponse aux professionnels prenant en compte l'ensemble des hypothèses et étudier le rôle du virus de type herpès et des facteurs associés dans les phénomènes de mortalité en s'appuyant sur les connaissances acquises sur ce virus au laboratoire et les données recueillies sur le terrain. Il est nécessaire de tenter de faire la part des facteurs du milieu et du virus lors des phénomènes de mortalité en rivière d'Auray où on observe un gradient positif de mortalité vers l'amont et où les cas de détection d'ADN viral sont rares jusqu'en 1997.

Une présentation de la rivière d'Auray, comme site conchylicole, fait l'objet de la première partie de cette étude. La deuxième partie se propose de quantifier les mortalités des cheptels d'huîtres au cours des périodes estivales 1995 et 1996, à partir des données existantes, et 1997. La dernière partie décrit l'étude des différents paramètres réalisée au cours de l'été 1997.



Légende

● Secteur d'étude

fig 1: Carte de la rivière d' Auray

1. La rivière d'Auray: un site conchylicole

1.1. Description géographique

1.1.1. Topographie

La rivière d'Auray (fig 1) représente la partie occidentale du Golfe du Morbihan situé sur la côte Sud bretonne. La signification bretonne de Morbihan, la petite mer, laisse présager du caractère de cet estuaire. La rivière d'Auray est en effet relativement isolée de l'Océan Atlantique de par l'étroitesse du goulet de Port Navalo (900 m) et plus au large par les deux ceintures successives constituées par la presqu'île de Quiberon et son tombolo à l'Ouest et par l'ensemble des hauts fonds des îles (Belle-Ile, Houat et Hoëdic). La rivière d'Auray résulte de la pénétration marine dans une ancienne vallée glaciaire. La rivière du Loc'h au Nord-Ouest (bassin versant de 230 km²) et la rivière du Sal au Nord-Est (bassin versant de 94 km²) se jettent dans cet estuaire.

1.1.2. Bathymétrie

Les relevés bathymétriques montrent que la profondeur moyenne de la rivière d'Auray est de l'ordre de 5 m, sauf dans le chenal où elle peut dépasser 10 m (Bailleul, 1996).

1.1.3. Hydrographie, hydrodynamisme

Hydrographie du bassin versant de la rivière d'Auray

Les deux rivières, le Loc'h et le Sal, confluent en amont de la rivière d'Auray, ont un débit faible.

Tableau 1: descriptif des bassins versants des confluent de la rivière d'Auray

Bassins versants	Surface du bassin versant (Km ²)	Débit liquide annuel (m ³ /an)	Débit solide annuel (tonnes/an)
Loc'h (Rivière d'Auray)	230	953 580	1 006
Sal (Rivière du Bono)	94	341 140	331
Total	324	1 294 720	1 337

Les débits solides qui figurent dans ce tableau sont des estimations obtenues en multipliant les débits liquides annuels (Gaudet, 1995) par les concentrations de la matière en suspension (mesures effectuées par la DDE)

Hydrodynamisme

La circulation océanique

La situation géographique de la rivière d'Auray décrite plus haut explique l'influence très modérée de la houle et des courants océaniques.

La marée

L'onde de marée pénètre d'abord par le goulet de Port-Navalo et se propage ensuite en fonction de la topographie du Golfe du Morbihan. Il en résulte des modifications dans le marnage, l'heure de marée et dans la direction et l'intensité des courants. La marée est de plus dépendante de la direction et la force du vent ainsi que de la pression atmosphérique. Les effets de la marée remontent jusqu'au pont de Tréauray, donc assez loin dans les terres.

Le marnage maximum, de 5,5 m à l'entrée du Golfe, ne dépasse pas 3 à 4 m dans la rivière d'Auray.

Le cycle des marées subit un retard de plus en plus important en remontant la rivière, aux étales de pleine mer et de basse mer. Ces retards sont plus importants aux coefficients de marée élevés (Jusqu'à 2 h),(Marcaillou et al, 1996).

La modélisation hydrodynamique du Golfe du Morbihan (Marcos et al, 1995) permet de simuler le déplacement des masses d'eau. Les phénomènes décrits sont plus ou moins visibles en fonction du coefficient de marée.

D'après ce modèle et les observations de terrain, la renverse de basse mer a lieu en rivière d'Auray 45 mn avant celle de Port-Navalo. Il en résulte un phénomène important: de l'eau venant de l'intérieur du Golfe remonte directement en rivière d'Auray à basse mer. Et inversement, à pleine mer, une partie des eaux de la rivière s'écoule vers le Golfe.

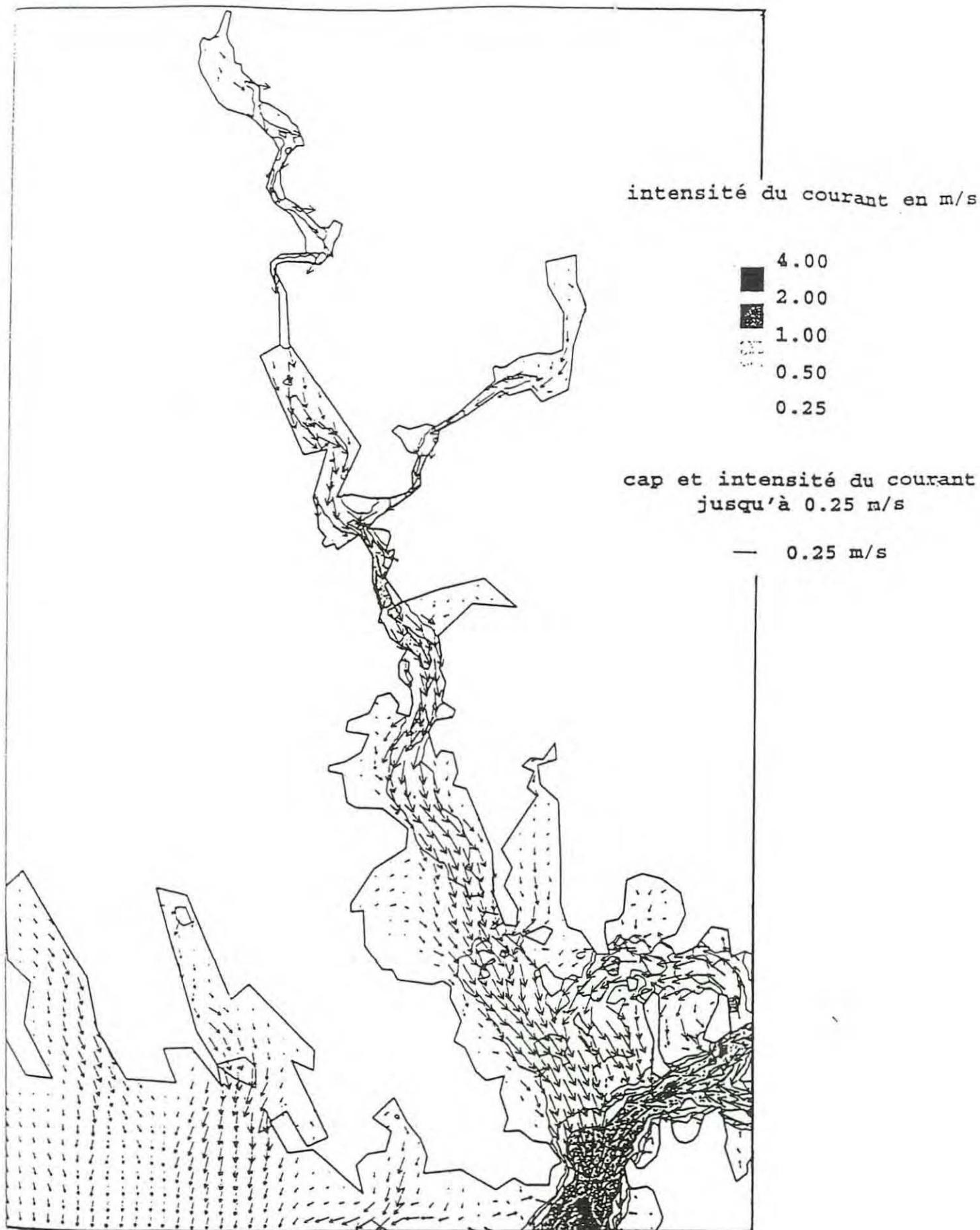
On connaît le débit de la rivière d'Auray (limité au Sud à Fort Espagnol) et celui de la marée (exemple en marée moyenne).

Tableau 2: Débits des confluent de la rivière d'Auray

	Rivière du Loc'h	Rivière du Bono
Débit d'été (m ³ /s)	0.7	0.1
Débit d'hiver (m ³ /s)	4.6	2.3

Tableau 3: débit du flux de marée en rivière d'Auray

(millions de m ³)	flux de marée en Rivière d'Auray
Volume maximal	17.5
Volume minimal	6
Volume oscillant	11.5
Volume moyen	11.75
<u>Volume oscillant</u> Volume moyen	98%



La longueur de la flèche est proportionnelle à l'intensité du courant jusqu'à 0.25 m/s, au delà se référer au grisé en arrière plan.

fig 2 : Courants en vive eau, à pleine mer + 3 h à port Navalo, en rivière d'Auray
source : Marcos et al, 1997

LÉGENDE

Argile (Ar)
($x < 0,004$ mm)

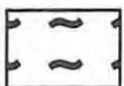


Ar > 15%

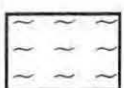


10% < Ar < 15%

Silt (Si)
($0,004 < x < 0,04$ mm)



Si > 45%



35% < Si < 45%

Sablon (Sa)
($0,04 < x < 0,15$ mm)

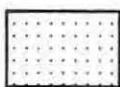


Sa > 25 %

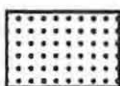
Fraction grossière
($x > 0,15$ mm)

S1 + S2 + S3 + S4 > 50%

Sable fin (S1)
(moins de 10% de gravier et moins de 30% de sable grossier)



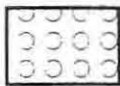
Sable grossier (S2)
(entre 10 et 20% de gravier ; ou moins de 10% de gravier et plus de 30% de sable grossier)



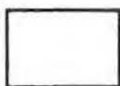
Gravier sableux (S3)
(entre 20 et 50% de gravier)



Gravier (S4)
(plus de 50% de gravier)



importance relative de S1, S2, S3 et S4 non renseignée

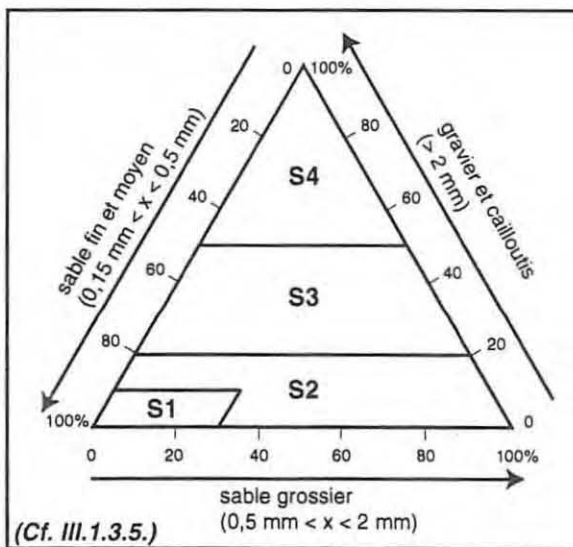


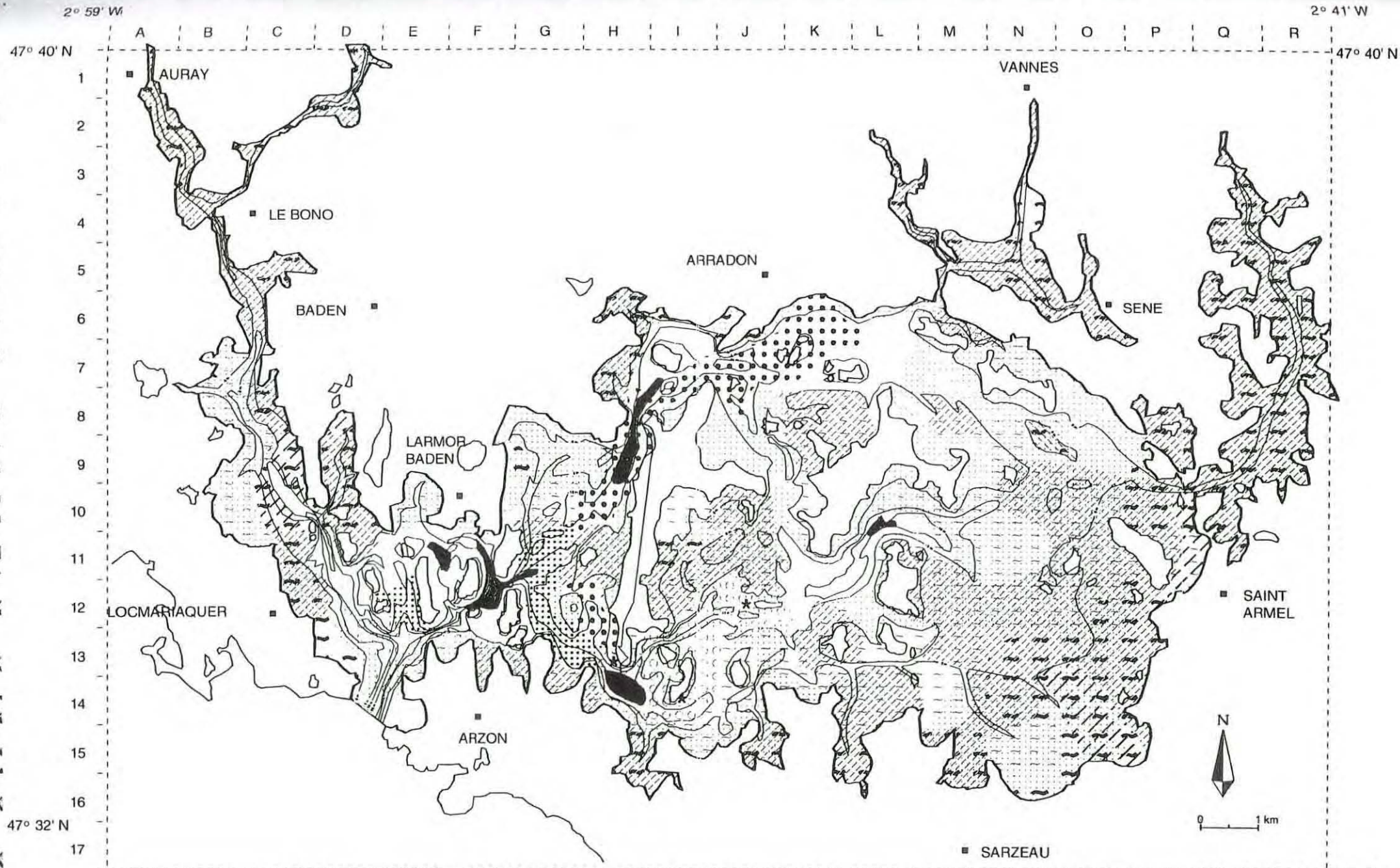
Affleurement rocheux



Présence de maërl

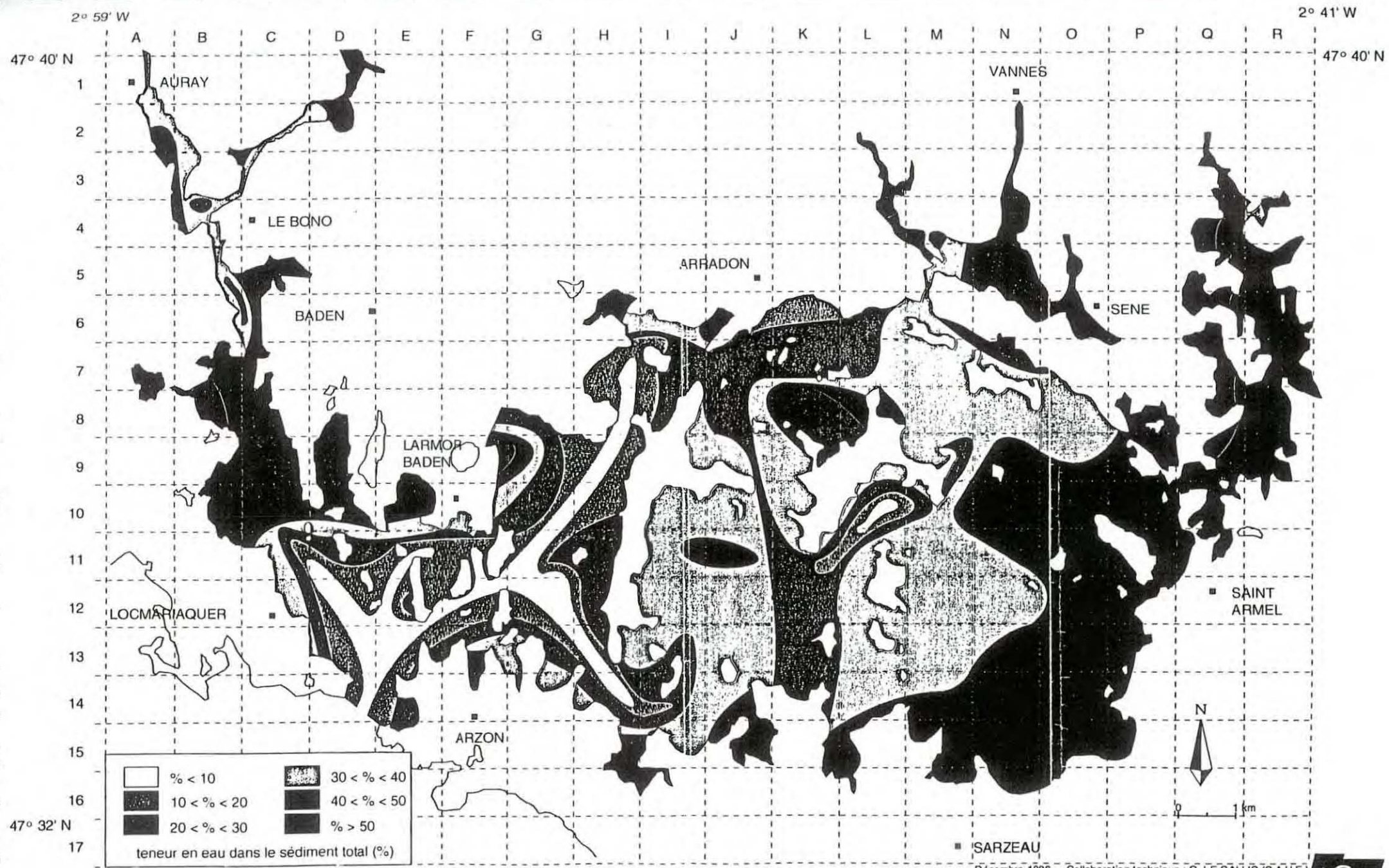
*





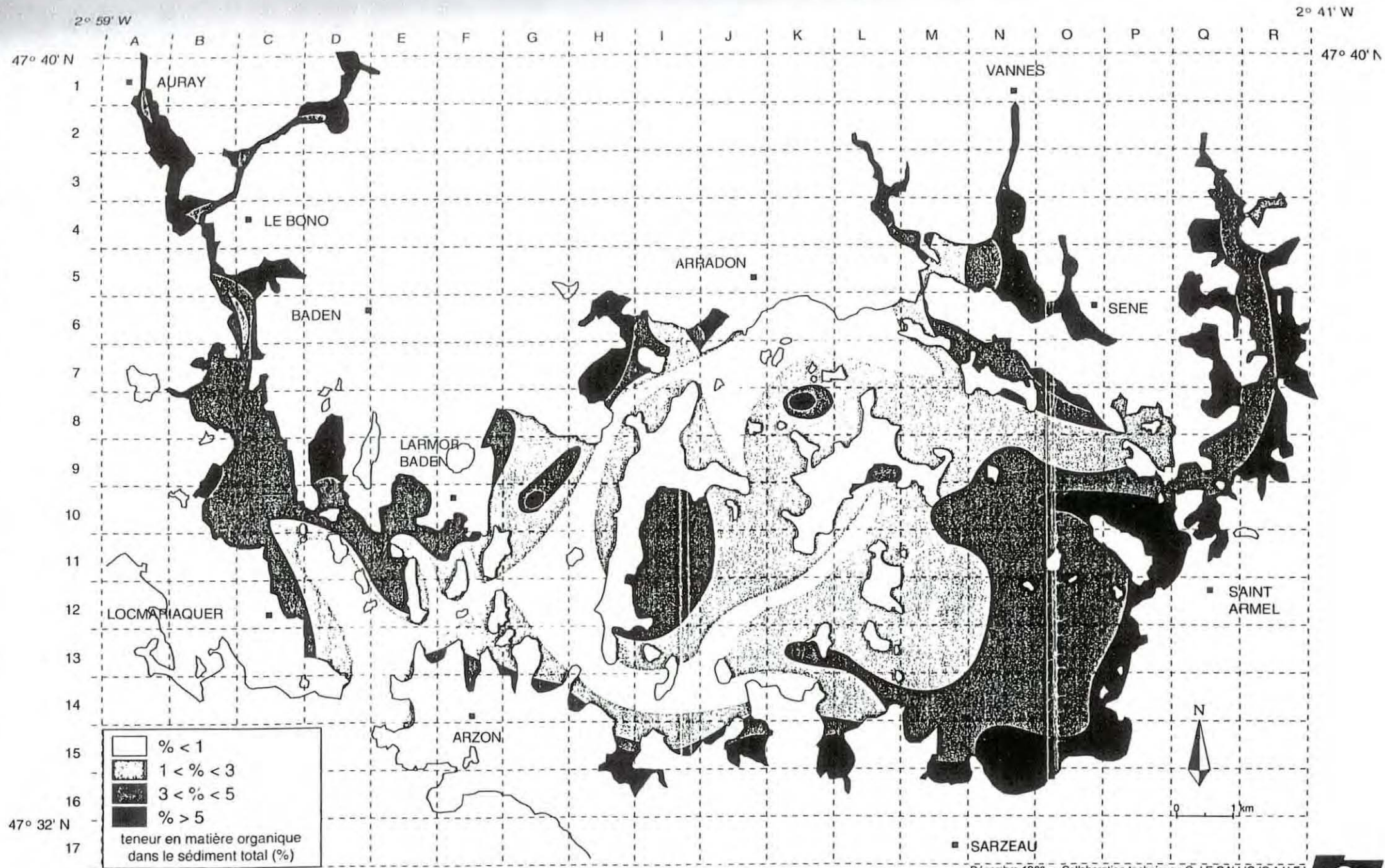
Décembre 1996 - Collaboration technique : G. LE GALLIC (C.A.U.E.)

fig 3: Cartographie des caractéristiques granulométriques des sédiments du golfe du Morbihan



2° 59' W

fig 4: Distribution de la teneur en eau dans les sédiments du Golfe du Morbihan



2° 59' W

fig 5: Distribution de la teneur en matière organique dans les sédiments du Golfe du Morbihan

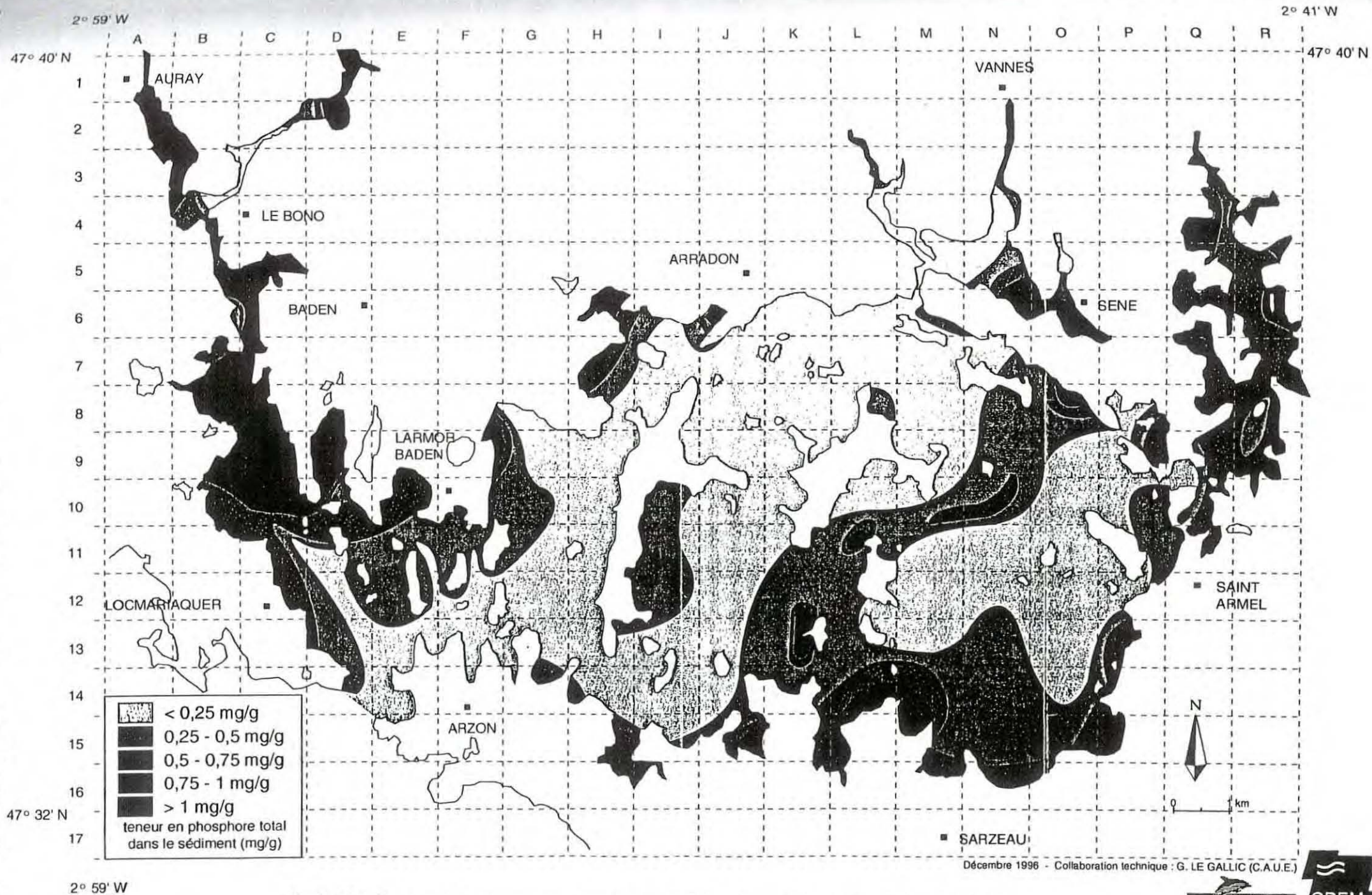


fig 6: Distribution de la teneur en phosphore total dans les sédiments du Golfe du Morbihan

On peut constater en comparant les débits des rivières du Loc'h et du Bono au flux de marée en rivière d'Auray, la faiblesse du volume d'eau douce par rapport au volume d'eau de mer et l'importance du rapport volume oscillant/volume moyen. Ce rapport est d'autant plus important que le coefficient de marée est élevé. Mais le volume oscillant peut être composé de la même eau effectuant des allers et retours.

