

N° d'ordre : 978

THÈSE

PRÉSENTÉE A

L'UNIVERSITÉ BORDEAUX I

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR D'ÉTAT ÈS SCIENCES

PAR

Edouard HIS

BIOLOGIE ET ÉCOTOXICOLOGIE DES VÉLIGÈRES DE *CRASSOSTREA GIGAS*
(THUNBERG) DANS LE BASSIN D'ARCACHON

Soutenue le 18 Janvier 1991 devant la Commission d'examen :

MM. J. BOISSEAU, Professeur	Président
N. VICENTE, Professeur	} Examineurs
Mme L. FENAUX, Directeur de Recherche au C.N.R.S.....	
MM P. CAUMETTE, Professeur.....	
C. CAZAUX, Maître de Conférences.....	

— 1991 —

AVANT PROPOS

Ce travail a été réalisé au Laboratoire IFREMER d'Arcachon. Je remercie Monsieur le Président Directeur Général de l'IFREMER pour les moyens dont j'ai pu bénéficier.

J'exprime ma plus profonde gratitude à Monsieur le Professeur J. Boisseau pour ses encouragements et ses conseils, depuis de nombreuses années.

Monsieur N. Vicente, Professeur à l'Université d'Aix Marseille III, m'a lui aussi prodigué ses encouragements au cours de nos rencontres à la Société Française de Malacologie. Je lui exprime toute ma gratitude.

Madame L. Fenaux, Directeur de Recherche au CNRS m'a fait profiter de son expérience sur la nutrition des larves d'invertébrés marins, dans le cadre du PNDR. Je l'en remercie très sincèrement.

Monsieur le Professeur Caumette, Directeur de l'Institut de Biologie Marine d'Arcachon, a bien voulu participer à ce jury, malgré ses nombreuses occupations. Je l'en remercie très sincèrement.

Monsieur C. Cazaux, Maître de Conférences à l'Institut Universitaire de Biologie Marine d'Arcachon m'a toujours accueilli favorablement, lorsque j'ai fait appel à ses compétences Universitaires. Je le remercie d'avoir bien voulu siéger dans ce jury.

Monsieur J. Bachelet, Chargé de Recherche au CNRS, m'a conseillé avec son amabilité coutumière pour la mise au point de ce manuscrit. Qu'il trouve ici l'expression de ma plus profonde reconnaissance.

Enfin ce travail n'aurait pas été possible sans la participation de mes anciens collaborateurs du laboratoire IFREMER d'Arcachon, alternativement D. Maurer et R. Robert.

2EME PARTIE : LES ANOMALIES DE LA REPRODUCTION DE <i>CRASSOSTREA</i> <i>GIGAS</i> DANS LE BASSIN D'ARCACHON	34
<u>CHAPITRE IV</u> : MISE EN EVIDENCE DES ANOMALIES DU DEVELOPPEMENT LARVAIRE	36
1. Premières anomalies du développement larvaire en 1976	36
2. Généralisation du phénomène de 1977 à 1981	38
3. Conclusions	40
<u>Chapitre V</u> : ETUDES EXPERIMENTALES SUR LES CAUSES DES ANOMALIES DE LA REPRODUCTION DE <i>CRASSOSTREA GIGAS</i>	41
1. Action de la température sur le développement larvaire	42
1.1. Action des basses températures	44
1.2. Action des fluctuations thermiques	45
2. Etudes expérimentales sur les géniteurs du Bassin d'Arcachon	45
2.1. Géniteurs maturés hors du Bassin d'Arcachon	46
2.1. Géniteurs maturés dans le Bassin d'Arcachon	46
3. Qualité biologique de l'eau du Bassin d'Arcachon	47
3.1. Pendant que sévissaient les anomalies (1981)	47
3.2. Après l'interdiction des peintures antisalissure à base d'organostanniques	51
4. Qualité des eaux de ruissellement se déversant dans la baie	51

INTRODUCTION	1
1ERE PARTIE : PRESENTATION DU MILIEU. RAPPELS CONCERNANT LA BIOLOGIE DES LARVES DE <i>CRASSOSTREA GIGAS</i> ET METHODOLOGIE	7
<u>CHAPITRE I</u> : LE BASSIN D'ARCACHON CENTRE DE CAPTAGE IMPORTANT	8
<u>CHAPITRE II</u> : LES MODALITES DE LA REPRODUCTION DE <i>CRASSOSTREA GIGAS</i> DANS LE BASSIN D'ARCACHON	12
1. Maturité sexuelle et pontes	13
2. Biologie des larves de <i>Crassostrea gigas</i>	14
<u>CHAPITRE III</u> : METHODOLOGIE	19
1. La recherche des larves de <i>C. gigas</i> dans le bassin d'Arcachon.	19
2. L'isolement des véligères de <i>C. gigas</i> du milieu naturel.	22
3. Les élevages larvaires.	24
3.1. L'eau de mer utilisée	24
3.2. La culture du phytoplancton	25
3.3. Le conditionnement des géniteurs	26
3.4. Le déclenchement des pontes, des spermiations et les fécondations	27
3.5. La conduite des élevages larvaires	29
4. Les observations.	30
4.1. Observations sur les embryons et les larves	30
4.2. Observations sur le phytoplancton	32

5. Conclusions	55
<u>CHAPITRE VI</u> : MISE EN ELEVAGE DES VELIGERES DE <i>CRASSOSTREA GIGAS</i> PROVENANT DU MILIEU NATUREL	58
1. Origine des véligères et leur comportement dans le milieu naturel	58
2. Comportement des véligères mises en élevage	58
3. Conclusions	61
<u>3EME PARTIE</u> : ETUDES SUR LA NUTRITION DES LARVES DE <i>CRASSOSTREA GIGAS</i>	63
<u>CHAPITRE VII</u> : L'IMPORTANCE RELATIVE DU FACTEUR NUTRITIONNEL	67
1. Action combinée de la température, de la salinité et de la nutrition	67
2. Influence de la durée du jeûne sur la survie et la croissance des véligères	75
2.1. Sous des conditions favorables à la croissance larvaire (30°C et 25 p. mille)	76
2.1.1. Mortalité larvaire	76
2.1.2. Prise en charge et digestion des algues fourrage	76
2.1.3. Croissance larvaire	79
2.2. Sous des conditions moyennes de milieu (22°C et 35 P. mille)	80
2.2.1. Mortalité larvaire	80

2.2.2. Prise en charge et digestion des algues fourrage	80
2.2.3. Croissance larvaire	83
3. Discussion	85
<u>CHAPITRE VIII</u> : LES ALGUES FOURRAGE UTILISEES EN MILIEU CONTROLE POUR L'ALIMENTATION DES LARVES DE BIVALVES	89
1. Les différentes espèces utilisées	89
2. Les critères d'utilisation des algues fourrage	89
<u>CHAPITRE IX</u> : LE PHYTOPLANCTON DU BASSIN D'ARCACHON EN PERIODE ESTIVALE. ROLE POTENTIEL DU NANOPLANCTON DANS LA NUTRITION DES LARVES DE <i>C. GIGAS</i>	95
1. Le microplancton	95
2. Le nanoplancton	97
3. Rôle du nanoplancton dans la nutrition des larves de <i>Crassostrea gigas</i>	98
4. Discussion	100
<u>CHAPITRE X</u> : NUTRITION DES VELIGERES DU BASSIN D'ARCACHON	103
1. Observations sur les véligères prélevées "in situ"	104

1.1. Microscopie à épifluorescence et observation des contenus stomacaux sur coupe histologique	104
1.2. Observations sur les particules captées par les larves dans le milieu naturel	111
1.3. Croissance linéaire et pondérale et composition biochimique élémentaire des véligères	112
2. Expérimentations à l'aide de véligères du milieu naturel	119
2.1. Etude du "grazing"	119
2.2. Isolement et obtention en culture monospécifique d'algues ingérées par les larves	123
2.3. Evaluation de la qualité alimentaire des algues isolées du tractus digestif des véligères	126
2.3.1. Expérience 1	128
2.3.2. Expérience 2	130
2.3.3. Expérience 3	130
2.3.4. Expérience 4	133