Ainsi, pour un calcul effectué en marée moyenne, l'eau de la rivière d'Auray se renouvelle assez rapidement par mélange avec les eaux du Golfe (98% après 10 marées). Toutefois, la sortie à l'extérieur du Golfe est plus lente, ainsi le pourcentage de volume sorti est de 50% après 20 marées. Le renouvellement de l'eau de la rivière d'Auray est donc assez lent par rapport au Golfe.

Si on analyse plus finement les cartes de visualisation des points sortis du Golfe et les cartes de courant pour les trois sites étudiés en 1997 (cf partie 3) Kerpenhir, Fort Espagnol et Bascatique, on note de grandes différences dans l'hydrodynamisme.

En vive eau comme en morte eau, il suffit d'une seule marée pour que les eaux de Kerpenhir soient sorties du Golfe. De même, ce site est généralement balayé par le courant qui peut être très puissant (9 nœuds) en vive eau (fig 2). En revanche le phénomène de remontée d'eau du Golfe à la marée basse concerne ce site.

Pour les deux autres sites, Fort Espagnol et Bascatique (fig 2), situés plus en amont, il faut environ 10 marées de vive eau avant que les eaux de ces sites ne sortent du Golfe. La topographie de la rivière à cet endroit engendre par contre de grandes différences de courants entre ces deux sites. Le chenal forme une boucle à cette hauteur. Fort Espagnol, situé sur la rive Ouest, se retrouve à l'extérieur de la boucle. Bascatique, situé sur la rive Est est à l'intérieur de la courbe et isolé par une pointe. De plus, Fort Espagnol est près du chenal, tandis que Bascatique en est plus éloigné, dans une anse. Enfin, la pente du fond est plus importante à Fort Espagnol. Fort Espagnol est donc beaucoup plus exposé au courant.

Il faut noter l'importance des pratiques culturelles sur le courant. En effet un parc à plat n'opposera pas la même barrière que des tables ou même des cadres. Ce modèle mathématique apporte donc de grandes informations à l'échelle des sites d'étude. Mais la formation de courants locaux et de zones de calme à l'échelle des parcs lui échappe.

1.1.4. Sédimentologie

Les sédiments grossiers résultent de la dégradation du socle granitique vannetais. Les sédiments fins semblent provenir en partie seulement du réseau hydrologique, la majorité semblant issus de la Vilaine et de la Loire via la Baie de Quiberon.

La puissance des courants empêche les dépôts sur le fond du chenal et les façades Ouest et Sud-Ouest des îles. Sur les autres parties, les dépôts de sables fins ou de vases se font en fonction des zones de calme et de la fluctuation de la sédimentation.

Le mélange des eaux marines et douces provoque la floculation des particules fines. Ces particules s'agrègent et se déposent sur les vasières dans les zones de calme. L'estuaire est donc un milieu de dépôt privilégié et est en phase d'accrétion nette.

Les sédiments ont une composition donc très variable dans la rivière d'Auray (fig 3,4,5 et 6). Globalement, si on examine d'amont en aval, ils sont de plus en plus grossiers, de moins en moins riches en eau, en matière organique et en phosphore.

Si on examine plus particulièrement les trois sites étudiés en 1997 (cf partie 3) Kerpenhir, Fort Espagnol et Bascatique, on observe les différences données dans le tableau 4.

Tableau 4: descriptif des sédiments en trois points de la rivière d'Auray

	Kerpenhir	Fort Espagnol	Bascatique
Granulométrie	Silt > 45 %	35 % < Silt < 45 % Sablon > 25 %	Silt > 45 % 10 % < Argile < 15 %
Teneur en eau	10 à 30 %	40 à 50 %	> 50 %
Teneur en matière organique	1 à 5 %	3 à 5 %	3 à 5 %
Teneur en phosphore total	0.25 à 0.75 mg/g	0.75 à 1 mg/g	0.75 à 1 mg/g

Argile : $x < 0.004$ mm

Silt : $0.004 < x < 0.04$ mm

Sablon : $0.04 < x < 0.15$ mm

(Marcaillou et al, 1996)

Il faut cependant noter deux éléments résultant de l'activité ostréicole. D'une part, le rejet de fèces et pseudofécès conjugué avec les zones de calme créées par les tables ostréicoles génère un engorgement variable avec la charge en huîtres et l'entretien des parcs.

D'autre part, une pratique courante de la part des ostréiculteurs consiste à apporter des graviers afin de durcir les sols trop meubles. Il faut donc considérer les données précédentes comme susceptibles de variations d'un parc à l'autre, en fonction des pratiques culturales ou d'une année à l'autre.

Lors des visites sur le terrain on peut faire les constatations suivantes. A Kerpenhir, le sol est dur, plutôt sableux dans lequel on s'enfonce peu. A Fort Espagnol, le sol est assez dur avec quelques dépôts vaseux et organiques (algues vertes, ulves...) en certains points. Bascatique est une zone naturellement vaseuse, mais largement indurée au niveau de certains parcs exploités.

Globalement, ce ne sont pas des parcs très vaseux. En outre l'essentiel des élevages se font en surélévation (sauf à Locmariaquer, près de Kerpenhir, où il y a beaucoup de parcs à plat).

La nature des sédiments est importante pour l'ostréiculture :

- la granulométrie doit être suffisante pour éviter l'enfoncement ou l'enfouissement des mollusques élevés au sol. En ce qui concerne les élevages sur table, la granulométrie est moins importante : le substrat doit être dur, mais on observe couramment des dépôts fins assez abondants.

Mais le sédiment sablo-vaseux ($< 100 \mu\text{m}$) légèrement perméable, abritant une abondante microflore et autorisant une circulation des eaux interstitielles, présente les meilleures qualités biologiques et physico-chimiques pour un bon recyclage de la matière organique et la restitution de sels nutritifs à la colonne d'eau.

- Le rôle de la matière organique est double :

Par sa dégradation, grâce aux bactéries, elle fournit des formes assimilables d'azote et de phosphore en concentration nettement supérieure dans le sédiment que dans la colonne d'eau. Le gradient de concentration ainsi formé favorise la diffusion au dessus de l'interface. Cet apport est important sur la production primaire.

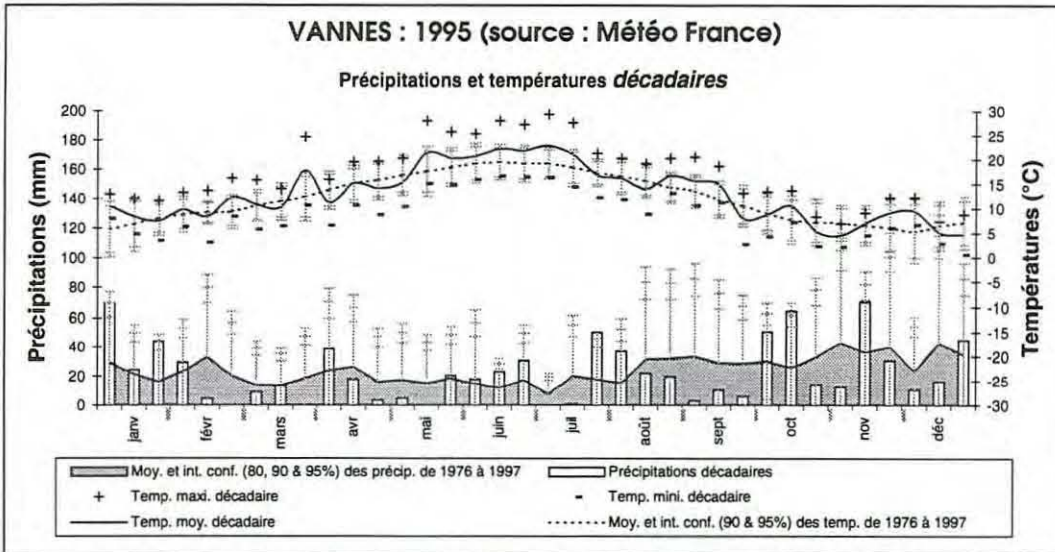


fig 7: météorologie du Morbihan en 1995 réalisation: Le Chanjour

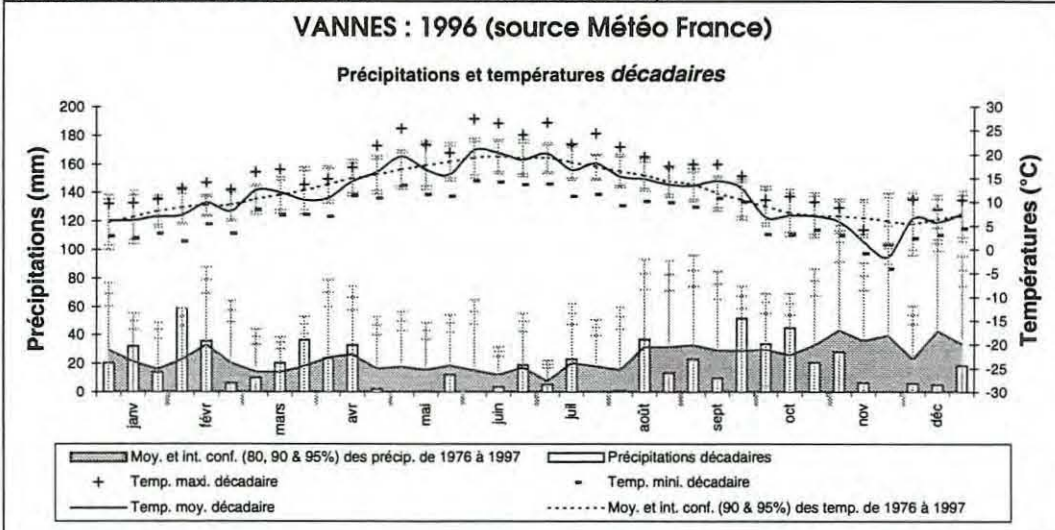


fig 8: météorologie du Morbihan en 1996 réalisation: Le Chanjour

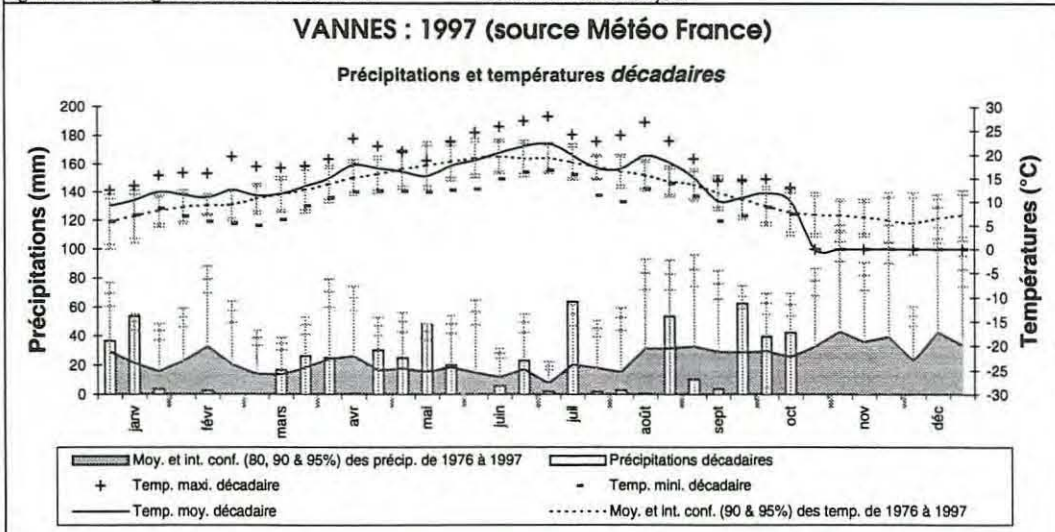


fig 9: météorologie du Morbihan en 1997 réalisation: Le Chanjour

Elle affine la texture ce qui favorise l'implantation de la microflore bactérienne et les conditions réductrices. Ainsi la réduction des sulfates en sulfure en présence de matière organique libère des acides faibles dans le milieu. Ce qui entraîne :

l'entretien de la réserve alcaline

la dénitrification en profondeur

un mouvement des ions phosphate PO_4^{2-} échangeables

un excès d'ions calcium Ca^{2+} diffusables

Ces phénomènes conduisent également à de fortes concentrations de sels nutritifs et à leurs diffusions au-dessus de l'interface, ce qui est favorable à la production primaire.

Un sédiment fin et riche en matière organique entraîne plus de croissance mais est aussi un facteur de risque par des phénomènes d'hypoxie, d'émission de sulfures et de toxiques parfois associés à des mortalités (Lemoine, 1990).

1.2. Météorologie

1.2.1. Climat Morbihannais

Le climat du Morbihan est de type océanique. Les données de Météo France montrent que l'hiver est doux et l'été frais. Les précipitations annuelles moyennes sont de 842 mm à Vannes, valeur modérée. Les vents sont forts de septembre à octobre et de mars à avril. Les vents dominants sont de secteur Nord-Ouest et Sud Ouest.

Ces conditions sont favorables à l'ostréiculture. Il n'y a pas de températures excessives en été comme en hiver. Les pluies apportent les sels nutritifs au milieu mais le risque de douçain (chute de la salinité) est limité. Enfin, les vents forts peuvent être générateurs de tempêtes mais la rivière d'Auray est un site bien protégé.

Ces données proviennent de moyennes calculées sur une période de vingt ans et n'excluent pas une variabilité interannuelle. Des graphiques représentent les données Météo France de la station de Vannes.

1.2.2. Météorologie du Morbihan de 1995 à 1997

En 1995, les précipitations sont importantes en hiver et au début de printemps. L'été est chaud et sec (fig 7).

En 1996, lors des phénomènes de mortalité, le temps est frais et sec en été (fig 8).

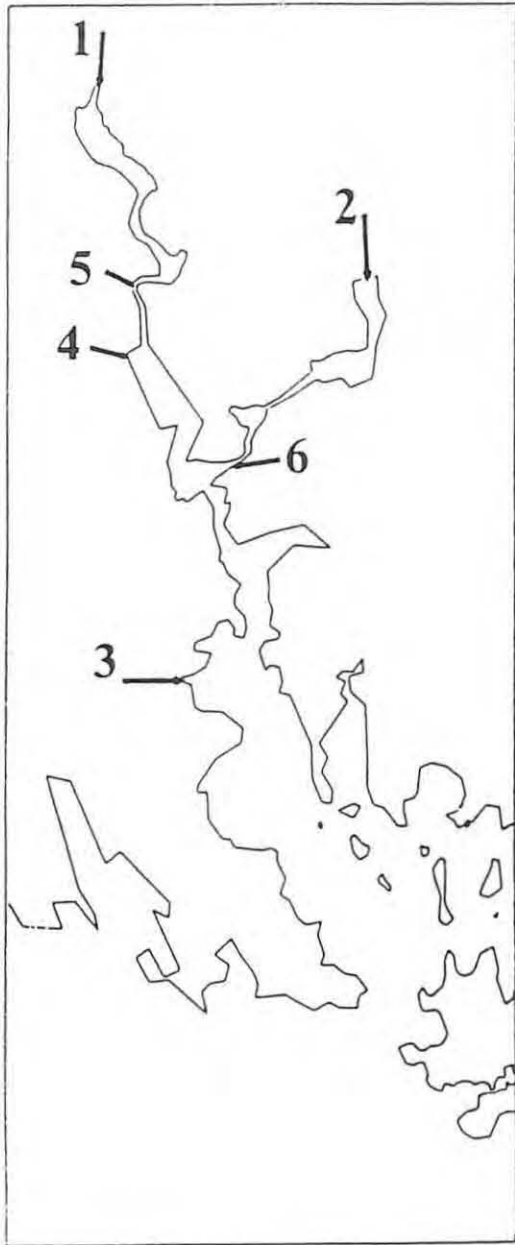
En 1997, une période de sécheresse affecte les mois de mars et avril. Les températures de début d'été sont modérées et les précipitations importantes par rapport à la moyenne des vingt dernières années (fig 9).

1.3. L'impact de l'homme

1.3.1. L'activité humaine

Un littoral urbanisé

Le littoral morbihannais est densément peuplé (60% de la population du département). Entre les recensements de 1982 et 1990, la population des communes littorales a augmenté de 7,8%. L'urbanisation n'a cessé de croître depuis 1970 et est presque continue sur le littoral à l'heure actuelle (Bailleul, 1996).



Légende

- 1: Rivière Le Loc'h
- 2: Rivière Le Sal
- 3: S.E. de Crac'h
- 4: S.E. d'Auray
- 5: E.P. d'Auray Saint Goustan
- 6: E.P. Le Bono le Port

S.E.: station d'épuration
 E.P.: collecteur d'eaux pluviales
 contaminées

fig 10 : Points de rejets d'eaux brutes épurées ou contaminées dans la rivière d'Auray
 source : Marcos et al, 1997

L'agglomération principale de la rivière d'Auray est Auray, en amont.

L'exode rural

Inversement, la SAU (surface agricole utile) a diminué dans les années 80. Cela représente une diminution de moins de 3% sur la rive Est (Bailleul, 1996).

Il demeure cependant une activité d'élevage modérée et de cultures variées (observation faites sur le terrain).

Une côte touristique

le Morbihan est un département qui offre un grand attrait touristique. La voile y est l'activité reine. Ainsi 39400 navires (voiliers et bateaux à moteur confondus) sont immatriculés en 1990 dans le Morbihan. La rivière d'Auray étant abritée, de nombreux mouillages ont été installés. Un chantier naval est situé juste en amont du secteur de Bascatique. On note également la présence d'un green de golf sur les pentes surplombant ce même secteur, des campings...

1.3.2. Points de rejets dans la rivière d'auray

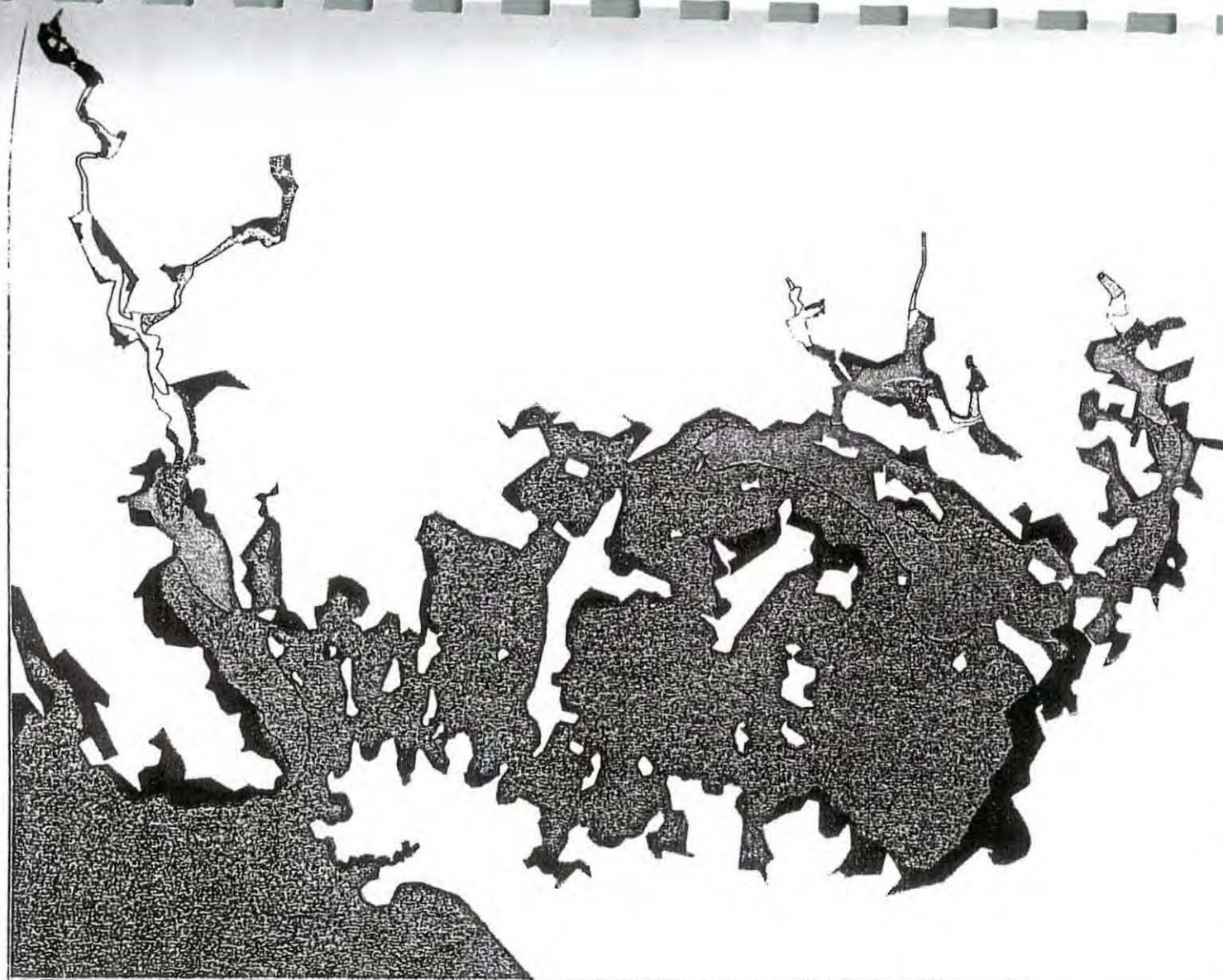
On recense 6 points de rejets importants d'eaux brutes épurées ou contaminées dans la rivière d'Auray (fig 10):

- rivière du Loc'h
- rivière du Sal
- station d'épuration de Crac'h
- station d'épuration d'Auray
- collecteur d'eaux pluviales contaminées d'Auray saint Goustan
- collecteur d'eaux pluviales contaminées de Le Bono le port

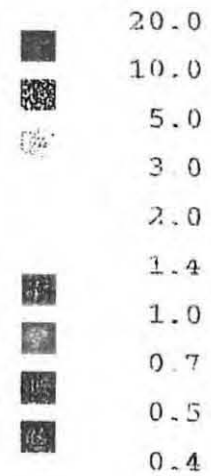
Tableau 5: apports hivernaux d'azote en rivière d'Auray

Rejet	Débit d'hiver (m ³ /j)	[NH4] moy. hiver (mg/l)	[NO3] moy. hiver (mg/l)	Nt=(N- NH4+N- NO3) (mg/l)	Flux Nt moy. hiver (Kg/j)
rivière Le Loc'h	323200	0.3	31.5	7.2	2314.1
rivière Le Sal	200000	0.1	30.0	6.8	1366.8
S.E. Crac'h	870	12.2	9.7	11.7	10.2
S.E. Auray	2370	40.6	2.0	32.2	76.2
E.P. Auray Saint Goustan	200	2.0		1.6	0.3
E.P. Le Bono Le Port	50	0.04		0.031	0.016

S.E.: station d'épuration, E.P.: collecteur d'eaux pluviales



Concentration
(mg/l)



■ Zones
découvrantes

fig 11 : Concentration en azote total à basse mer (Port Navalo)
source : Marcos et al, 1995

Les principaux apports d'azote se font donc par les rivières Le Sal et surtout Le Loc'h. Les apports sont ensuite dilués.