4EME PARTIE : LES EXPERIENCES D ' ECOTOXICOLOGIE	137
--	-----

<u>CHAPITRE XI</u> :	ACTION DES ORGANOSTANNIQUES SUR LA REPRODUCTION DE <i>CRASSOSTREA GIGAS</i>	140
1.	Action sur la maturation des géniteurs	140
2.	Action directe sur les oeufs, les embryons et les larves	141
3.	Action des organostanniques sur les algues fourrage	147
4.	Action des peintures à base d'organostanniques sur le captage	153
5.	Discussion	155
<u>CHAPITRE XII</u> :	ACTION DE DIVERS MICROPOLLUANTS	160
1.	Action des sels de cuivre	160
1.1.	Action d'une peinture à base d'oxyde cuivreux sur les géniteurs	160
1.2.	Action directe du chlorure cuivreux sur les oeufs, les embryons et les larves	162
1.3.	Action directe du sulfate de cuivre sur les oeufs, les embryons et les larves	162
2.	Action de deux désherbants	163
2.1.	Action de l'atrazine-simazine	163
2.1.1.	Action sur les oeufs, les embryons et les larves	163
2.1.2.	Action sur les algues fourrage	165

2.2. Action du vernolate sur les oeufs, les embryons et les larves	165
CONCLUSIONS	166
CONCLUSIONS GENERALES	170
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	178

•

BIOLOGIE ET ECOTOXICOLOGIE DES VELIGÈRES DE *CRASSOSTREA GIGAS*

(THUNBERG) DANS LE BASSIN D ' ARCACHON.

INTRODUCTION

Le Bassin d'Arcachon (Fig.1) constitue un site idéal pour le déroulement des activités conchylicoles. Dès 1960 Yonge écrivait : "it is impossible to imagine an area better suited for oyster culture than the almost completely land locked Bay of Arcachon".

Aussi bien l'huître indigène, *Ostrea edulis*, que l'huître creuse récemment introduite, *Crassostrea gigas*, y trouvent des conditions de milieu favorables tant à la phase benthique qu'à la phase pélagique.

La conchyliculture locale profite de ces deux potentialités; la baie est à la fois un centre naisseur et un centre d'élevage et de commercialisation des huîtres; les exploitations à caractère familial tirent parti des différents aspects de cete activité aquacole; toute perturbation de l'une d'elles a de graves répercussions sur l'ensemble.

La base de toute aquaculture est l'obtention de juvéniles qui sont ensuite mis en élevage. En ce qui concerne l'ostréiculture, le problème a été résolu au siècle dernier par la mise au point, à Arcachon, du captage du naissain sur les tuiles chaulées; cette technique a donné à l'élevage des huîtres des possibilités de développement considérables et a constitué un progrès dont l'équivalent à l'époque moderne a été la mise au point de la reproduction des Bivalves en milieu contrôlé (Lucas, 1970).