Tableau 6: concentration en azote en différents points de la rivière d'Auray

point	Entrée Loc'h	Entrée Sal	Auray	Confluent Auray-Bono	Kerouarc'h
Concentration maximale en azote total (mg/l)	6	6	2.5	2.6	0.75
Concentration minimale en azote total (mg/l)	5.5	5.8	2.3	1.7	0.6

On constate qu'une grande partie de la rivière d'Auray est atteinte. Les concentrations en azote diminuent de l'origine du rejet vers l'aval. L'équilibre sera atteint lorsque ces apports seront compensés par la sortie de l'azote par le goulet de port Navalo. Dans la rivière d'Auray, cet équilibre est parfaitement atteint au niveau du confluent Auray-Bono. Plus en aval, la tendance est à la croissance (Marcos et al, 1995).

On peut visualiser (fig 11) le gradient entre l'amont et l'aval de la rivière; Ainsi le site de fort espagnol subit les influences des rejets. Kerpenhir reçoit les pollutions des autres rejets du Golfe (Vannes...) en raison des phénomènes de courants décrits plus haut.

Dans le cadre de l'étude des mortalités estivales, il est intéressant de noter que les concentrations en azote sont plus faibles à cette saison.

Il faut également noter que les stations d'épuration, souvent mises en accusation par les professionnels, présentent une efficacité certaine. Ceci est d'autant plus important que la station de Crac'h, dont les rejets sont les plus proches des points d'étude Fort Espagnol et Bascatique, a les meilleures performances.

Les composés azotés rejetés sont représentés par trois ions: NH_4^+ , NO_2^- , et NO_3^- . Ces composés proviennent des différentes activités humaines. NH_3 et NO_2^- , instables, sont toxiques pour les huîtres. De plus l'azote est un nutriment majeur pour les végétaux et peut donc entraîner une eutrophisation; cependant il faut des concentrations élevées des deux premiers pour entraîner une toxicité et il n'a pas été noté de bloom algal lors des phénomènes de mortalité; en cas de problème de ce type, il faut noter que l'huître est un animal résistant à l'hypoxie et que donc en cas d'hypoxie ou d'intoxication, d'autres espèces que l'huître seraient également concernées.

Ces apports azotés sont tout de même nécessaires puisqu'ils assurent la production primaire et donc la nourriture des huîtres. En été, c'est plutôt le déficit qui est à craindre.

1.3.3. Contamination par des composés chimiques

La préfecture du Morbihan publie tous les ans un "Observatoire de l'eau" avec le concours de plusieurs organismes et sociétés. Ce rapport traite des pollutions des eaux douces. Cela nous permet de connaître le niveau et l'évolution des pollutions des rivières confluant en rivière d'Auray.

Les teneurs en pesticides (atrazine, simazine, phenyl-urées) sont faibles ($< 0.1 \mu\text{g/l}$ dans l'eau de consommation) et en légère baisse, en particulier pour l'atrazine, depuis 1990.

Ces données montrent une tendance annuelle et ne permettent pas de conclure sur des variations saisonnières.

En ce qui concerne les pollutions accidentelles, la tendance est à la hausse depuis 1989 (40 cas en 1996 contre 18 en 1989 sur le département). D'après ce rapport, ceci semble lié à l'amélioration des signalements plutôt qu'à une variation interannuelle. Il faut noter qu'aucune pollution accidentelle n'a été signalée en rivière d'Auray en 1995 et 1996.

Le Réseau national d'Observation est un réseau IFREMER mesurant les taux de polluants rémanents sur le littoral français. Le principe est de doser les contaminants concentrés dans la chair des coquillages filtreurs, les moules et les huîtres. Les données présentées sont une moyenne de 1979 à 1993 (sauf pour le DDT et ses dérivés pour lesquelles la moyenne est calculée de 1989 à 1993) pour 1 point situé à Locmariaquer et sur des huîtres

- mercure	$< 0.2 \text{ mg/kg}$	de poids sec de chair
- cadmium	$< 2 \text{ mg/kg}$	de poids sec de chair
- plomb	$< 2 \text{ mg/kg}$	de poids sec de chair
- zinc	$< 2000 \text{ mg/kg}$	de poids sec de chair
- cuivre	$< 100 \text{ mg/kg}$	de poids sec de chair
- PCB	$< 500 \mu\text{g/kg}$	de poids sec de chair
- alpha hexachlorocyclohexane	$< 2.5 \mu\text{g/kg}$	de poids sec de chair
- lindane	$< 10 \mu\text{g/kg}$	de poids sec de chair
- DDT+DDD+DDE	$< 20 \mu\text{g/kg}$	de poids sec de chair
- hydrocarbures polyaromatiques	$< 5 \text{ mg/kg}$	de poids sec de chair

ces valeurs sont moyennes à basses par rapport à l'ensemble du littoral français; de plus, il n'y a pas de hausse depuis 1993, période des premières mortalités.

1.4. La conchyliculture

Le cadastre conchylicole est le registre des parcelles conchylicoles. Il est tenu par les Affaires Maritimes. Il définit le titulaire de la concession, l'espèce élevée et le type de culture (plat, surélevé,...). Il sert de base au paiement annuel d'une redevance domaniale. Une connaissance précise de la répartition des huîtres est importante dans le cadre d'une étude épidémiologique si l'étude des phénomènes de mortalité estivale du naissain d'huître creuse, *Crassostrea gigas*, révèle la présence d'un agent pathogène.

D'après l'étude du cadastre de la rivière d'Auray (Bailleul, 1996), on dénombre 149 parcelles étendues sur 31,5 ha ce qui représente 62 % des 51 ha d'estran. 4,8 % de la surface concédable n'est pas concédée en 1996, 8 parcelles ont été abandonnées.

Cependant les informations recueillies pour l'élaboration de ce cadastre sont parfois erronées. En effet, il existe de nombreuses anomalies dans l'utilisation du domaine publique maritime :

- location ou prêt de parcs
- l'anticipation sur l'octroi de concession
- délimitation et balisage non conforme à la réglementation
- le non respect des conditions d'exploitation

Il en résulte des erreurs sur les classes d'âge, l'utilisation des parcs et leur limites.

Les observations faites sur le terrain nous renseignent sur la conchyliculture en rivière d'Auray. L'espèce élevée est l'huître creuse, *Crassostrea gigas*. La rivière d'Auray est un secteur de demi-élevage. Le naissain capté (Charentes, Arcachon...) est transféré à l'âge de 6 mois environ en rivière d'Auray. Il est généralement élevé sur des tubes disposés sur des tables et parfois sur des cadres (structure sur trois ou quatre étages). On observe moins souvent des élevages en poches ("grattis d'Arcachon") ou au sol. L'année suivante, au stade "18 mois", les huîtres sont élevées généralement en Baie de Quiberon. Les coquillages restent donc environ une année sur ce site.

On observe peu d'élevages de "18 mois" et pas d'adultes. Enfin, il existe des gisements naturels limités d'huîtres creuses, même très haut dans la rivière, comme le montrent les opérations de dragage effectuées par les professionnels.

Les deux zones principales d'élevage sont Bascatique en amont et Locmariaquer en aval. A Bascatique le parcellaire est très découpé (plusieurs dizaines de concessions) mais seulement une dizaine d'exploitants sont très actifs, généralement en bordure de chenal. L'élevage est à 90% sur tube. A Locmariaquer, les parcs sont étalés le long du chenal sur plusieurs kilomètres. Ici cohabitent les parcs à plat et les parcs en surélevé. Il y a également quelques parcs en eau profonde dans le chenal.

La biomasse est difficile à évaluer avec précision. On peut faire une approximation sur les hypothèses suivantes:

- 150 huîtres de 30g/ tube
- 20 000 tubes/ ha
- 30 ha

Ce qui fait très approximativement 902 millions animaux et 2700 tonnes au maximum. C'est globalement assez peu par rapport à la masse d'eau.

Il n'y a que dans les zones un peu enclavées (Bascatique) que la biomasse pourrait entraîner une déplétion de nourriture mais cela ne semble pas être le cas. En outre les problèmes sont les mêmes le long du chenal.

La production d'huîtres creuses annuelle moyenne était estimée à 500 tonnes en 1984 (collectif, 1984).

1.5. Conclusion

La rivière d'Auray est un site bien protégé, ce qui est un avantage pour les installations ostréicoles.

L'estran est vaste ce qui offre une grande superficie d'élevage.

Les faibles profondeurs, et la richesse du milieu estuarien permettent une bonne photosynthèse et donc une bonne croissance phytoplanctonique, ce qui assure la nourriture des huîtres.

L'importance de la slikke, zone inondée à chaque marée haute et abondante en diatomées qui représente de la nourriture pour les huîtres, est également favorable.

Les courants importants assurent le renouvellement et l'oxygénation de l'eau avec cependant des différences entre les sites.

Enfin, le niveau de pollution semble relativement faible en rivière d'Auray.

2. Description des phénomènes de mortalité estivale affectant les juvéniles d'huîtres creuses, *Crassostrea gigas*, en rivière d'Auray de 1995 à 1997

2.1. Objectif

Le premier objectif de ces enquêtes est de quantifier l'ampleur des mortalités estivales affectant les cheptels de juvéniles de un an d'huîtres creuses. Ainsi seront prises les mesures nécessaires (effort scientifique, déclarations de calamité agricole,...).

Le deuxième objectif est d'identifier un éventuel agent pathogène et des facteurs favorisants afin de proposer des solutions adaptées aux professionnels.

2.2. Méthodologie

Une fiche d'enquête (annexe 1) a été remplie pour chaque lot à mortalité déclaré au laboratoire IFREMER de La Trinité Sur Mer au cours des périodes estivales 1995 et 1996.

En prévision des phénomènes de mortalité estivale 1997, et dans le cadre spécifique de la rivière d'Auray, la carte de ce site a été jointe à la fiche d'enquête. Des exemplaires de fiches ont été distribués aux trois syndicats ostréicoles de la rivière d'Auray ainsi qu'à la Section Régionale Conchylicole de Bretagne Sud. Ces fiches étaient également à la disposition des professionnels au laboratoire.

Des prélèvements pour analyses pathologiques sont également effectués.

Le virus de type herpès (annexe 2) est suspecté lors de ces phénomènes de mortalité et est donc particulièrement recherché.

La méthode classique d'analyse en pathologie des mollusques est la microscopie photonique. Elle permet, en fonction de la préparation, d'observer la plupart des parasites. En revanche, la mise en œuvre est relativement longue et le diagnostic délicat.

En cas d'infection par le virus de type herpès, ne sont observables que des anomalies nucléaires. On ne peut alors que poser un diagnostic de suspicion. D'autres types d'analyses sont alors à appliquer.

La microscopie électronique permet l'observation des particules virales. Cette technique est lourde d'emploi et seul le laboratoire IFREMER de La Tremblade est équipé d'un microscope électronique.

Un protocole de PCR (annexe 3) a été mis au point par le laboratoire IFREMER de La Tremblade pour la détection de l'ADN du virus de type herpès infectant les huîtres. Il s'agit d'un protocole de nested PCR.

Le seuil minimum de détection systématique a été défini à l'aide d'extraits d'ADN de particules virales purifiées mélangé à des broyats d'animaux "sains". Ce seuil est de 2500 copies d'ADN (Renault, 1997). La détection d'ADN viral en plus faible quantité est possible mais plus aléatoire.

Elle est spécifique. Aucune réaction croisée n'a été observée avec l'ADN de virus de la famille des *Herpesviridae* (Renault, 1997).

Quoique nécessitant des précautions draconiennes, afin d'éviter des contaminations à l'ADN de virus, la PCR est relativement simple d'emploi et relativement rapide (1,5 jour) par rapport à l'histologie.

En cas de résultat positif, on est en mesure de dire qu'il y a présence d'ADN viral mais sans pouvoir affirmer la présence de particules virales complètes. Seule la microscopie

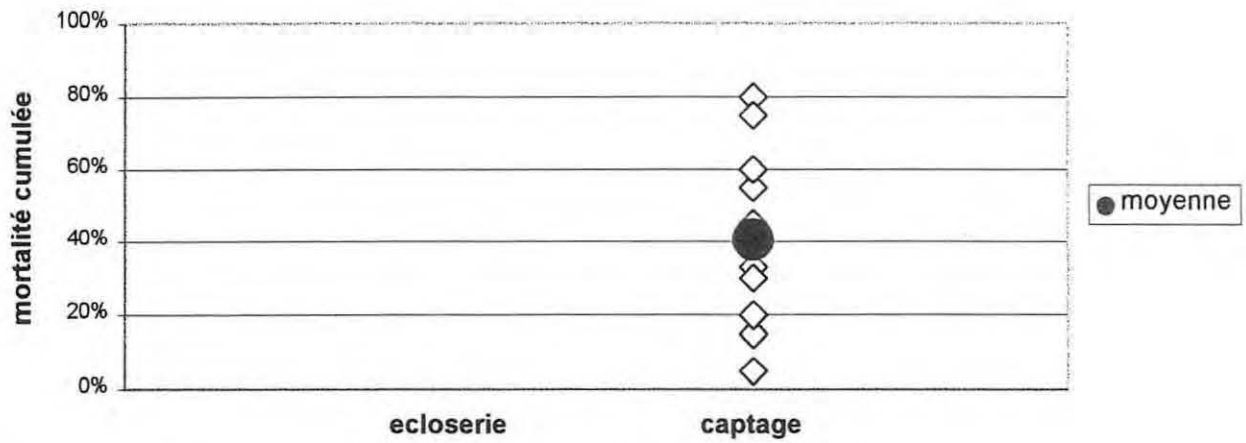


fig 12 : taux de mortalité cumulé en fonction de l'origine du naissain en 1995

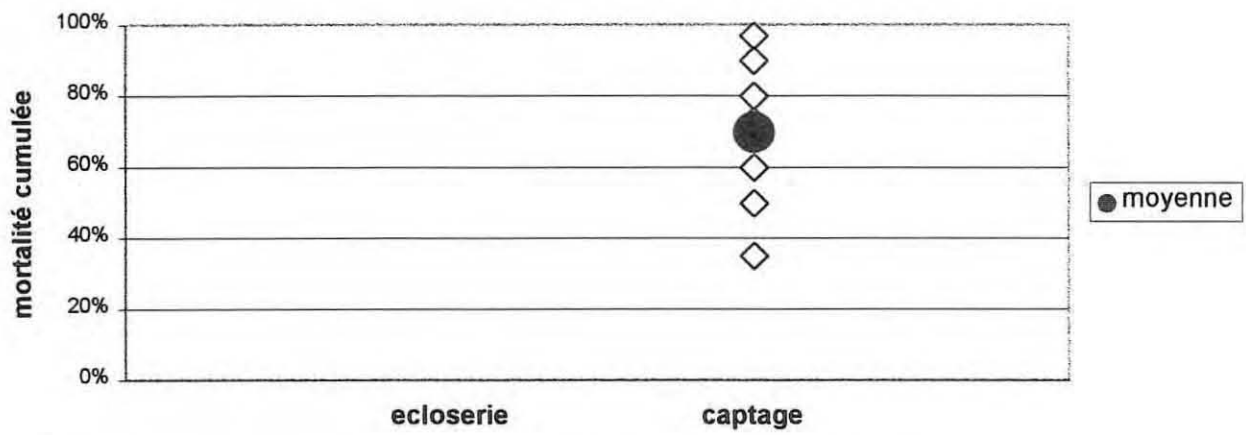


fig 13 : taux de mortalité cumulé en fonction de l'origine du naissain en 1996

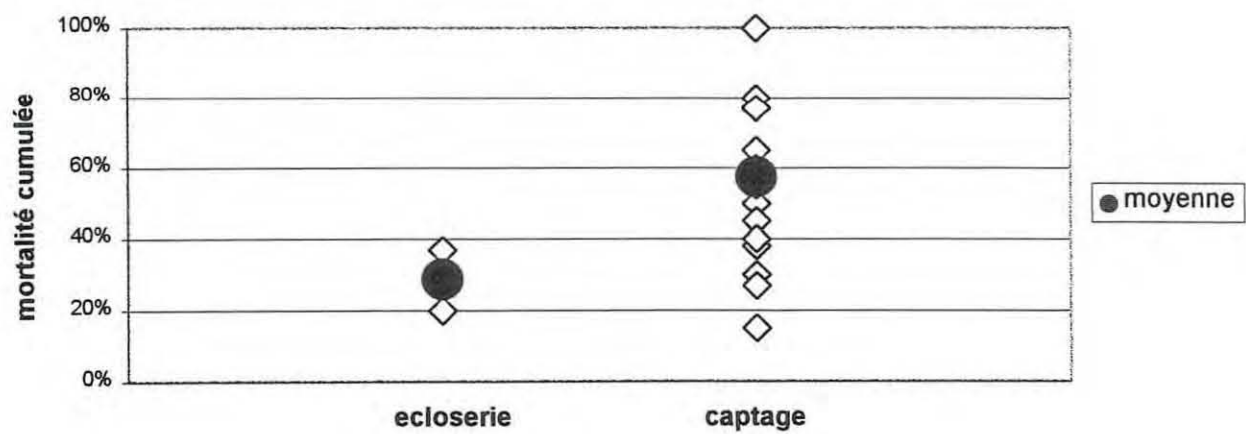


fig 14 : taux de mortalité cumulé en fonction de l'origine du naissain en 1997

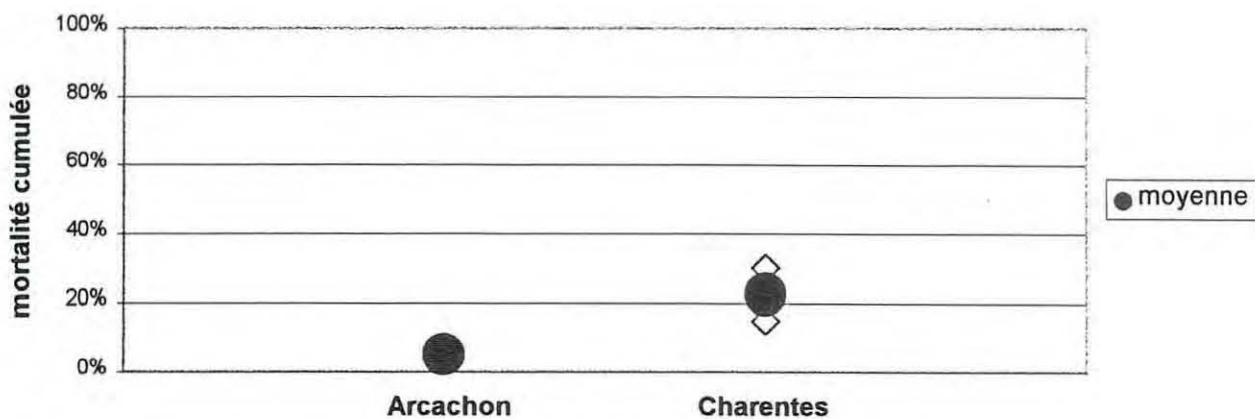


fig 15 : taux de mortalité cumulé en fonction du site de captage en 1995

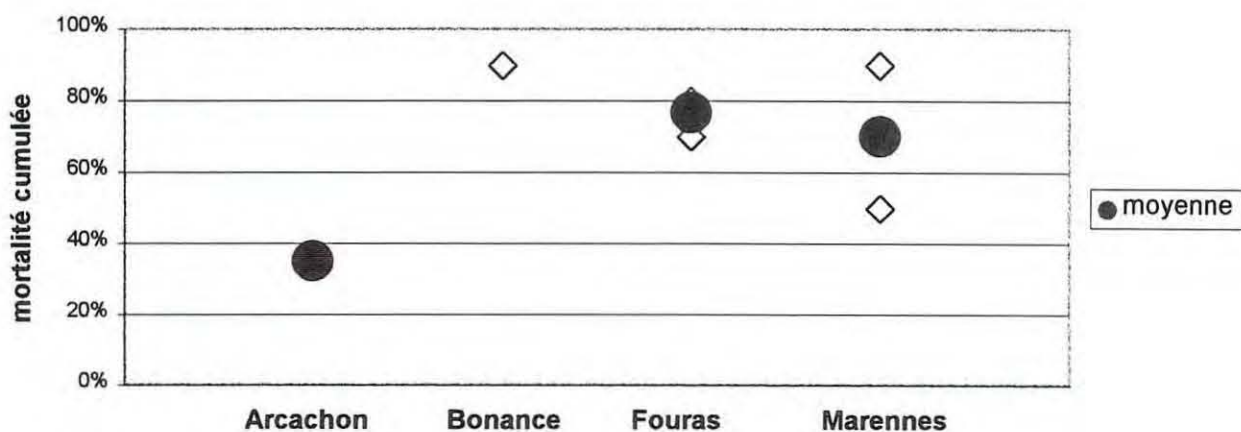


fig 16 : taux de mortalité cumulé en fonction du site de captage en 1996

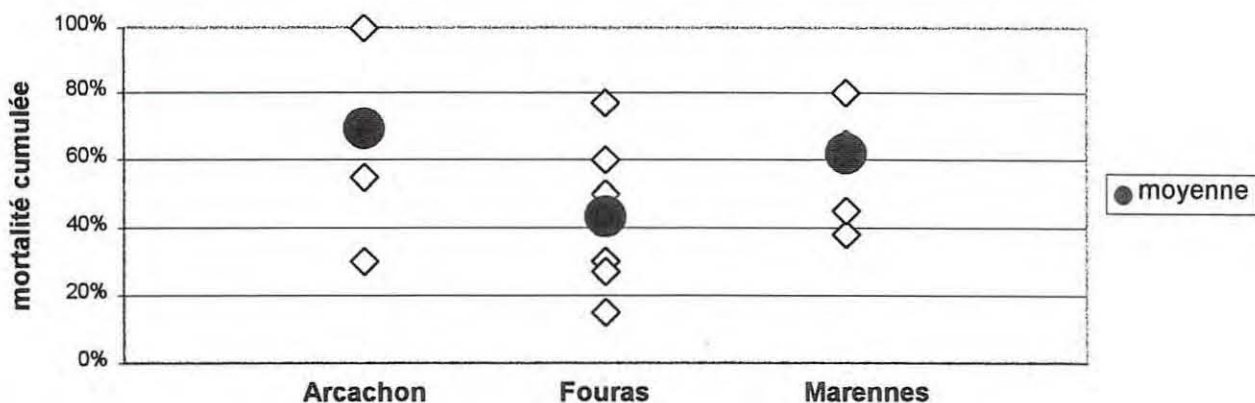


fig 17 : taux de mortalité cumulé en fonction du site de captage en 1997

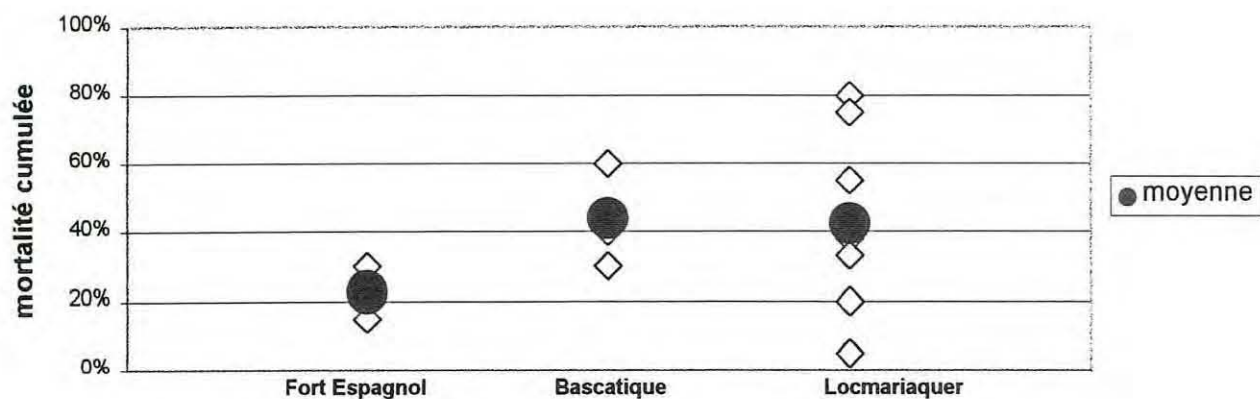


fig 18 : taux de mortalité cumulé en fonction du site d'élevage en 1995

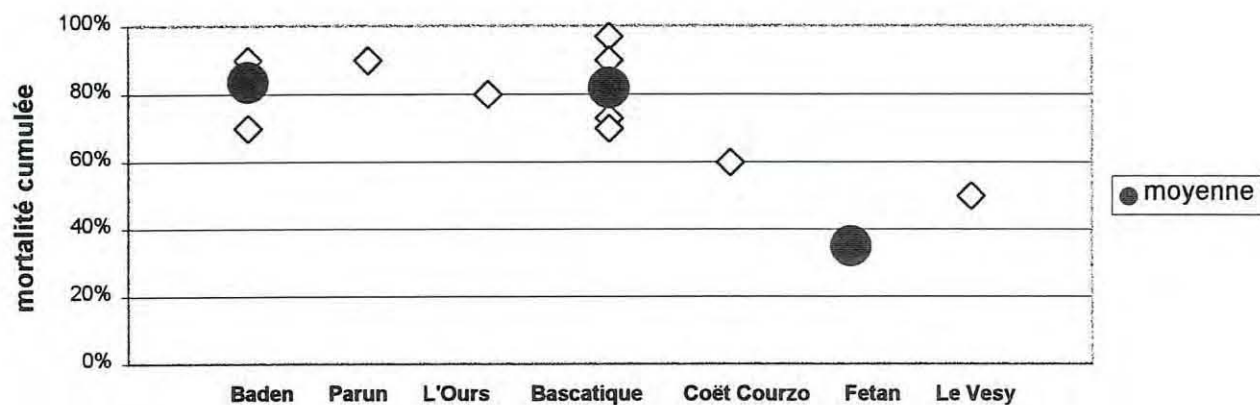


fig 19 : taux de mortalité cumulé en fonction du site d'élevage en 1996

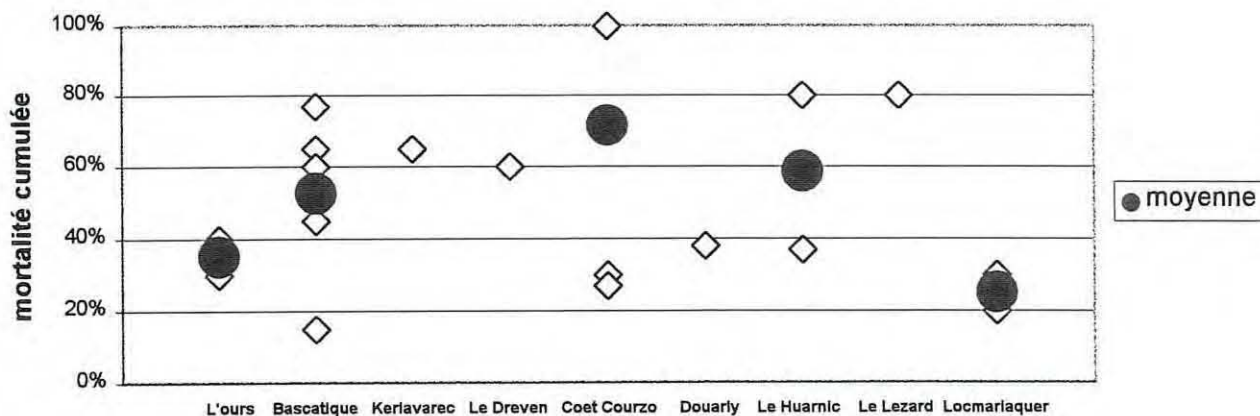


fig 20 : taux de mortalité cumulé en fonction du site d'élevage en 1997

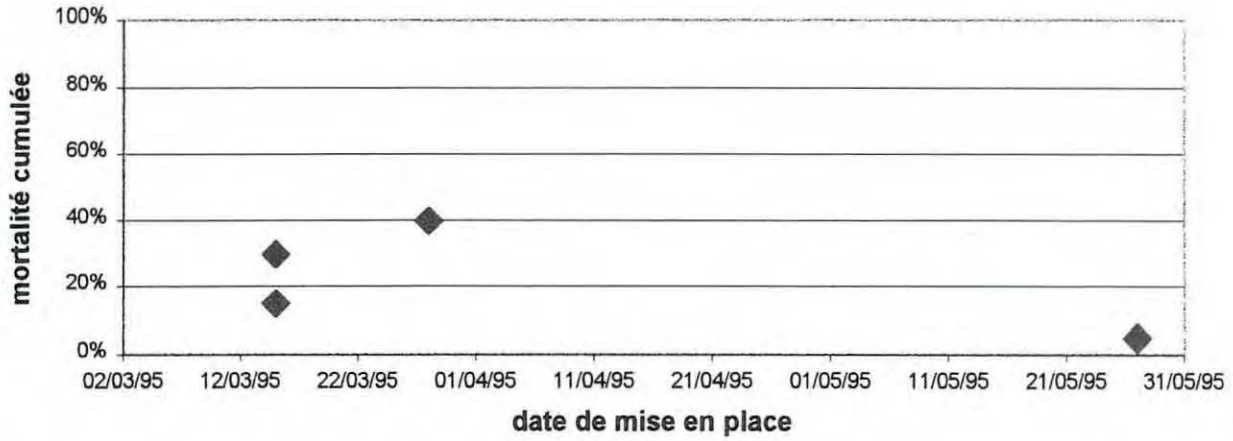


fig 21 : taux de mortalité cumulé en fonction de la date de mise sur site en 1995

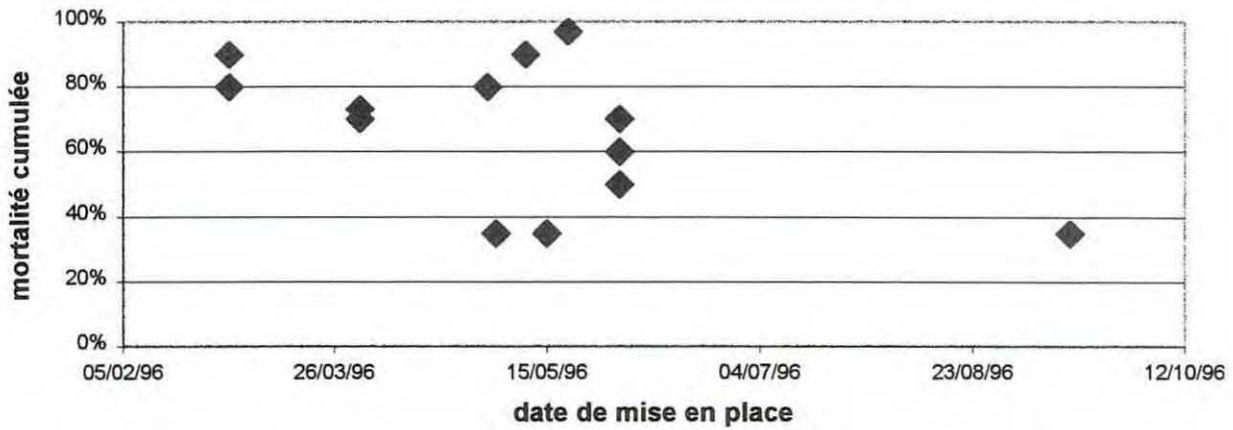


fig 22 : taux de mortalité cumulé en fonction de la date de mise sur site en 1996

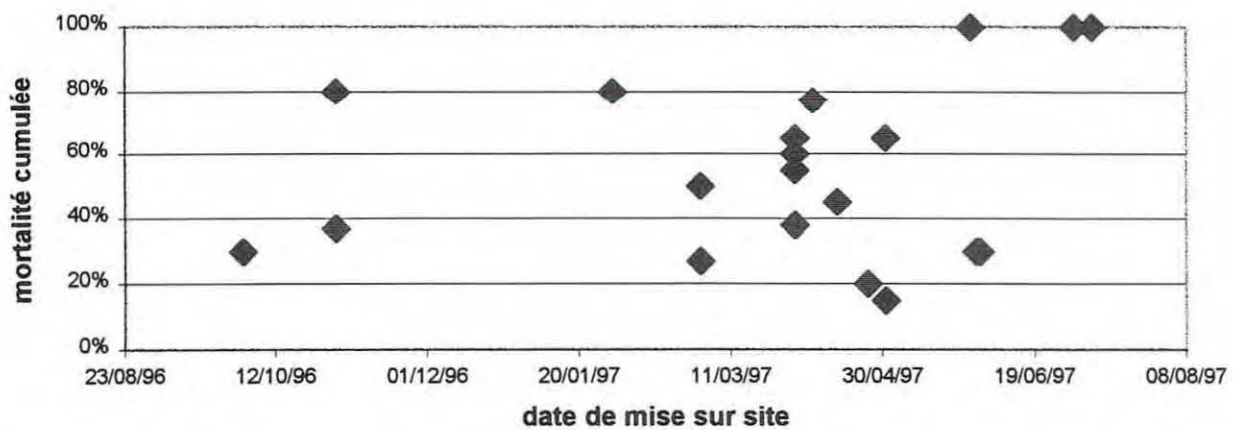


fig 23 : taux de mortalité cumulé en fonction de la date de mise sur site en 1997

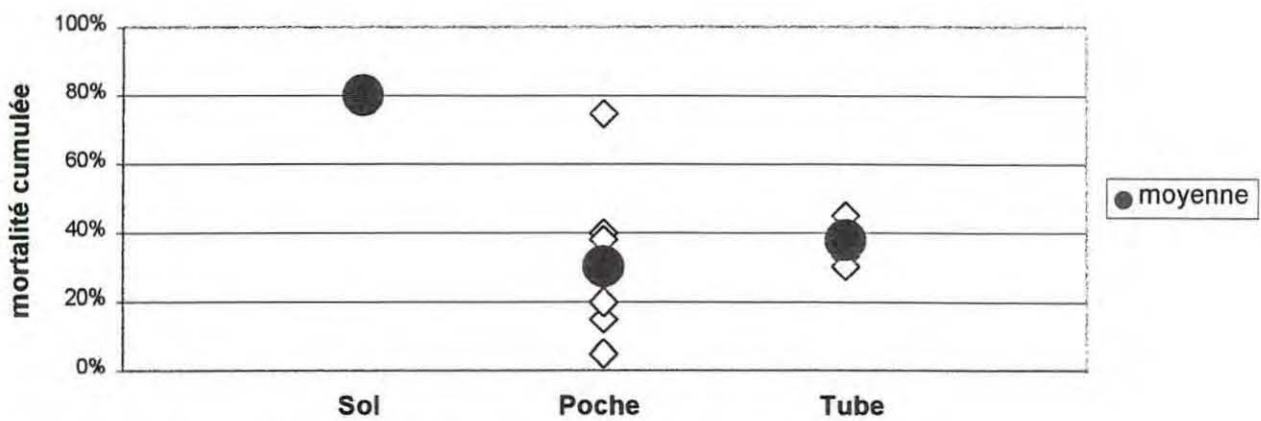


fig 24 : taux de mortalité cumulé en fonction du mode d'élevage en 1995

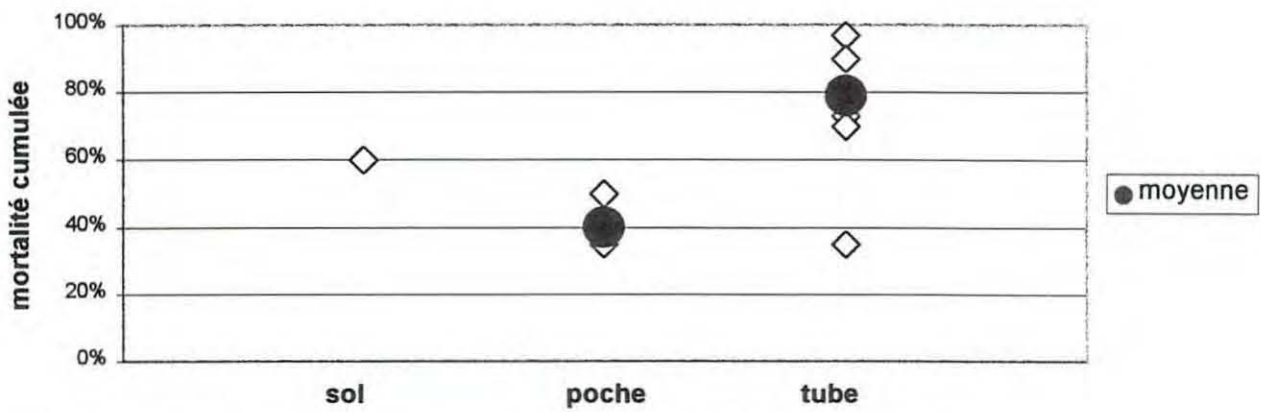


fig 25 : taux de mortalité cumulé en fonction du mode d'élevage en 1996

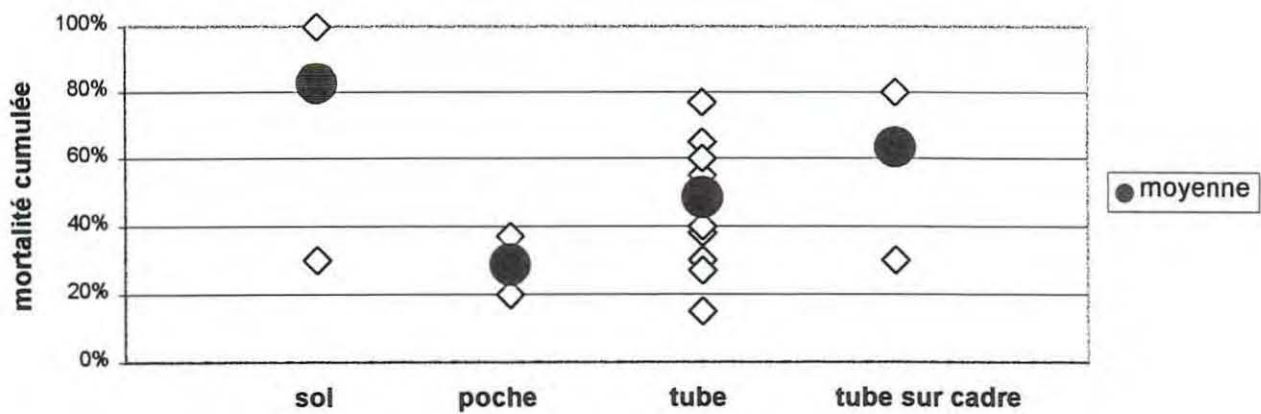


fig 26 : taux de mortalité cumulé en fonction du mode d'élevage en 1997

électronique permet cette observation. En cas de résultat négatif, soit il y a absence d'ADN viral soit présence en faible quantité et donc en dessous du seuil de détection.

Le coût des analyses histologiques et PCR sont équivalents.

Pour chaque déclaration de mortalité, on cherche un lot d'animaux, ayant une historique très proche mais n'ayant pas subi de mortalité. Ce lot est également analysé par PCR. On essaye de réaliser une enquête du type cas-témoin.

2.3. Résultats

Les fiches d'enquête ont soit été renvoyées directement par les professionnels, soit transmises par l'intermédiaire de la SRC ou encore remplies au laboratoire suite à une visite ou un appel de professionnel.

Le nombre de fiches retournées est de :

- 19 pour l'année 1995 avec un taux de mortalité cumulée moyen de 40 %
- 18 pour l'année 1996 avec un taux de mortalité cumulée moyen de 71 %
- 24 pour l'année 1997. avec un taux de mortalité cumulée moyen de 55 %

Il n'a été possible que dans de rares cas d'obtenir des fiches et des échantillons de lots témoins.

Pour chacune des trois années, est représenté le taux de mortalité cumulé en fonction :

- de l'origine du naissain : écloserie/ captage (fig 12 à 14)
- du site de captage (fig 15 à 17)
- du site d'élevage (fig 18 à 20)
- de la date de mise sur site (fig 21 à 23)
- du mode d'élevage : sol/ poche/ tube/ tube sur cadre (fig 24 à 26)

En 1995 et 1996, il n'y a aucun cas de mortalité déclaré sur naissain originaire d'écloserie. En 1997, la moyenne des taux de mortalité cumulé est inférieure pour les lots d'écloserie (29 %) que pour les lots issus de captage naturel (57 %).

Aucun site de captage ne semble se démarquer au vu des trois années.

On peut remarquer une tendance à des taux de mortalité supérieurs en amont qu'en aval (sauf en 1995). Le site de Bascatique témoigne au fil des ans de nombreux cas et de taux élevés.

Il semble ne pas y avoir d'influence de la date de mise sur site sur le taux de mortalité cumulée.

Les taux de mortalités sont supérieurs au sol, puis sur tube par rapport aux poches.

Le nombre de lots professionnels analysés est de:

- 1 en 1995 (histologie)
- 3 en 1996 (2 en histologie et 1 en histologie et PCR)
- 5 en 1997 (PCR)

Tableau 7: analyses pathologiques réalisées sur les lots professionnels

année	site	% mortalité cumulée	méthode d'analyse	résultat
1995	Fort Espagnol	30 %	histologie (10 individus, feulgen)	négatif
1996	Bascatique	71 %	histologie (10 individus, feulgen, hemalun)	1 Pseudomytilicola 1 metazoaire
			PCR (4x5 individus)	négatif
1996	Bascatique	50 %	histologie (10 individus, feulgen)	négatif
1996	Locmariaquer	51 %	histologie (10 individus, feulgen)	négatif
1997	Douarly	38 %	PCR (6x5 individus)	Positif 1/6
1997	Fort Espagnol	40 %	PCR (6x5 individus)	Positif 1/6
1997	Le Huarnic	37 %	PCR (6x5 individus)	négatif
1997	Locmariaquer	100 %	PCR (4x5 et 3 individus)	négatif
1997	Locmariaquer	0 %	PCR (4x5 et 3 individus)	positif 1/5

2.4. Discussion

Le nombre de fiches retournées est relativement faible. De plus, ces fiches sont généralement incomplètes ou les informations qu'elles contiennent approximatives. Il semble, au dire des professionnels, que le nombre de cas de mortalité non déclarés soit plus important que le nombre de cas de mortalité déclarés.

De même, peu de professionnels fournissent des lots d'animaux en cas de mortalité sur leurs cheptels. En outre ces lots sont souvent prélevés à la marée de vive eau suivant l'épisode de mortalité.

Enfin, très peu de lots témoins avec une fiche les accompagnant ont été fournis au laboratoire.

Ce type d'enquête, si elle est peu coûteuse, ne permet donc pas de recueillir beaucoup d'informations et met en doute la validité de celles obtenues (fiches et résultats d'analyses pathologiques). On ne peut donc conclure à l'influence de certains facteurs d'élevage et au rôle tenu par le virus de type herpes. Toutefois un facteur très influant ressortirait.

En revanche, plusieurs points sont mis en évidence :

- le manque flagrant de traçabilité pour un lot d'animaux
- l'importance des échanges et des mélanges de cheptels
- la difficulté du suivi de ce type d'élevage
- le manque de communication interne à la profession et entre la profession et IFREMER

Après discussion avec les professionnels, et indépendamment de cette enquête, il semble que les phénomènes de mortalité ont été moins importants en 1997 en rivière d'Auray.

Si le nombre de fiches d'enquête retournées est faible, ce qui pourrait faire penser à des mortalités ponctuelles, il semble, au dire des professionnels, que le phénomène se répète d'année en année au point que certains envisagent d'abandonner l'élevage dans des secteurs comme Bascatique.

Le second objectif de cette enquête était de révéler les facteurs favorisant les mortalités. On ne peut objectivement, au vu des résultats, apporter de conclusion.

Le premier objectif, quantifier les mortalités en rivière d'Auray, semble encore moins atteint. En effet, si certains professionnels soucieux du résultat de ce type d'étude ont effectivement répondu, on ne peut rester insensible aux rumeurs décrivant des cas de mortalités bien plus nombreux que ceux déclarés par les fiches d'enquête.

Pour de meilleurs résultats un suivi systématique de lots professionnels (historique et analyses) avec des visites sur le terrain aurait été préférable. Mais ce type d'enquête réclame un effort beaucoup plus important

3. Etude des phénomènes de mortalité estivale affectant les juvéniles d'huîtres creuses, *Crassostrea gigas*, en rivière d'Auray en 1997

3.1. Objectif

Différents paramètres, comme la qualité physico-chimique de l'eau, la quantité et la qualité du phytoplancton, la croissance et l'état physiologique des huîtres ainsi que la présence de polluants, d'agents pathogènes, pourraient être impliqués lors des phénomènes de mortalité estivale des juvéniles de un an de l'huître creuse, *Crassostrea gigas*.

Un suivi en continu des paramètres physico-chimiques de l'eau (température, salinité, oxygène) peut révéler des conditions défavorables aux huîtres.

De même un suivi du phytoplancton peut mettre en évidence un déficit, et donc un manque de nourriture pour les coquillages, et dans une moindre mesure l'apparition d'un bloom de phytoplancton responsable d'une hypoxie ou d'une toxicité.

Enfin il n'est pas suffisant d'étudier les seuls lots professionnels. En effet, l'origine et l'historique de ces lots peuvent être très variables, et pas toujours connus avec exactitude, ce qui rend difficile l'interprétation.

Mettre en place des lots de même origine et à la même date permet de suivre croissance, état physiologique, survie et présence d'agent pathogène, en particulier le virus de type herpes.

3.2. Methodologie

Nous disposons des résultats d'une étude de la Direction de l'Environnement et de l'aménagement Littoral IFREMER La Trinité sur la rivière d'Auray en 1995 et 1996. Les points d'étude sont Port-Navalo, Kerouarc'h et Le Rohello. Le premier se trouve à l'entrée du Golfe du Morbihan, le second sur la rivière d'Auray en Locmariaquer et le dernier en amont (fig 1). Les paramètres étudiés sont : concentration en chlorophylle, phéophytine, NH_4^+ , NO_3^- , PO_4^{3-} , température, salinité et turbidité.

Plusieurs sites de la rivière d'Auray ont été retenus pour l'étude menée en 1997 (fig 1):

- Bascatique, en amont et sur la rive gauche, très fortement touché par les mortalités
- Fort Espagnol, en amont et sur la rive droite, également touché
- Kerpenhir, en aval et sur la rive droite, généralement épargné
- Kerivaud, sur la rive droite et intermédiaire dans sa position géographique et par rapport aux mortalités.

Les différents suivis se répartissent sur ces sites en fonction de l'intérêt scientifique et des contraintes imposées.

3.2.1. Paramètres physico-chimiques

Une station expérimentale est installée à Kerivaud (annexe 4). Une pompe immergée par un coefficient de marée de 80 apporte de l'eau de mer aux installations à terre dans différents bacs de mesure. Lorsque la pompe est découverte à marée basse, le pompage est stoppé et les bacs sont vidés au moyen d'une électrovanne. Ce système permet de faire des observations en fonction du cycle de marée.

Les paramètres physico-chimiques sont mesurés par deux types de sondes: une sonde TSP (température, salinité et pression) et un oxymètre.

Dans le cadre d'une autre étude et grâce à cette station, la respiration d'un lot d'huîtres adultes est suivie. La circulation d'eau est stoppée une demi heure toutes les deux heures. La diminution d'oxygène, due à la respiration des coquillages est mesurée par un oxymètre. Sont également suivis les mouvements valvaires des huîtres par deux enregistreurs (valvomètres).

Un lot témoin d'huîtres est placé à proximité de la pompe afin de déceler d'éventuelles différences de croissance. Des comportements anormaux lors des périodes de mortalité pourraient également être une source d'informations.

Une autre sonde TSP a été installée dans une poche sur la table ostréicole des lots d'huîtres creuses installées à Bascatique cf partie 3.2.3). Elle est donc soumise exactement aux mêmes conditions que les huîtres de cette table.