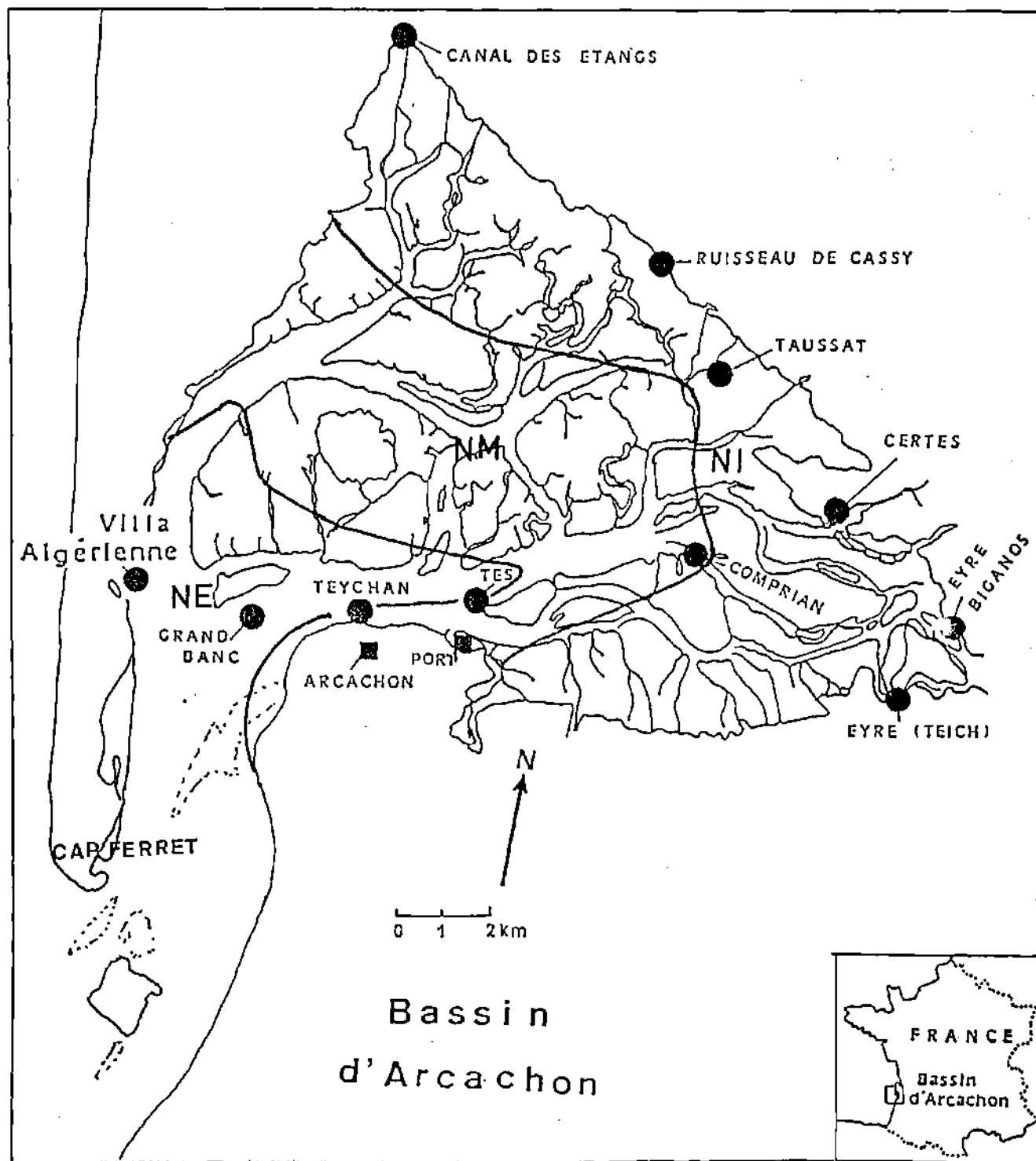


Figure 1 : Carte du Bassin d'Arcachon avec les stations de prélèvements et les différentes masses d'eau. N E, eaux néritiques externes; N M , eaux néritiques moyennes; N I, eaux néritiques internes.

De 1976 à 1981 une crise a fortement perturbé la conchyliculture arcachonnaise ; à des difficultés de commercialisation (chambrage des coquilles et mauvais état d'engraissement des huîtres de taille marchande) s'est ajouté un déficit du captage. La conséquence de ces deux phénomènes a été la disparition de la moitié des exploitations ostréicoles du Bassin d'Arcachon.

Cette crise a motivé le développement de recherches dont un des volets a été d'essayer de rechercher les causes des anomalies de la reproduction et d'analyser le mécanisme d'action du ou des facteurs responsables.

Avec la mise au point définitive, il y a une trentaine d'années, des élevages larvaires de Bivalves en milieu contrôlé, un nombre considérable de travaux fondamentaux ou appliqués ont été consacrés à l'étude de ce matériel biologique particulier que constituent les véligères; depuis les tentatives préliminaires réalisées vers la seconde moitié du 19ème siècle, il a fallu attendre les travaux de Prytherch (1924) et de Wells (1927) pour que la reproduction de *Crassostrea virginica* en milieu contrôlé soit réussie. La possibilité de maturer les huîtres et de nombreux bivalves pendant pratiquement toute l'année (Loosanoff, 1945) a permis de poursuivre les investigations sans interruption et non seulement pendant quelques semaines en été; le seul problème important qui se posait encore, celui de l'alimentation des véligères au laboratoire, a pu être étudié sans discontinuité; une méthode d'élevage larvaire reproductible a été mise au point grâce à l'utilisation d'une nourriture appropriée (Loosanoff et Davis, 1963).