3.2.2. Chlorophylle et phytoplancton

Le site de Kerpenhir, le plus proche de la baie de Quiberon, devrait subir davantage les influences océaniques que les deux autres sites, plus estuariens. La cinétique phytoplanctonique impose un rythme de prélèvement relativement élevé, mais les lectures sont longues. La mesure de la concentration en chlorophylle est plus rapide.

A partir de ces éléments a été déterminée la stratégie d'échantillonnage suivante:

- un prélèvement bihebdomadaire (lundi et jeudi) pour les mesures de chlorophylle, de phéophytine et de turbidité sur les sites de Kerpenhir et Fort Espagnol
- un prélèvement hebdomadaire (jeudi) pour les lectures de phytoplancton sur le site de Fort Espagnol

Ces prélèvements se font à mi-marée montante, à partir du bord (le manipulateur s'avance jusqu'à mi-cuisse en prenant garde de ne pas soulever la vase) et à une profondeur approximative de 50 cm. La technique consiste à plonger la bouteille à prélèvement goulot vers le bas et la retourner ensuite pour la remplir à la profondeur désirée.

- deux transects, l'un au cours d'une marée de vive eau, l'autre au cours d'une marée de morte eau, sur un axe joignant Fort Espagnol et Bascatique, sur 5 points (estran, bord du chenal, milieu du chenal, bord du chenal et estran de la rive opposée) et à plusieurs profondeurs (en cours).
- deux cycles d'échantillonnage, l'un au cours d'une marée de vive eau, l'autre au cours d'une marée de morte eau, sur une durée de 24 heures et toutes les heures. Ces échantillonnages sont réalisés par un échantillonneur automatique, l'eau étant pompée par la station de mesure de Kérivaud (en cours).

Ces deux dernières séries doivent montrer si la stratégie d'échantillonnage retenue est représentative dans l'espace et dans le temps de l'évolution des paramètres étudiés.

Les échantillons d'eau de mer sont ensuite traités au laboratoire:

- fixation par du formol à 4% et du lugol pour les comptages de phytoplancton en microscopie photonique
- mesure de la turbidité par absorption lumineuse
- mesure de la chlorophylle et de la phéophytine par fluorimétrie (annexe 5)

3.2.3. Suivi de lots de naissain et de "18 mois"

Huîtres utilisées

Il s'agit de :

- naissain capté en 1996 à Arcachon, ayant fait un passage en nurserie à la station IFREMER de Bouin (Vendée) d'octobre à novembre 1996, puis prégressi dans l'Aber Wrach (Finistère Nord) jusqu'en février 1997
- " 18 mois " capté en 1995 à Arcachon et prégressi en Penzé (Baie de Morlaix) de mars 1996 à février 1997

Organisation sur les sites

Pour chacun des sites a été adoptée la même disposition :

- 1 poche rigide, de maille de 5 mm, de 200 naissains (comptage précis)
- 1 poche souple, de maille de 10 mm, de 200 "18 mois" (comptage précis)
- 5 poches souples, de maille de 5 mm, de 500 naissains environ (au poids)

Ces poches sont disposées sur 2 tables ostréicoles alignées sur des concessions ostréicoles professionnelles, découvrant à des coefficients de marée de 70.

Comptage et échantillonnage

A chaque marée de vive eau et pour chacun des sites, on effectue les mêmes opérations:

- un comptage des mortalités sur les poches de 200 naissains et 200 "18 mois" avec élimination des mortes à chaque fois
- un prélèvement de 30 individus dans une des poches de 500 naissains, en changeant de poche à chaque marée, afin de réaliser au laboratoire des mesures biométriques
- deux prélèvements de 30 individus dans 2 poches de 500 naissains, pour analyse par PCR au laboratoire
- un comptage sur une fraction (entre 100 et 200 individus) de chacune des poches de 500 naissains après mélange dans un récipient. Si des mortes sont trouvées dans ces poches, elles y sont remises pour faciliter les comptages ultérieurs (nombre d'animaux imprécis et comptage que sur une fraction de la poche) et se rapprocher des pratiques des professionnels qui ne retirent pas les huîtres mortes des poches au cours des phénomènes de mortalité.

Lors de la biométrie, sont mesurés les paramètres suivants :

- longueur
- poids total
- poids de coquille
- poids de chair égouttée
- maturité (critères macroscopiques, note de 0 à 3, annexe 6)
- poids sec (après étuvage ou lyophilisation pour les lots dosés en glycogène)
- glycogène (analyses sous-traitées par le laboratoire d'analyses de Brest Océan)
- infestation par *Polydora* sp (critères macroscopiques, annexe 7)