Ainsi la voie a été ouverte à un large éventail de recherches concernant la physiologie et l'écophysiologie, la morphologie et l'anatomie, la systématique, la pathologie larvaire et plus récemment la génétique des Bivalves.

D'autre part, à la suite des investigations de Davis (1961) de Calabrese et Davis (1967 et 1970), de Calabrese *et al.* (1973 et 1977), les oeufs et les embryons de Bivalves se sont avérés être un matériel biologique de choix pour les expériences de toxicologie en milieu marin; ainsi Woelke (1967-1972) préconise l'utilisation des embryons de *Crassostrea gigas* pour des "essais biologiques" destinés à tester la qualité des eaux littorales; en effet les stades précoces (oeufs, embryons et larves) chez les Bivalves marins sont particulièrement sensibles aux facteurs d'agression et représentent une phase critique au niveau du recrutement de ces espèces; ils peuvent de ce fait jouer un rôle d'organisme sentinelle pour la conservation des capacités biotiques des écosystèmes littoraux (Stebbing *et al.*, 1980). A ce titre les anomalies de la reproduction des huîtres dans le bassin d'Arcachon, constituent un exemple typique du rôle d'organisme sentinelle que peuvent jouer les véligères des huîtres creuses, pour pouvoir prendre les mesures nécessaires à la conservation de l'intégrité du milieu et au maintien des espèces en zone littorale.

Afin de tenter de résoudre les problèmes arcachonnais, des investigations, basées sur la biologie expérimentale des larves de *Crassostrea gigas*, ont donc nécessité la mise au point d'une unité de reproduction des Bivalves en milieu contrôlé. Il s'agissait tout d'abord de déterminer si les anomalies de la reproduction étaient d'origine environnementale, ou au contraire si elles étaient imputables à l'intervention de facteurs anthropiques (action éventuelle de un ou plusieurs altéragènes). Des expériences de toxicologie larvaire, menées à l'aide d'oeufs, d'embryons et de larves de *Crassostrea gigas* ont été conduites afin de dégager l'action de ces principaux facteurs; en particulier le seuil de toxicité des micropolluants susceptibles d'exercer une action défavorable sur le plan d'eau a été déterminé.

Dans le Bassin d'Arcachon, les anomalies se caractérisaient par une absence de croissance des véligères pendant les premiers jours de la phase pélagique; la croissance larvaire a donc été retenue comme critère pour préciser l'action de ces différents altéragènes.

Les résultats acquis au cours des premières phases d'investigation ont permis de constater que les seuls élevages de véligères en milieu contrôlé ne permettaient pas d'analyser pleinement les causes des anomalies de la reproduction; il a fallu pour cela se retourner vers des observations et des expérimentations sur les larves du milieu naturel. Dès l'été 1981, l'isolement de plusieurs centaines de milliers de larves D et leur mise en élevage sous des conditions expérimentales de milieu nous a amenés à suspecter l'existence de problèmes au niveau de la nutrition des larves dans le bassin d'Arcachon. Or si l'on sait parfaitement nourrir les larves de Bivalves en laboratoire, les auteurs s'accordent à penser que les données concernant leur nourriture dans les zones conchylicoles où les huîtres se reproduisent à l'état naturel sont pratiquement inexistantes (Walne, 1965 ; Bayne, 1983).

La disparition des anomalies de la reproduction de *Crassostrea gigas* dans le Bassin d'Arcachon après les mesures restrictives relatives à l'utilisation des peintures antisalissure à base d'organostanniques et la mise en place du Programme National sur le Déterminisme du Recrutement, ont permis une nouvelle orientation des investigations. Comme le souligne Mann (1988), les travaux de laboratoire ont certes permis de préciser nos connaissances sur la biologie et l'écologie des véligères, mais à l'heure actuelle, les résultats acquis au fil des années nous suggèrent un retour vers le terrain pour réexaminer la biologie larvaire et le recrutement chez les Bivalves.

C'est dans cette optique que dès 1982 des observations sur la nutrition des larves du Bassin d'Arcachon, site particulièrement favorable au déroulement de la phase pélagique des huîtres, ont été entreprises grâce à la réussite des isollements des larves à partir des cohortes du milieu naturel.

De plus, la viabilité des véligères et leur compétence à la métamorphose, dépendent essentiellement des réserves énergétiques qu'elles ont accumulées au cours de leur vie pélagique (Millar et

Scott, 1967 ; Gallagher et Mann, 1981 ; Gallagher *et al.*, 1986).

Les substances de réserve peuvent aussi permettre aux larves de supporter un déficit nutritionnel ou des conditions environnementales passagèrement défavorables (Holland, 1978); il est donc intéressant de rechercher des indices de l'état physiologique des véligères, mais surtout de pouvoir comparer les données obtenues expérimentalement aux données acquises sur les véligères du milieu naturel, au cours d'une saison de reproduction favorable au développement larvaire, afin de pouvoir déceler ultérieurement d'éventuelles anomalies dans la composition biochimique des larves, indicatrices elles aussi d'une altération du milieu naturel.

Après une présentation rapide du Bassin d'Arcachon et de ses caractéristiques en ce qui concerne la reproduction de *Crassostrea gigas* dans la baie, les méthodes utilisées dans le cadre de ces études seront décrites.

Les anomalies de la reproduction de l'huître japonaise seront mises en évidence et les recherches qui ont été conduites pour tenter de les expliquer seront présentées.

Une perturbation du régime trophique des véligères ayant été mise en évidence pour expliquer les anomalies de la reproduction, le retour à une situation normale a permis d'aborder le problème encore mal connu de la nutrition des larves, en particulier dans le milieu naturel.

Enfin, les données concernant l'écotoxicologie larvaire, basées sur des observations relatives à l'action des altéragènes sur les embryons et les larves mais surtout sur la croissance des véligères, tenteront de mettre en évidence l'intérêt du choix de ce matériel biologique particulier, comme organisme sentinelle pour la conservation des capacités biotiques des écosystèmes littoraux.

1ERE PARTIE : PRESENTATION DU MILIEU. RAPPELS CONCERNANT LA BIOLOGIE
DES LARVES DE *CRASSOSTREA GIGAS* ET METHODOLOGIE

CHAPITRE I : LE BASSIN D'ARCACHON CENTRE DE CAPTAGE IMPORTANT

CHAPITRE II : LES MODALITES DE LA REPRODUCTION DE *CRASSOSTREA GIGAS*
DANS LE BASSIN D'ARCACHON

1. Maturité sexuelle et pontes
2. Biologie des larves de *Crassostrea gigas*

CHAPITRE III : METHODOLOGIE

1. La recherche des larves de *C. gigas* dans le bassin d'Arcachon.
2. L'isolement des véligères de *C. gigas* du milieu naturel.
3. Les élevages larvaires.
 - 3.1. L'eau de mer utilisée
 - 3.2. La culture du phytoplancton
 - 3.3. Le conditionnement des géniteurs
 - 3.4. Le déclenchement des pontes, des spermations et les fécondations
 - 3.5. La conduite des élevages larvaires
4. Les observations.
 - 4.1. Observations sur les embryons et les larves
 - 4.2. Observations sur le phytoplancton

CHAPITRE I

LE BASSIN D ARCACHON, CENTRE DE CAPTAGE IMPORTANT

Seule baie du littoral atlantique entre l'estuaire de la Gironde et la Bidassoa, le Bassin d'Arcachon présente une forme triangulaire dont la côte sud constitue la base (fig.1). La superficie des terres immergées est de 15 000 hectares à marée haute et de 4 900 hectares à marée basse. Ses eaux sont à la fois d'origine océanique et continentale.

La communication avec l'océan s'effectue par les passes d'environ 6 km de long qui se rétrécissent jusqu'à 2.5 km de large; elles sont encombrées de bancs de sable instables qui ralentissent les échanges entre la baie et l'océan. Le volume d'eau introduit à chaque marée varie entre 150 millions de mètres cubes (marée de morte-eau) à 420 millions de mètres cubes (marée de vive-eau).