fig 27 : température de l'eau en 1995 et 1996

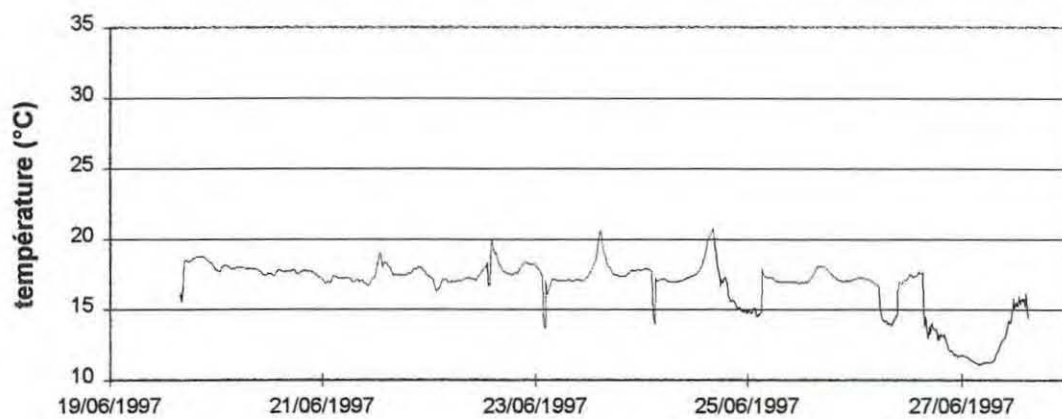


fig 28 : température de l'eau à la station de Kerivaud en 1997

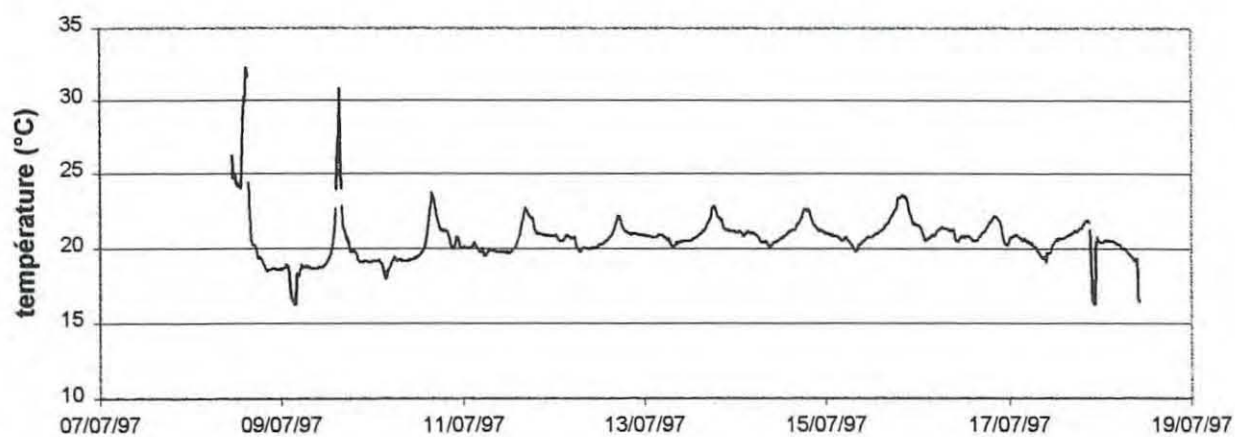


fig 29 : température dans une poche ostréicole à Bascatique en 1997

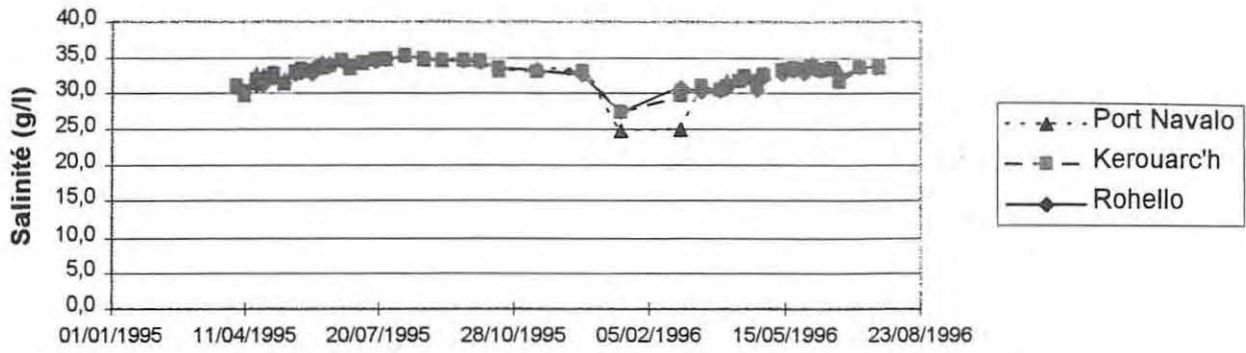


fig 30 : salinité en 1995 et 1996

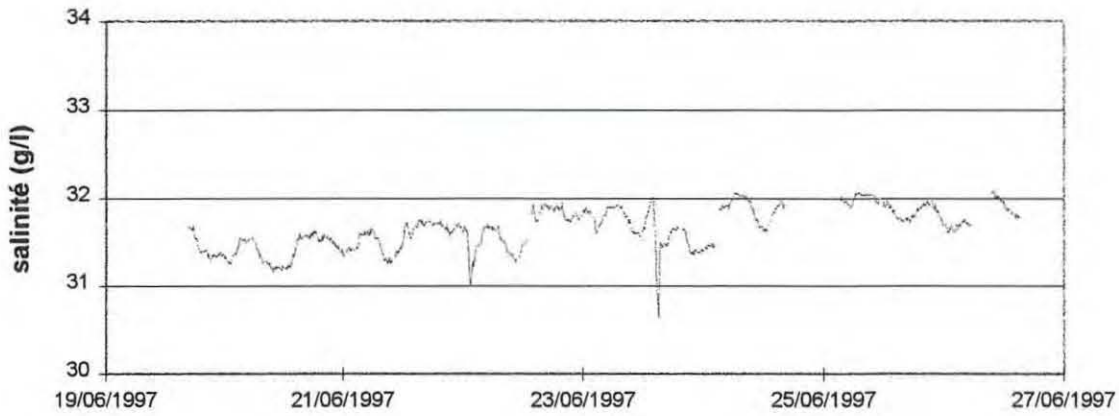


fig 31 : salinité à la station de Kerivaud en 1997

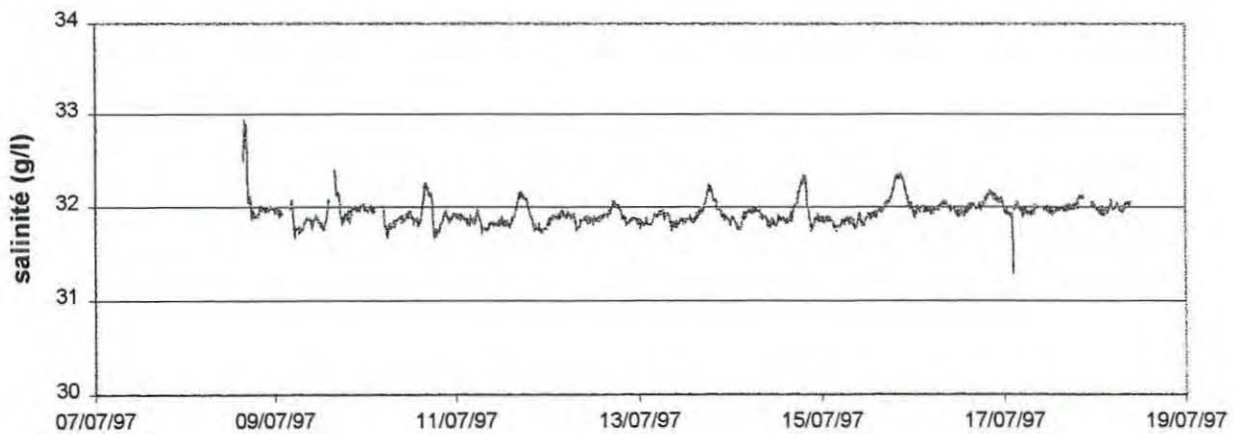


fig 32 : salinité dans une poche ostréicole à Bascatique en 1997

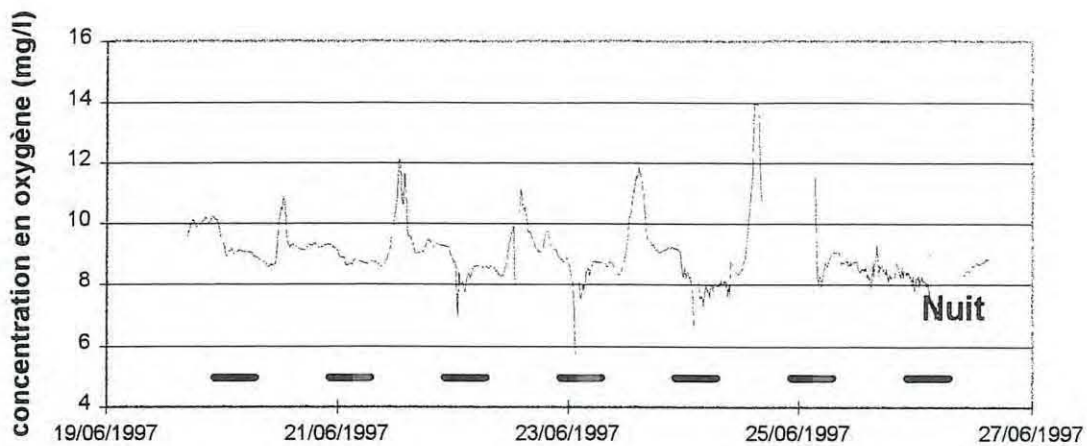


fig 33 : oxygène dissous à la station de Kerivaud en 1997

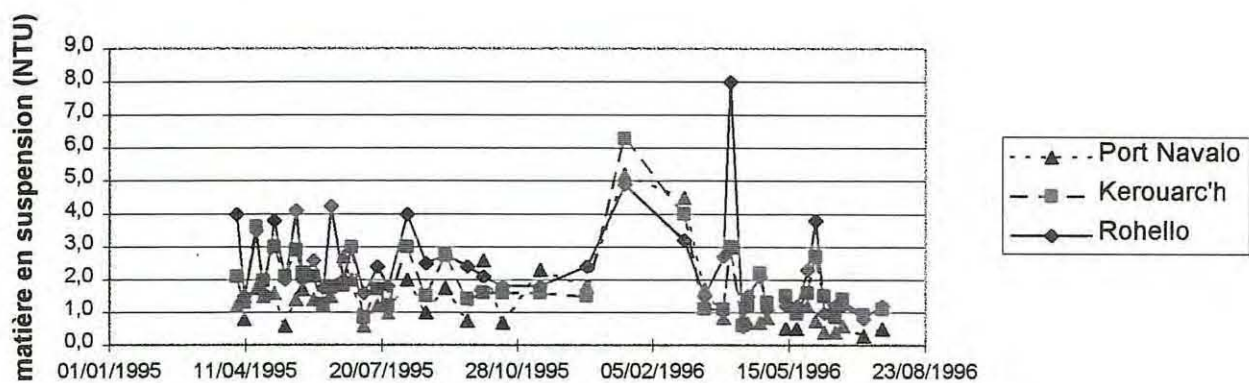


fig 34 : matière en suspension en 1995 et 1996

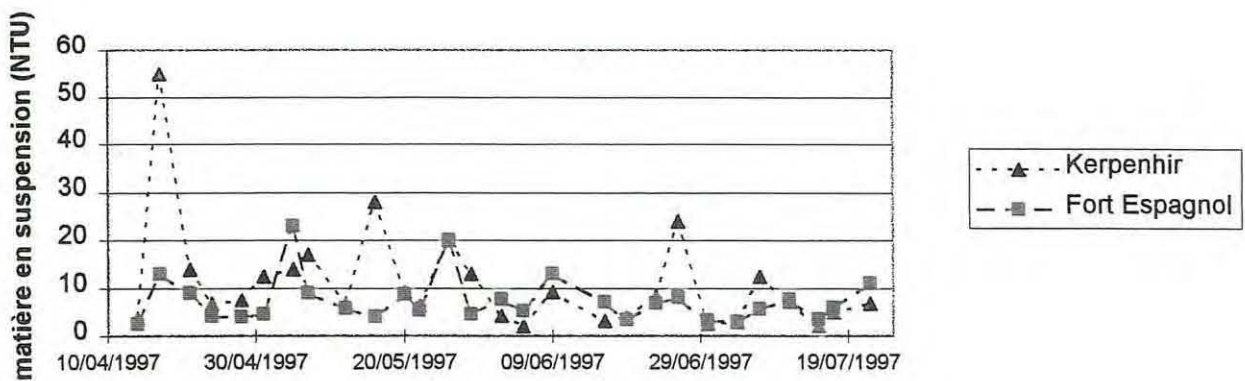


fig 35 : matière en suspension en 1997

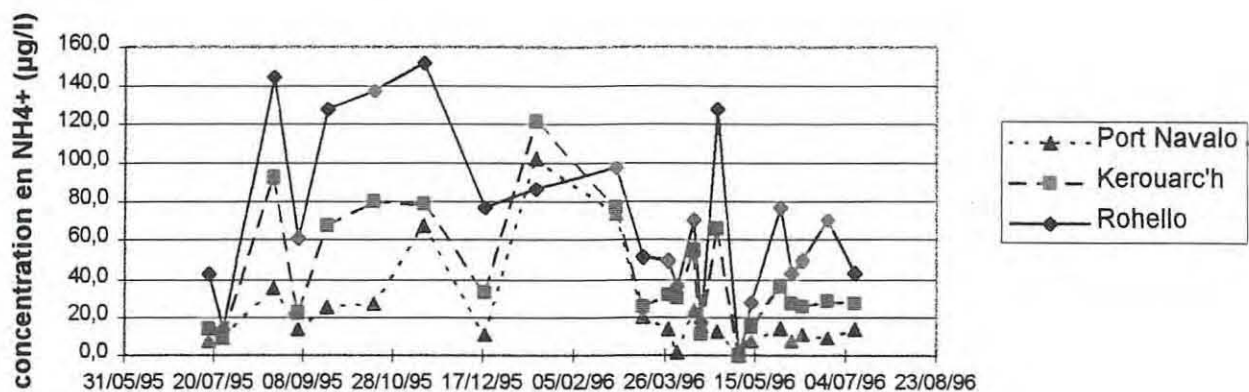


fig 36 : concentration en NH_4^+ en 1995 et 1996

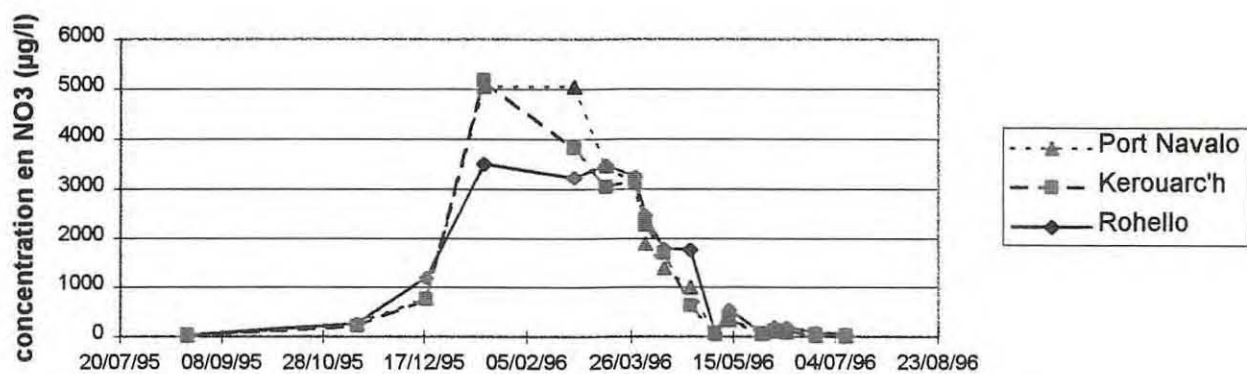


fig 37 : concentration en NO_3^- en 1995 et 1996

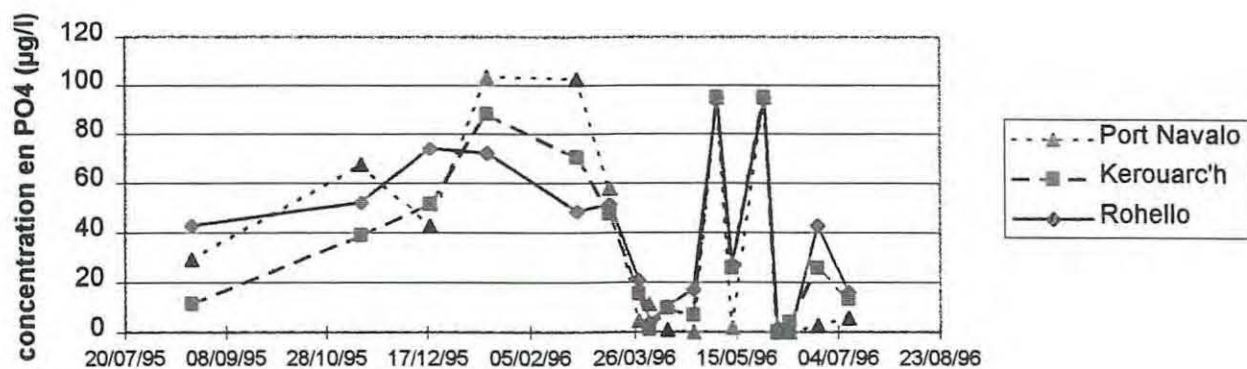


fig 38 : concentration en PO_4^{3-} en 1995 et 1996

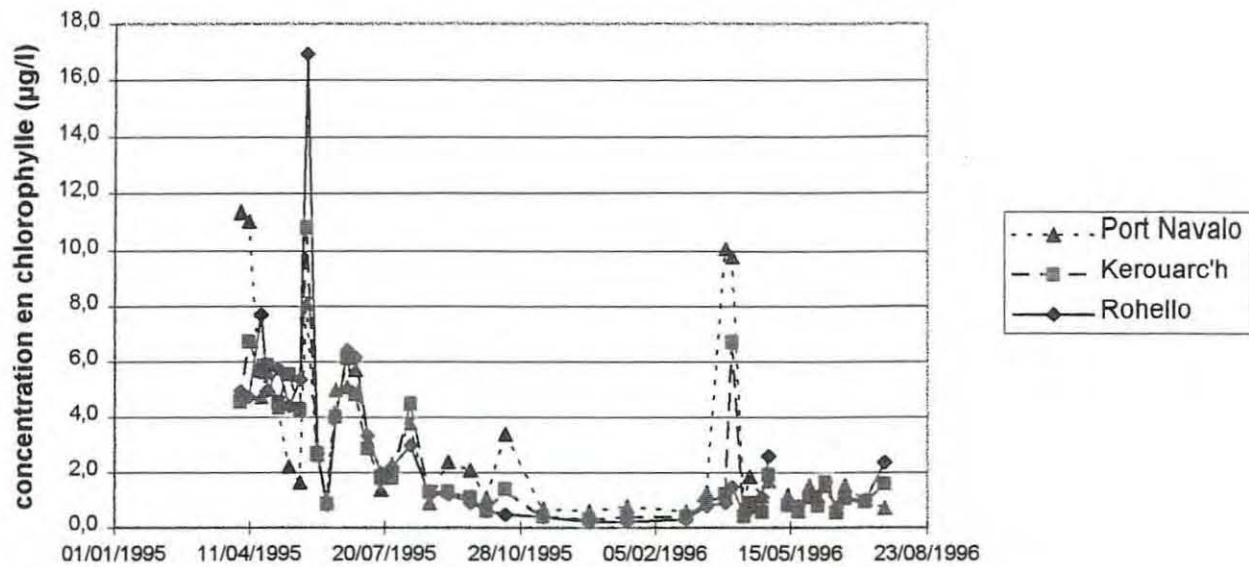


fig 39 : concentration en chlorophylle en 1995 et 1996

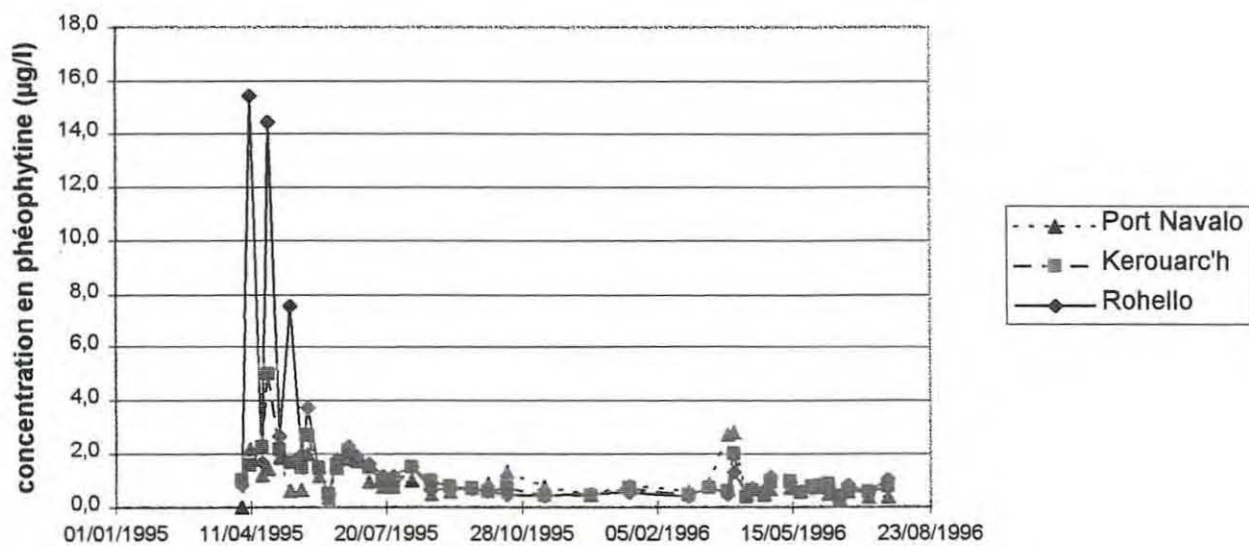


fig 40 : concentration en phéophytine en 1995 et 1996

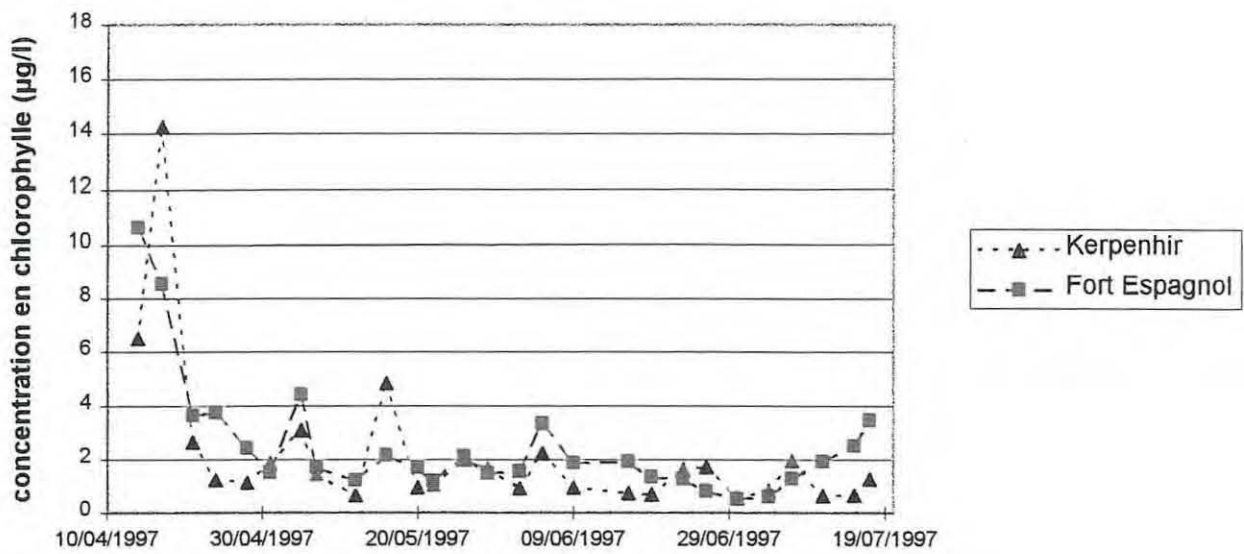


fig 41 : concentration en chlorophylle en 1997

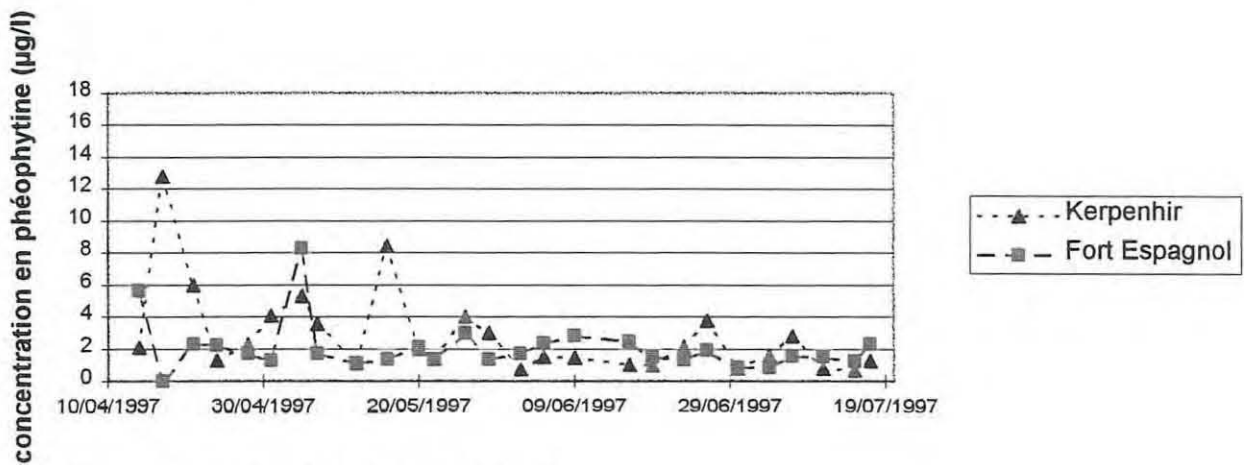


fig 42 : concentration en phéophytine en 1997

3.3. Résultats

3.3.1. Paramètres physico-chimiques:

De nombreux problèmes techniques ont perturbé le bon fonctionnement de la station de mesure de Kerivaud, qui n'a donc pas fonctionné en continu au cours de l'été. Nous disposons toutefois de mesures recouvrant la période de mortalité des lots IFREMER.

La température de l'eau (fig 27 et 28) est généralement plus élevée en amont et atteint un maximum de 20-22°C en été. La sonde TSP mise en poche montre des variations courantes de 4°C en une journée (fig 29). On observe également des pics de température à l'air à plus de 30°C lors des marées de vive eau du 8 au 10 juillet ce qui représente des écarts de températures de plus de 15°C.

La salinité (fig 30) est relativement stable au cours des saisons. On note tout de même une chute importante et prolongée de celle-ci en janvier-fevrier 1996. Les mesures plus fines (fig 31 et 32) montrent de légères variations entre 31 et 33 g/l.

L'oxygène dissous (fig 33) oscille entre 8 et 12 mg/l avec quelques rares et courts pics à 7 mg/l. On peut observer par ces mesures, l'influence de la respiration et de la photosynthèse algales.

La matière en suspension subit de nombreuses variations (fig 34 et 35) sans dominance amont ou aval. Les mesures réalisées en 1997 montrent des valeurs plus élevées. Les échantillons ont été réalisés cette année là à partir du bord, et non d'une embarcation et à proximité des parcs ostréicoles, points où l'eau était facilement agitée, et donc troublée, par le vent.

Les paramètres NH_4^+ , NO_3^- et PO_4^{3-} subissent de nombreuses variations (fig 36 à 38).

3.3.2. Chlorophylle et phéophytine

En 1995 (fig 39 et 40) les concentrations en chlorophylle et phéophytine étaient importantes tout au cours du printemps. Lors des phénomènes de mortalité les concentrations en chlorophylle atteignaient des valeurs comprises entre 2 et 6 $\mu\text{g/l}$. Il n'y a pas eu pour cette période de différences notables entre les trois points d'échantillonnage.

En 1996 (fig 39 et 40) les concentrations en chlorophylle et phéophytine sont plus faibles lors de la période printanière. On observe un bloom fin mars. Les concentrations avoisinaient 1 $\mu\text{g/l}$ lors des phénomènes de mortalité à la même période. Il n'y a pas eu non plus de différences entre les points à cette période.

En 1997 (fig 41 et 42) les valeurs des concentrations sont élevées fin mars (10 à 14 $\mu\text{g/l}$). Elles sont de 1 $\mu\text{g/l}$ environ, lors des phénomènes de mortalité.

3.3.3. Phytoplancton

Aucune espèce phytoplanctonique toxique pour les huîtres n'a été observée lors de cette étude.

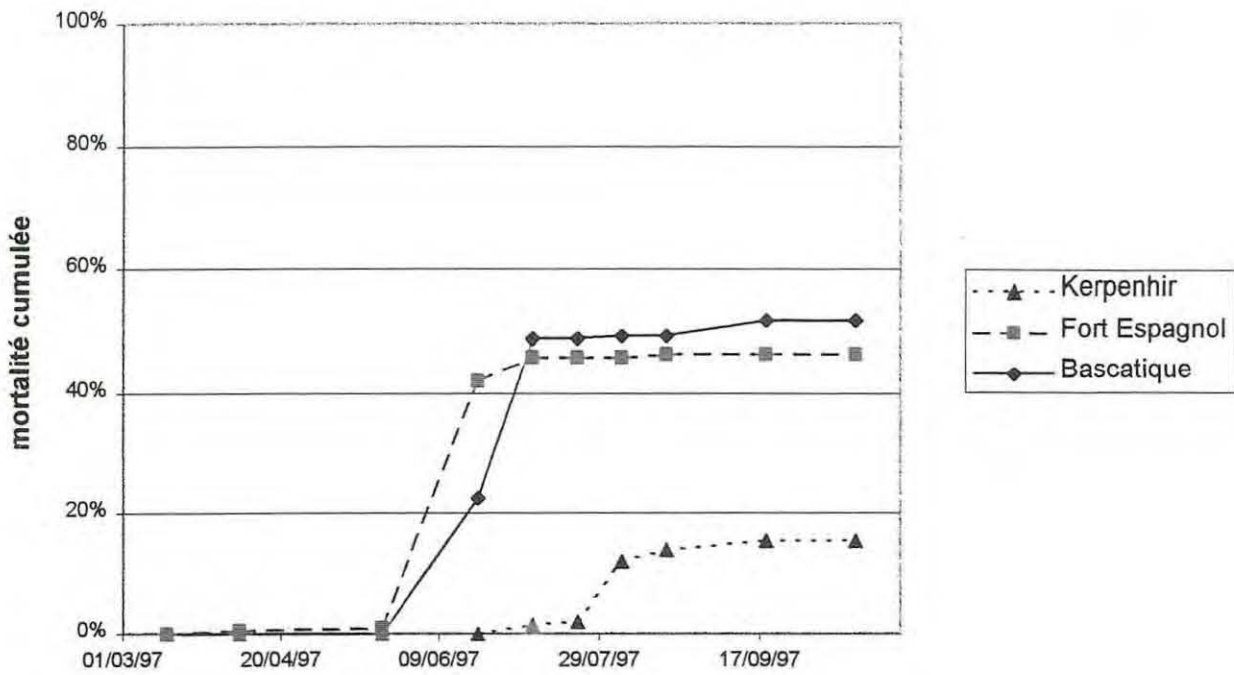


fig 43 : taux de mortalité cumulé des lots de naissain IFREMER

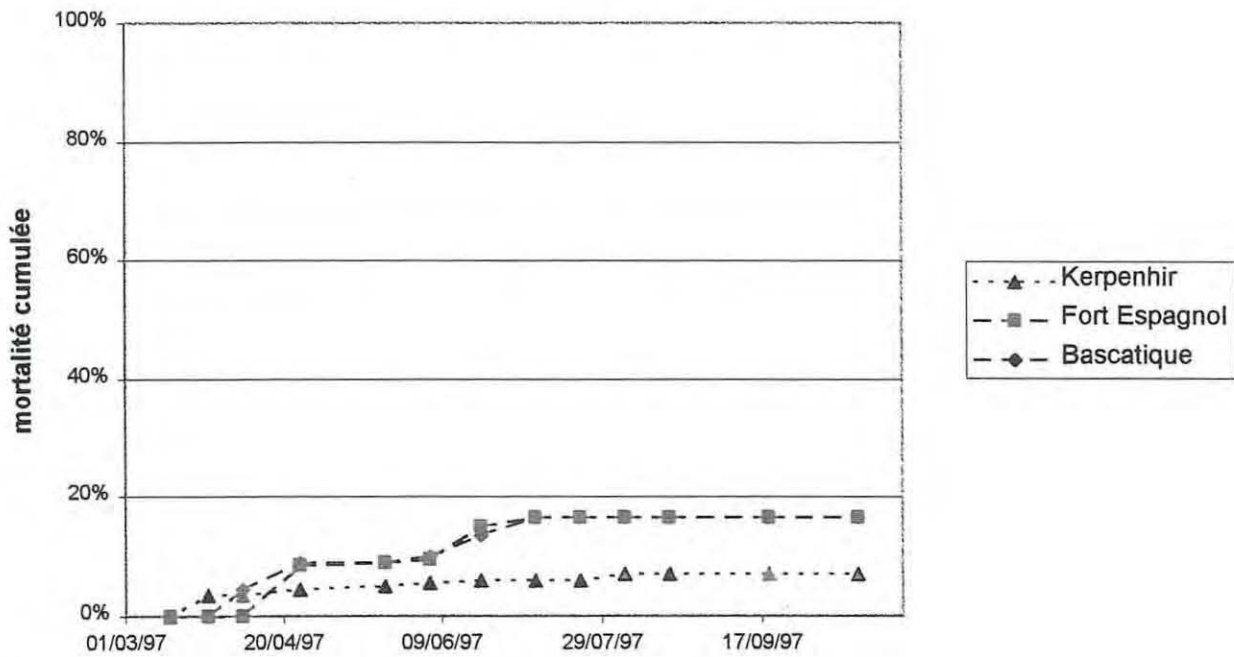


fig 44 : taux de mortalité cumulé des lots de « 18 mois » IFREMER

3.3.4. Suivi de lots de naissain et de "18 mois"

Mortalité

Le comptage des poches de 200 individus nous donne la courbe de mortalité du naissain (fig 43) et celle du "18 mois" (fig 44).

En ce qui concerne le naissain, les premières mortalités sont observées à Fort Espagnol et Bascatique lors des marées de vive eau du 22 au 25 juin. On a une augmentation jusqu' à la marée de vive eau du 7 au 9 juillet. Des mortalités plus faibles apparaissent sur le site de Kerpenhir à la fin de l'été. Les taux de mortalité cumulés atteignent des valeurs de 52 % pour Bascatique, 46,5 % pour Fort Espagnol et 15.5 % à Kerpenhir au 17 octobre.

Il faut noter qu'au cours de la marée de fin juin le constat des mortalités s'est fait sur des animaux morts récemment ou en train de mourir. En effet, le comptage s'est fait sur des animaux ouverts et à la chair non putréfiée ou sur des huîtres "cloquantes". A la marée de début juillet, le comptage s'est fait sur des coquilles vides et sales, donc des animaux morts depuis quelques temps, sans pouvoir dater précisément. Il semble donc que la période importante de mortalité a été courte à Bascatique et Fort Espagnol, lors de la seconde quinzaine de juin.

Le "18 mois" présente des mortalités plus étalées dans le temps. Au 17 octobre on a 7% de mortalité cumulée pour Kerpenhir et 16,5% pour les deux secteurs amont. On n'a donc pas de mortalité aiguë mais une différence entre les sites en amont et en aval de la rivière.

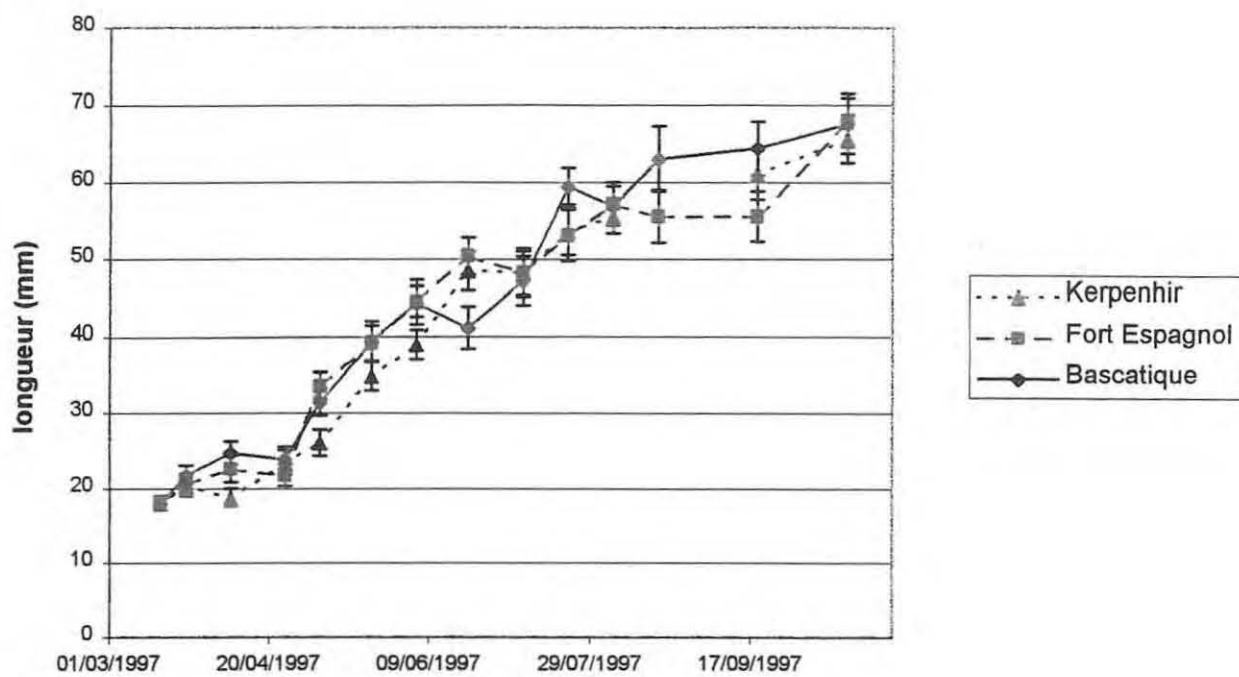


fig 45 : évolution de la longueur des lots de naissain IFREMER

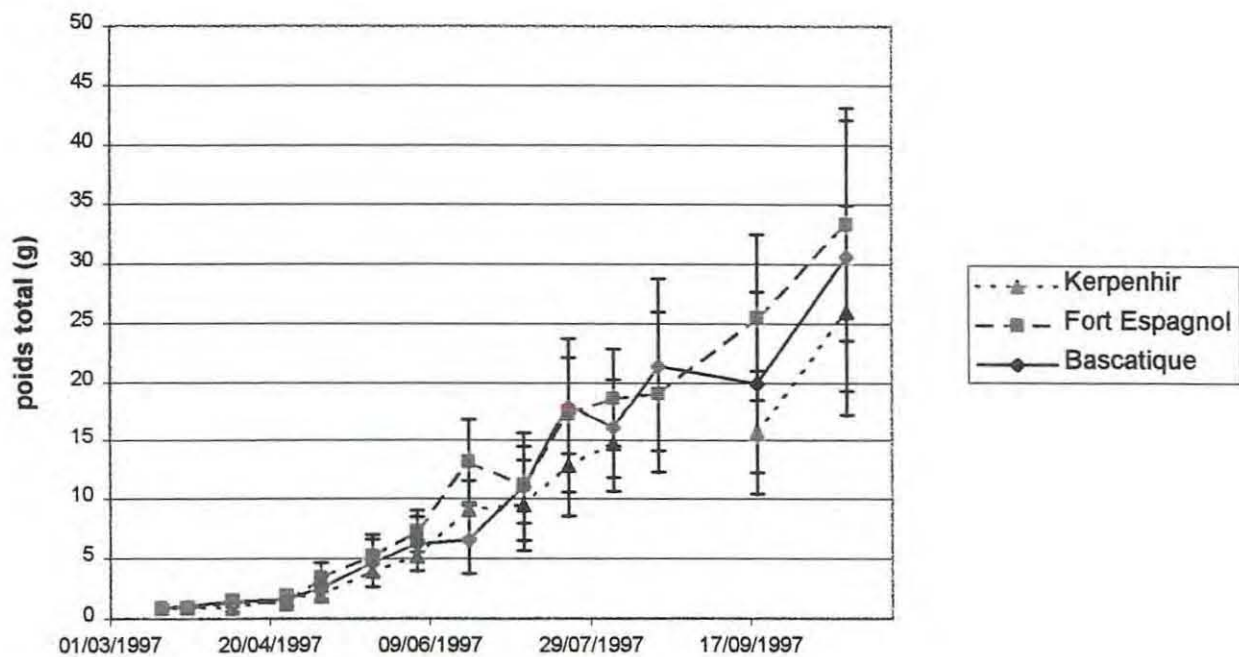


fig 46 : évolution du poids total des lots de naissain IFREMER

Tableau 8: taux de mortalité cumulée en % des différentes poches des lots de 500 naissains IFREMER

Kerpenhir (%) Poche	A	B	C	D	E
5/6/97	0	0	0	0	0
21/6/97	2.91	0.41	0.00	0.51	0.00
8/7/97	4.46	0.00	0.00	0.46	0.00
22/7/97	3.14	1.52	0.00	0.00	0.00
5/8/97	6.25	5.36	2.42	1.13	2.17
19/8/97	6.18	0	2.83	1.01	0.00
17/10/97	6.97	5.04	1.38	2.97	0.29
Fort Espagnol % Poche	F	G	H	I	J
5/6/97	0	0	0	0	0
21/6/97	20.93	34.88	36.50	29.87	34.97
8/7/97	35.71	31.90	33.81	42.39	39.39
22/7/97	30.51	32.03	36.36	42.85	39.24
5/8/97	23.53	36.36	41.18	36.99	34.61
19/8/97	34.81	54.87	35.10	53.47	42.10
17/10/97	35.89	45.86	42.80	71.26	42.80
Bascatique % Poche	K	L	M	N	O
5/6/97	0	0	0	0	0
21/6/97	29.63	20.00	21.43	19.89	29.61
8/7/97	36.75	54.95	44.68	40.21	48.41
22/7/97	44.97	43.35	36.15	44.15	48.03
5/8/97	49.44	49.68	50	46.83	50.89
19/8/97	42.70	56.86	45.25	43.52	44.44
17/10/97	48.85	53.97	40.14	50.83	36.92

Sur les poches de 500 individus, on observe également des taux de mortalité importants en amont et faibles en aval.

Les constatations sur l'évolution des taux (apparition le 21/6 et augmentation le 8/7) ainsi que sur l'état des animaux (mortalités récentes puis coquilles vides) sont les mêmes que sur les poches de 200 animaux.

Il faut noter quelques différences d'une poche à l'autre et parfois des taux inférieurs à ceux de la marée précédentes pour une même poche. Il s'agit d'un aléa d'échantillonnage.

Il existe également des différences entre les poches de 200 individus et les poches de 500 liées à la densité.

Croissance

On peut observer une meilleure croissance en longueur et poids (fig 45 et 46) sur les sites en amont de la rivière (Fort Espagnol et Bascatique). Il faut noter une baisse de la courbe des huîtres de Bascatique vers la fin juin et de celles de Fort Espagnol vers le début juillet pour les deux paramètres considérés. Il s'agit peut être d'un aléa d'échantillonnage. Les courbes reprennent ensuite une allure normale.

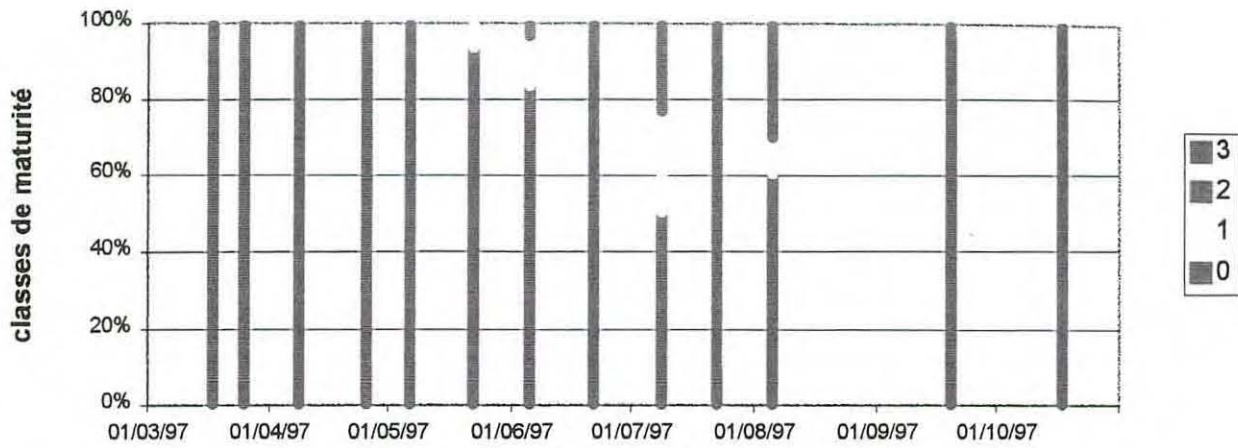


fig 47 : évolution de la maturité du lot de naissain IFREMER à Kerpenhir

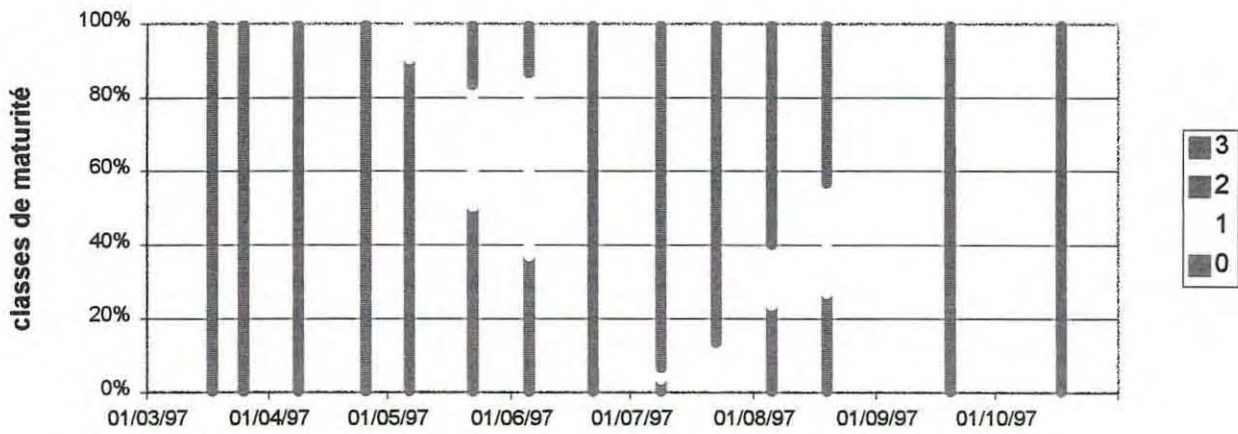


fig 48 : évolution de la maturité du lot de naissain IFREMER à Fort Espagnol

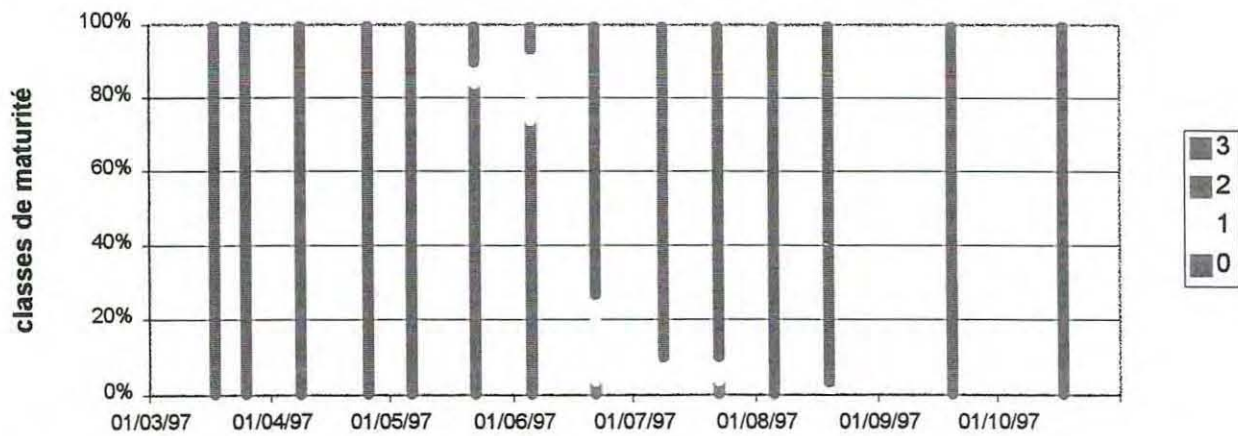


fig 49 : évolution de la maturité du lot de naissain à Bascatique

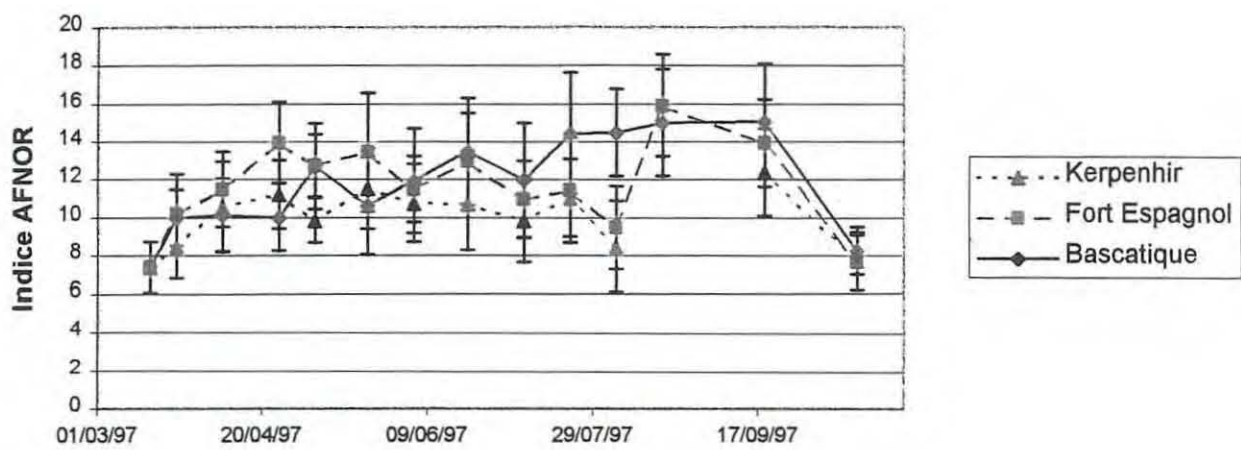


fig 50 : évolution de l'indice AFNOR des lots de naissain IFREMER

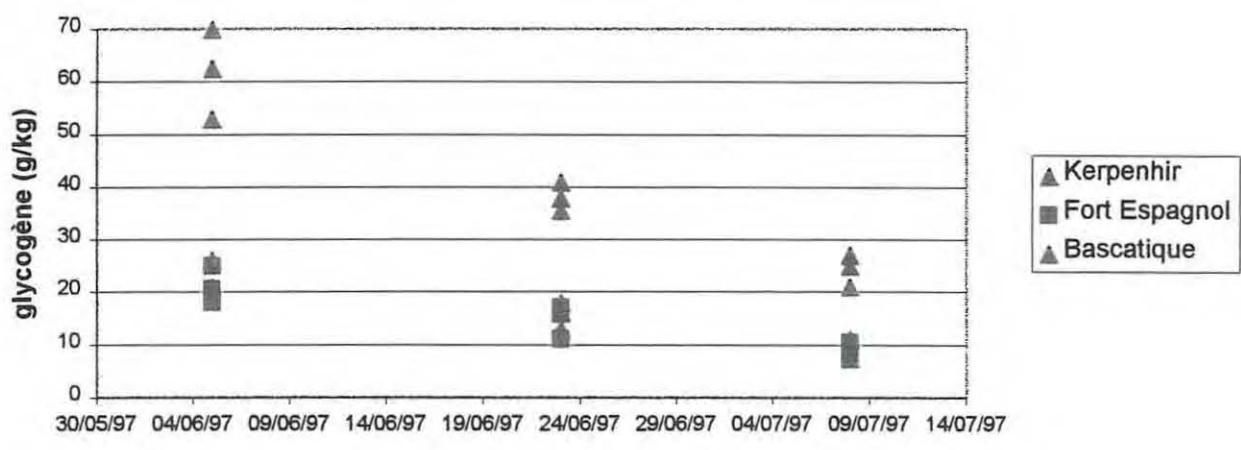


fig 51 : évolution du taux de glycogène des lots de naissain IFREMER

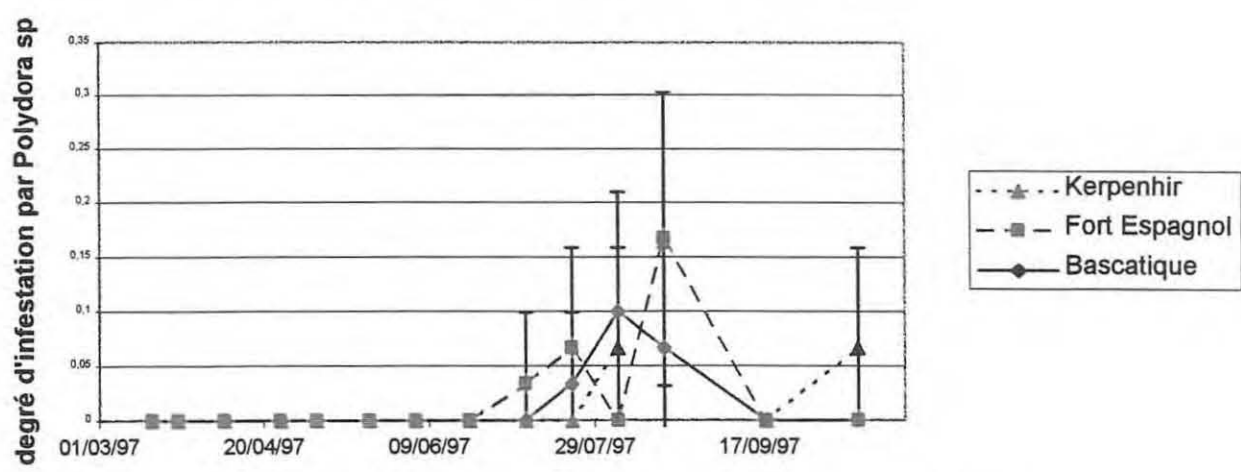


fig 52 : évolution de l'infestation par Polydora sp des lots de naissain IFREMER

Maturité

On note une maturité plus précoce et une proportion supérieure d'animaux matures sur les sites en amont. Ces différences étaient notables notamment lors des mortalités affectant ces lots (fig 47 à 49).

Les baisses sensibles ponctuelles peuvent être dues à des pontes partielles.

De même la baisse marquée fin juillet sur les sites de Kerpenhir et Fort Espagnol peut être due à l'émission des gamètes.

Indice AFNOR (norme française de l'indice de qualité des huîtres creuses, 1985)

Cet indice est donné par la formule : poids de chair égouttée*100/poids total. L'allure des courbes est assez différente (fig 50) selon les sites mais très irrégulière dans tous les cas. Kerpenhir est assez stable puis est marqué par une chute finale. Fort Espagnol montre un bon démarrage puis une chute. Bascatique à une tendance à l'engraissement.

Les variations peuvent être dues à des pontes partielles étalées ou d'un engraissement très rapide après une ponte groupée. On peut penser à une meilleure productivité trophique à Bascatique.

Concentration en glycogène

Les dosages de glycogène ont été réalisés sur 3 pools de 10 individus de chacun des sites pour chaque date. Les dates retenues pour ces dosages sont celle du début des mortalités (fin juin), la précédente et la suivante. 27 pools de 10 animaux ont donc été dosés en glycogène (fig 51).

Les animaux du site de Bascatique présentent les concentrations en glycogène les plus importantes (entre 50 et 70 g/kg initialement). Les animaux des autres sites présentent des résultats très proches (15 à 25 g/kg initialement). Pour la période de dosage donnée, les valeurs des concentrations en glycogène des trois sites chutent d'au moins 50 %.

Infestation par *Polydora sp*

Les cas d'infestation par le *Polydora sp* sont rares et à un faible degré (fig 52).

Résultats PCR

Des analyses PCR ont été réalisées sur les animaux à partir du début des mortalités (fin juin) et à chaque échantillonnage. 90 pools de 5 individus ont été analysés en PCR.

Tableau 9: résultat des analyses PCR des lots de naissains IFREMER

Date	Site (nb de pools positifs/nb de pools analysés)		
	Kerpenhir	Fort Espagnol	Bascatique
21/6/97	0/12	1/12	1/12
8/7/97	0/6	0/6	0/6
22/7/97	0/6	0/6	0/6
19/9/97	1/6	0/6	0/6

Des analyses histologiques ont également été réalisées (fixation Carson et coloration feulgen) pour les sites de Kerpenhir et fort Espagnol sur des échantillons prélevés le 22 juillet. 20 individus ont donc été observés par microscopie photonique, sans rien révéler.

3.4. Discussion

Le suivi des différents paramètres du milieu ne révèle pas de variations importantes ou des valeurs extrêmes lors des mortalités. Un point intéressant à noter est les écarts de température que peuvent subir les huîtres, surtout lors des exondations au cours des marées de vive eau. Il serait intéressant de pouvoir comparer ces écarts de température pour les trois modes d'élevage (sol, tube et poche). Un stress lié à la température semble pouvoir en effet déclencher la multiplication du virus de type herpès (Baud et Renault, com. pers.).

L'étude du phytoplancton n'a pas montré de bloom de phytoplancton toxique pour les huîtres. On peut penser qu'un point et un rythme hebdomadaire d'échantillonnage pouvait limiter la possibilité d'observer un tel bloom. Cependant, l'hypothèse de mortalités liées à une espèce de phytoplancton toxique sur toute la rivière d'Auray, et même le littoral français, sur une période courte et répétée d'année en année, reste douteuse.

Les dosages de chlorophylle, et de phéophytine, montrent que les années 96 et 97 sont pauvres en comparaison de 95. Les phénomènes de mortalité semblent moins importants en 96 et 97 par rapport à 95.

D'autre part, sur les lots IFREMER, les résultats de croissance pondérale et de maturation sont meilleurs en amont qu'en aval. Les mortalités sont également plus importantes en amont qu'en aval. Enfin, les dosages de glycogène montrent une diminution, liée très probablement à la gamétogénèse, mais sans différence amont-aval, seul Bascatique ayant des valeurs supérieures.

L'hypothèse de mortalités liées à un affaiblissement des animaux du à un déficit trophique semble devoir être rejetée.

Les analyses pathologiques montrent des résultats faiblement positifs (1 pool/12) en PCR sur des échantillons prélevés lors des mortalités à Bascatique et Fort Espagnol. D'autre part, on a également un résultat positif (1 pool/6) pour un échantillon de Kerpenhir en dehors d'un épisode de mortalité (les comptages ont montré des mortalités sur la poche de 200 individus mais pas dans celles de 500, poches dans lesquelles sont faits les prélèvements pour PCR).

La technique de PCR employée, sensible à 2500 copies et ayant quelques problèmes de répétabilité, révélés au cours d'essais menés en août 97, ainsi que le type d'animaux prélevés, les survivants d'un épisode de mortalité, suggèrent que l'on puisse ne pas détecter l'ADN du virus de type herpès. On peut en effet avoir soit des survivants qui n'ont peut être jamais été infectés ou des animaux infectés mais avec des quantités d'ADN viral trop faibles et donc en dessous du seuil de détection, ou encore des problèmes liés à la technique. Une nouvelle technique de PCR, sensible à 50 copies d'ADN, devrait être employées prochainement.

On n'a donc pas mis en évidence la relation mortalité et présence du virus de type herpès.

Des tests d'écotoxicité du sédiment sur larves d'huîtres creuses étaient programmés mais n'ont pu être réalisés. Ces tests auraient pu mettre en évidence une éventuelle toxicité du milieu. Par exemple, l'observation en rivière d'Auray de coquilles d'huîtres adultes chambrées montre la contamination par le TBT. De tels polluants ont un effet négatif sur l'immunité des mollusques (Oubella, 1996).

Si aucun facteur n'est mis en évidence, on observe sur les lots IFREMER des mortalités similaires à celles subies par les cheptels professionnels. Ces derniers décrivent des mortalités affectant les lots présentant une maturité importante, observation que l'on peut également faire sur les lots de naissains IFREMER. La maturité pourrait être un facteur favorisant l'expression d'un agent pathogène (Soletchnik et al, 1997).

On peut émettre une série d'hypothèses. Les sites d'élevage situés en amont sont favorables à la maturation des huîtres de un an. Les huîtres élevées sur ces sites pourraient donc être plus sensibles à un agent pathogène. Le virus de type herpès, ayant été soit transmis verticalement, les huîtres étant donc déjà infestées lors de la mise sur site, soit transmis horizontalement sur le site d'élevage trouverait alors un terrain favorable à son expression avec ou sans un facteur de stress déclenchant. Ainsi les cheptels situés en amont subiraient des mortalités plus importantes.

Ces hypothèses soulignent les efforts de recherche à fournir en matière de connaissances fines du milieu de la rivière d'Auray et du virus de type herpès (résistance, transmission, pathogénicité...).

CONCLUSION

Cette étude, contractualisée avec la Section Régionale Conchylicole de Bretagne Sud, se voulait volontairement pluridisciplinaire. La multiplicité des axes d'étude impliquait une simplification des protocoles, et donc des résultats.

La difficulté d'une enquête épidémiologique a donc été ainsi mise en évidence. Les contraintes spécifiques au type d'espèce, au mode d'élevage et à la profession apparaissent plus clairement et orientent vers une stratégie plus adaptée.

Si les résultats de cette étude ne peuvent expliquer les phénomènes de mortalité des juvéniles d'huîtres creuses, ils permettent en revanche d'écartier certaines hypothèses et d'en émettre de nouvelles.

Enfin, l'association du travail de terrain à celui de laboratoire permet d'équilibrer les objectifs de l'étude et les contraintes techniques imposées, mais aussi d'avoir une vision plus large du phénomène étudié.

BIBLIOGRAPHIE

BAILLEUL Julien, 1996. Digitalisation du cadastre conchylicole de la rivière d'Auray et analyse de l'évolution du parcellaire dans l'anse de Bascatique entre 1972 et 1996. Rapport de stage ENSA Rennes. 25 p.

BAILLEUL Julien, 1996. Intégration des données du cadastre conchylicole dans la perspective de mise en place d'une application SIG. Dynamique du parcellaire conchylicole et évaluation des conflits d'usage dans le golfe du Morbihan. Mémoire de Maitrise des Sciences et Techniques de l'Aménagement de l'Institut de Géographie et d'Aménagement Régional de l'Université de Nantes. 167 p et annexes.

CATHERINE Martial, DUMONT François, MENANTEAU Chantal et PEZERON Annie, 1996. Anomalies des coquilles d'huîtres creuses *Crassostrea gigas* dues à *Polydora sp.*, observées sur les traicts de Pen Be et de Mesquer (Loire Atlantique) de 1988 à 1989. R.Int. Direction de l'Environnement et de l'aménagement Littoral IFREMER Nantes. 43 p.

Collectif, 1984. Inventaire des secteurs conchylicoles. Rapport IFREMER.

COMPS M., 1970b. Observations sur les causes de d'une mortalité anormale des huîtres plates (*Ostrea edulis L.*) dans le bassin de Marennes. Rev. Trav. Pêches Marit., 40(2) : 347-349.

ELSTON R.A., FARLEY C.A. et KENT M.L., 1986. Occurrence and significance of bonamiosis in European flat oyster, *Ostrea edulis*, in North America. Dis. Aquat. Org., 2 : 49-54.

GLEMAREC Yves-Marie, 1996. Influence des facteurs environnementaux sur la croissance et la mortalité du naissain de *Crassostrea gigas*. Rapport de stage de DESS "Exploitation des ressources vivantes côtières" de l'Université de Caen. Mai-Octobre 1996. 44p.

GRIZEL H., COMPS M., COUSSERANS F., BONAMI J.R. et VAGO C., 1974. Etude d'un parasite de la glande digestive observé au cours de l'épizootie actuelle de l'huître plate. C.R. Acad. Sci. Paris, Série D, 279 : 783-784.

LE DEUFF Rose-Marie, 1995. Contribution à l'étude de virus de mollusques marins apparentés aux *Iridoviridae* et aux *Herpesviridae*. Thèse de Doctorat de l'Université de Bordeaux II, mention: sciences biologiques et médicales, option: biologie-santé. 234 p.

LE MOINE Gérard, 1990. Influence des sédiments sur les rendements conchylicoles. R.Int. Laboratoire Ressources Aquacoles IFREMER La Trinité. 38 p.

MARCAILLOU Boris, CAMUS Patrick, DANIEL Franck, 1996. Caractéristiques sédimentaires du golfe du Morbihan: granulométrie, teneurs en eau, matière organique et phosphore total. Rapport d'étude IFREMER et ODEM. 46 p et cartes.

MARCOS F., JANIN J.M., LE SAUX J.M., 1995. Modélisation hydrodynamique du golfe du Morbihan. Rapport EDF, Direction des Etudes et Recherches, Service Applications de l'Electricité et Environnement, Département Laboratoire National d'Hydraulique. 46 p, figures et cartes.

NICOLAS J.L., COMPS M. et COCHENNEC N., 1992. Herpes-like virus infecting Pacific oyster larvae, *Crassostrea gigas*. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 12(1) : 11-13.

OUBELLA Radouane, 1996. Reponse immunitaire chez les mollusques bivalves. Effets de facteurs environnementaux sur le système de défense immunitaire. Thèse de Doctorat de l'Université de Bretagne Occidentale, mention Océanographie Biologique. 160 p et annexes.

PREFECTURE DU Morbihan, 1990. Observatoire de l'eau. Rapport de synthèse. 76 p.

PREFECTURE DU Morbihan, 1995. Observatoire de l'eau. Rapport de synthèse. 83 p.

PREFECTURE DU Morbihan, 1996. Observatoire de l'eau. Rapport de synthèse. 90 p.

RENAULT Tristan, COCHENNEC N., LE DEUFF Rose-Marie et CHOLLET Bruno, 1994. Herpès-like virus infecting Japanese Oyster (*Crassostrea gigas*) spat. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 14(2), 64, 1994.

RENAULT Tristan, 1996. Session de formation à l'utilisation de la technique PCR pour le diagnostic de l'infection à Herpèsvirus chez les huîtres. De la grande théorie aux petites recettes. Doc. Int. 23 et 24 avril 1996.

RENAULT Tristan, 1997. Programme Herpèsvirus. Synthèse des travaux réalisés au laboratoire IFREMER de La Tremblade. Mars 1996-Février 1997. R. Int. IFREMER GAP. 60 p.

SARRADIN Pierre-Marie, 1993. Répartition et évolution du tributylétain dans les sédiments marins. Thèse de Doctorat de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour, mention: chimie et microbiologie de l'eau. 148 p.

SOLETCHNIK Patrick, RAZET Daniel, GEAIRON Philippe, FAURY Nicole et GOULETQUER PHILIPPE, 1997. Ecophysiologie de la maturation sexuelle et ponte de *Crassostrea Gigas*: réponses métaboliques (respiration) et alimentaires (filtration, absorption) en fonction des différents stades de maturation. Aquat. Living Ressour., Vol. 10, n°3, p177-185.

ANNEXES

IFREMER

12, rue des résistants B.P.86

56470 La Trinité Sur Mer

☎ 02 97 30 25 70

Fax 02 97 30 25 76

Date :

Fiche mortalité huitre creuse été 1997

(une par lot, à renvoyer rapidement à l'IFREMER)

● **Concessionnaire** (informations restant confidentielles)

Nom :

Prénom :

☎ atelier :

☒ adresse :

☎ domicile :

● **Caractéristiques du lot :**

Naissain

18 mois

Adultes

Année et mois de captage :

Origine du naissain :

(S'il s'agit d'une éclosérie, préciser le nom, cette information restant confidentielle)

● **Mode d'élevage :**

Site : n° du parc :

➔ LOCALISER SUR LA CARTE

Coefficient d'accès ou hauteur d'eau :

Elevage Poche Tubes (préciser table ou cadre)

Sur sol En suspension

Charge en huîtres sur le parc (nombre de poches, de tubes ou tonnes /ha) :

Charges de naissains à la mise en élevage :

- poids d'huîtres par poche, tube ou ha :

- nombre d'huîtres par poche, tube ou ha :

Nombre de poches ou tubes du lot :

Date d'implantation du lot sur le parc :

Transferts intermédiaires : oui non

si oui, où et quand :

● **Mortalités :**

Période présumée de la mortalité :

Déroulement Brutale Progressive

Successive

Taux de mortalité estimé :

après comptage :

Observations sur les huîtres :

Autres lots touchés à proximité :

Mortalités les années antérieures sur le même site :

Envasement, algues, prédateurs :

Mortalités d'autres espèces :

Observations particulières :

annexe 1

CARACTERISTIQUES DES VIRUS APPARTENANT A LA FAMILLE DES *HERPESVIRIDAE*

Morphologie et composition des particules virales

Les particules virales sont composées de quatre éléments: le nucléoïde (ou core), la capsid, le tégument et l'enveloppe. Les particules virales complètes ont un diamètre de 100 à 200 nm.

Le nucléoïde: constitué d'ADN double brin linéaire et de protéines

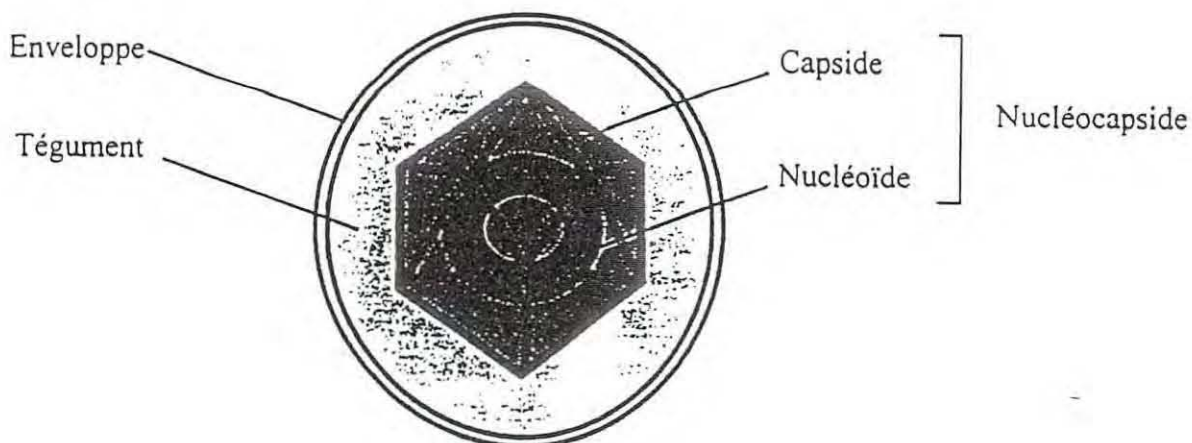
La capsid: contient le nucléoïde, symétrie icosaédrique, constitué de 162 capsomères

Le tégument: correspond à la structure fibreuse, localisée entre la capsid et l'enveloppe. Cette dernière est répartie de façon asymétrique autour de la nucléocapsid.

L'enveloppe: est la structure la plus externe du virion et est indispensable à l'infeciosité des particules virales. Elle confère lorsqu'elle est intègre, une morphologie sphérique. Elle dérive des membranes cellulaires modifiées par l'insertion de protéines virales et porte des protusions à la surface.

Les particules virales contiennent un acide nucléique de type ADN double brin linéaire (120 à 220 kpb, soit 80 à 150 10^6 Da). Les protéines de structure sont en nombre variable de 15 à 35, avec des tailles allant de 12 à 220 kDa. Des lipides sont également présents dans les particules virales et sont localisés au niveau de l'enveloppe, de même que la plupart des glycoprotéines virales.

Structure d'une particule virale de type herpès



Réplication

Organisation du génome:

Présence de séquences uniques et de séquences répétées qui selon leur arrangement permettent de distinguer cinq types différents de virus: A, B, C, D et E.

Entrée du virus dans la cellule:

Attachement du virus sur des récepteurs cellulaires (spécificité).

Fusion des membranes cellulaires et virales (glycoprotéines d'enveloppe).

Entrée des nucléocapsides dans le cytoplasme de la cellule et transport jusqu'à la membrane nucléaire (pores).

Pénétration de l'ADN viral dans le noyau par des phénomènes actifs.

Synthèses virales:

Transcription de l'ADN viral dans le noyau, par la RNA polymérase II.

Synthèses de protéines virales à partir d'ARNm viraux dans le cytoplasme de la cellule hôte.

Expression des gènes viraux en cascade.

Réplication de l'ADN viral relativement précocément, dans le noyau des cellules infectées.

Assemblage et libération des particules filles

Assemblage et accumulation des capsides dans le noyau.

Encapsidation de l'ADN dans le noyau.

Attachement des nucléocapsides à des zones particulières de la surface interne de la membrane interne du noyau.

Passage dans le cytoplasme (vésicules).

Libération des particules par la cellule infectée.

Phénomène de latence:

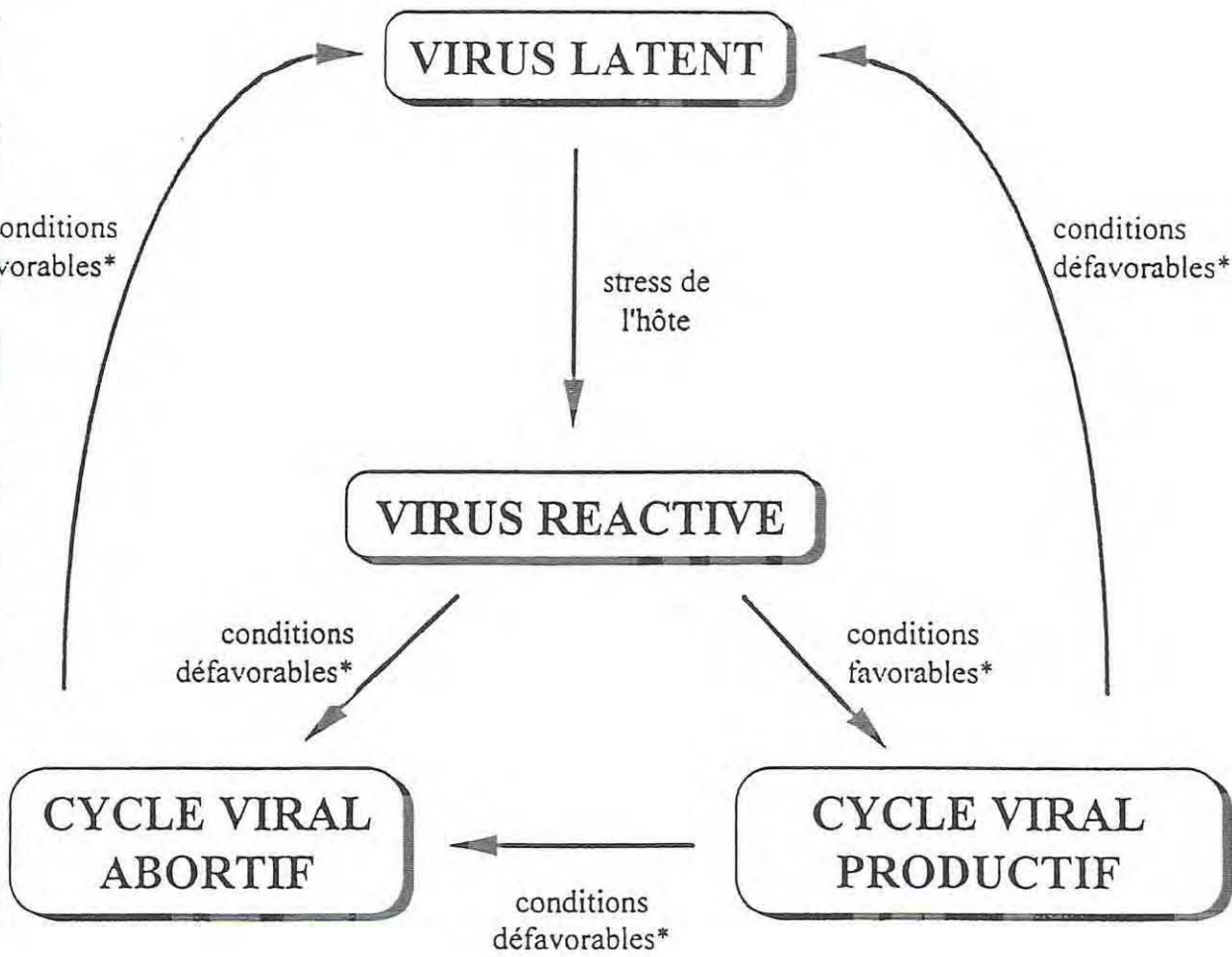
Capacité commune à tous les Herpèsvirus de persister sous forme latente pendant toute la vie de l'hôte.

Présence d'ADN viral en absence de production de particules virales chez l'hôte (ADN intégré au génome de la cellule hôte ou sous forme circulaire, libre dans le noyau de la cellule).

Localisation de la latence à des tissus particuliers à chaque virus.

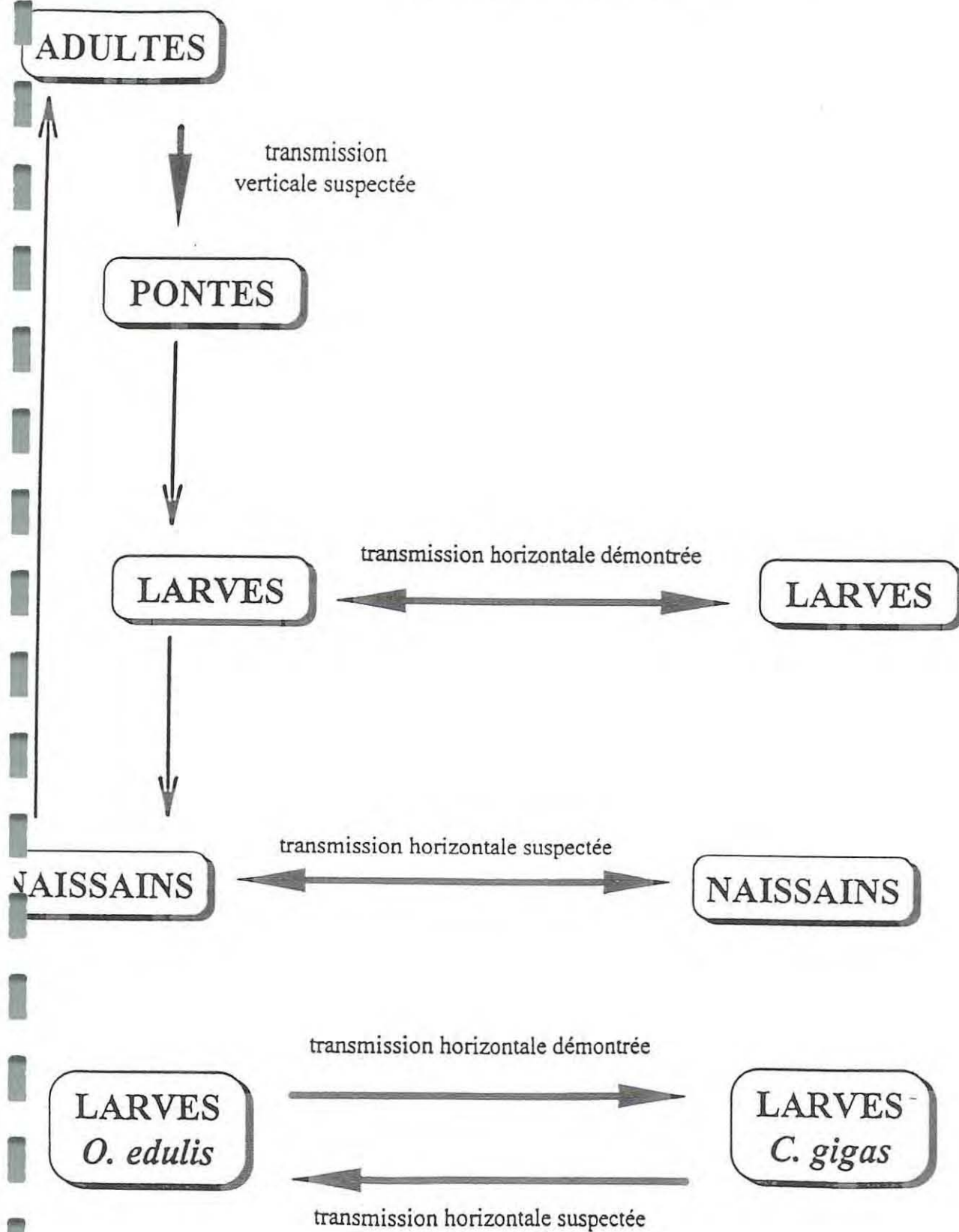
Réactivation du virus suite à un facteur de stress physique ou émotionnel, ou sous l'action de composés chimiques, d'hormones ou d'autres molécules biologiques.

CYCLE DES VIRUS APPARTENANT
A LA FAMILLE DES *Herpesviridae*



*conditions favorables/défavorables pour le virus

MODE DE TRANSMISSION DU VIRUS DE TYPE HERPES
CHEZ LES HUITRES



PRINCIPES DE LA TECHNIQUE DE POLYMERASE CHAIN REACTION

La PCR est une réaction enzymatique de polymérisation de l'ADN. Cette réaction d'amplification est obtenue par plusieurs cycles de polymérisation. Les copies d'ADN néosynthétisées servent de matrice au cours des cycles d'amplification suivants, aboutissant ainsi à une amplification exponentielle du nombre de copies.

La séquence cible d'amplification est la région de l'ADN qui sera spécifiquement amplifiée au cours de la PCR. Dans ce cas il s'agit d'ADN viral. La PCR1 amplifie une séquence cible de l'ADN viral. La PCR2 amplifie une séquence de l'ADN viral plus courte comprise dans la première séquence.

L'amplification de l'ADN cible est obtenue par une série de cycles d'amplification. Un cycle d'amplification est défini comme la période au cours de laquelle la quantité d'ADN est multipliée par deux. Dans ce cas, 2 x 35 cycles sont réalisés. Environ 2^{70} sont ainsi obtenues. Des témoins négatifs (eau bidistillée) et positifs (ADN viral à des concentrations connues) sont également soumis à la réaction de PCR.

Les produits de PCR sont analysés par électrophorèse en gel d'agarose. Un marqueur de taille est également déposé sur le gel.

La lecture se fait sur une table à UV. Le témoin positif doit être positif, signe du bon déroulement de la réaction de PCR. Le témoin négatif doit être négatif, signe de l'absence de contamination par de l'ADN viral lors des manipulations. Les produits d'amplification apparaissent sous la forme d'une bande fluorescente. Le contrôle de la taille se fait par comparaison de la migration avec celle du marqueur de poids moléculaire. La séquence d'ADN viral, si elle est en quantité suffisante, apparaît à une hauteur précise par rapport à celle du marqueur de poids moléculaire.

Protocole simplifié

Préparation des échantillons

Broyage
Dilution
Centrifugation
Dilution

Préparation des réactifs

Préparation du "Mix":
H₂O
Tampon
MgCl₂
Bases azotées
Amorces
Polymérase

Mise en oeuvre de la réaction de PCR

Ajout d'une fraction d'échantillon à une fraction du Mix
Réaction de PCR1 par un thermocycleur (35 cycles)
Ajout d'une fraction de produit de PCR1 à une fraction de MIX
Réactio de PCR2 par un thermocycleur (35 cycles)

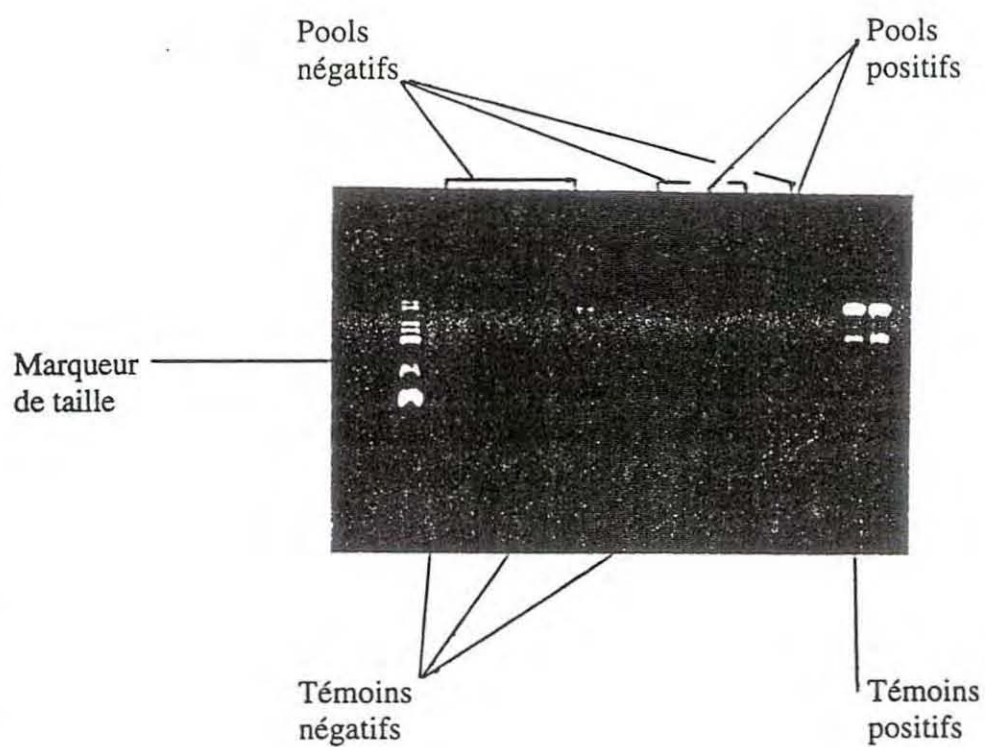
Migration des produits de PCR2 par électrophorèse

Migration des fractions de produits de PCR2, mélangés à un tampon de dépôt et d'un marqueur de taille par électrophorèse en gel d'agarose

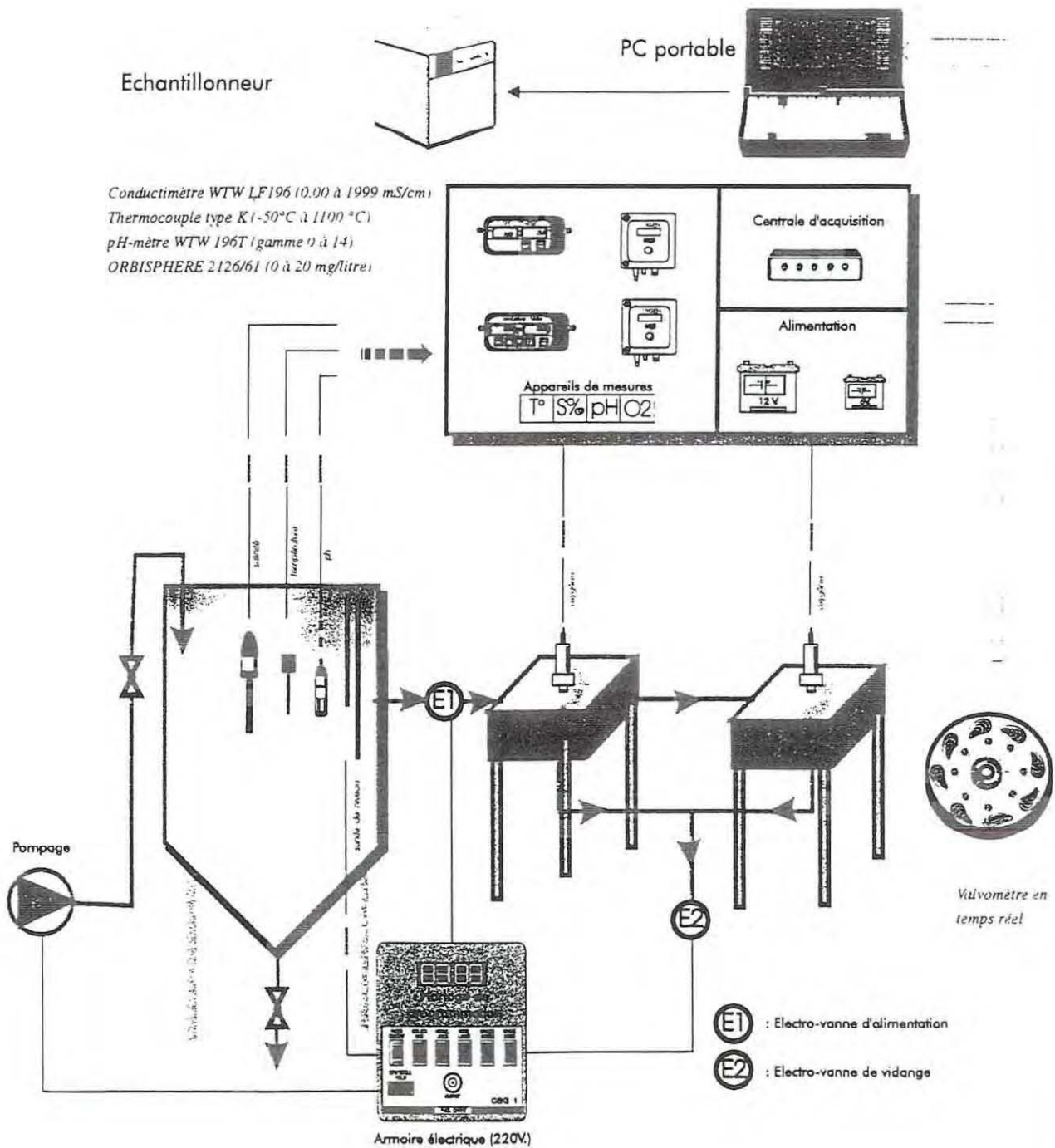
Lecture sur table à UV

Lecture du gel sur table à UV
Photographie

ANALYSE DES PRODUITS D'AMPLIFICATION
PAR ELECTROPHORESE EN GEL D'AGAROSE



DISPOSITIF EXPERIMENTAL DE SUIVI DU MILIEU



DOSAGE DE LA CHLOROPHYLLE
PAR FLUORIMETRIE

- Filtrer 2 x 200 ml d'eau de mer
- Rouler les filtres dans des tubes à essai puis les fermer
- Congélation (si dosage différé)
- Laisser décongeler (à l'abri de la lumière)
- Déchiqueter le filtre dans 6 ml d'acétone 90%
- Laisser extraire au réfrigérateur 2 h (maximum 24 h)
- Centrifuger 10 mn à 4000 tr/ mn
remarque: au bout d'1 mn réimmerger les éventuels bouts de filtre
- Laisser revenir à température ambiante à l'obscurité quelques mn
- Mesurer la fluorescence FO
- Ajouter 2 gouttes d'HCL 1N puis mesurer la fluorescence après acidification FA

Ne pas laisser les échantillons à la lumière
Allumer le fluorimètre ¼ h avant les mesures

CRITERES DE STADE DE MATURATION

1) Critères macroscopiques :

Huître maigre :	M	glande digestive visible par dessus et par dessous
Huître peu grasse :	G-	glande digestive visible dessus et dessous par transparence
Huître grasse :	G	canaux de la gonade discernables (stries blanchâtres)
Huître très grasse :	G+	une lame de scalpel frottant légèrement la gonade par en dessous fait s'échapper de la laitance

2) Critères microscopiques :

Immature :	rien de visible au grossissement 10
Mâle 3P :	spermatozoïdes nombreux mais peu ou pas mobiles
Mâle 3H :	spermatozoïdes "grouillant"
Femelle 3P :	ovocytes petits, en forme de poire ou polyédriques
Femelle 3H :	ovocytes plus gros, de forme sphérique

**Classes des niveaux de chambrage de l'huître
Crassostrea gigas dues à Polydora sp.**

Classe 0



Bonne qualité :
ni ver ni chambre
apparents

Classe 1



Bonne qualité :
galeries à *Polydora*
visibles, pas de chambre

Classe 2



Qualité moyenne :
galeries à *Polydora* et
quelques chambres à vase
d'extension limitée

Classe 3



Mauvaise qualité :
galeries à *Polydora* et
chambres à vase
nombreuses

Classe 4



Très mauvaise qualité :
galeries à *Polydora* et
chambres à vase très étendues

annexe 7

Source: Martial CATHERINE, 1996