Les eaux douces sont apportées par le canal des Etangs au nord, l'Eyre au sud-est, le canal de Cazaux au sud et par de nombreux ruisseaux, les "crastes". Le chenal du Teychan joue le rôle de chenal principal (Bouchet, 1968); un lacs de chenaux secondaires délimite à marée basse des étendues vaso-sableuses, les "crassats", en bordure des chenaux.

Les eaux du Bassin d'Arcachon ne sont pas homogènes ; elles se caractérisent par des variations de température et de salinité qui sont fonction de la distance des passes; c'est ainsi que selon Bouchet (1968) on peut reconnaître (figure 1):

- les eaux néritiques externes, qui sont celles du plateau continental et que l'on retrouve dans les passes ainsi que dans

la partie terminale des chenaux de Piquey et du Teychan.

- les eaux néritiques moyennes , dans la partie médiane du bassin, qui sont intermédiaires entre les précédentes et les suivantes.

- les eaux néritiques internes, qui sont rarement renouvelées et qui sont reprises par le flot avant qu'elles n'aient atteint les passes.

C'est avec l'espèce indigène, *Ostrea edulis* L. que s'est mise en place l'ostréiculture moderne. A la fin du 19ème siècle ,l'épuisement des gisements naturels surexploités avait amené le biologiste Coste à promouvoir le développement des parcs de culture. Il devenait alors nécessaire de pouvoir disposer du premier maillon de toute forme d'aquaculture: les juvéniles, c'est à dire le naissain, dans le cas des huîtres. A l'issue de recherches menées dans différents centres conchylicoles français, un maçon, Michelet ,inventait le captage sur tuile chaulée. L'ostréiculture arcachonnaise se mettait en place, avec ses différentes phases caractéristiques: captage, demi-élevage, élevage et commercialisation.

Après l'épizootie de 1920 qui anéantit tout le cheptel de l'huître plate,l'espèce portugaise, *Crassostrea angulata* Lmk, lui succéda. Très rapidement elle colonisait l'ensemble de la baie ; "les grains de sable eux-mêmes semblaient être choisis par les larves d'huîtres tant elles étaient nombreuses et pressées" (Martin, non daté). Pourtant un déficit en naissain devait se faire sentir à partir de 1929. Les récoltes de jeunes huîtres étaient peu importantes de 1939 à 1945, insignifiantes de 1945 à 1951 et extrêmement pauvres de 1960 à 1965 (Labrid, 1969).

Différentes estimations du nombre annuel de collecteurs posés (tuiles chaulées) ont été réalisées (Bompayre, 1955; La Téoule, 1967):

- 1870 : 1 500 000
- 1936 : 7 000 000
- 1955 : 18 000 000.

A partir de 1966, le captage redevenait florissant dans le Bassin.

En 1970 et 1971, une nouvelle épizootie affecta l'huître portugaise qui disparut en quelques mois. L'huître japonaise, *Crassostrea gigas* (Thunberg) introduite sous forme de géniteurs ("huîtres mères") et de naissain, colonisait la baie dès 1971 et surtout 1973, année particulièrement favorable à la reproduction. On assistait au même phénomène qu'en 1920 avec *C. angulata*, tant le naissain récolté ou sauvage était abondant. De même les récoltes de 1975 et 1976 étaient pléthoriques. A l'inverse, celles de 1972 et 1974 étaient faibles, les étés étant plus vieux et frais.

Depuis longtemps, le Bassin d'Arcachon est donc un centre naisseur important. Deux facteurs sont à l'origine de cette activité:

- un potentiel de production annuel élevé, estimé à 5 milliards de recrues, soit l'équivalent de trente écloséries industrielles,
- un naissain de très bonne qualité grâce au captage sur tuile chaulée, qui permet, lors du détroquage, d'obtenir pratiquement du naissain "un à un", d'un poids unitaire élevé (jusqu'à 5g) et d'un faible prix de revient.

La reconversion des centres conchylicoles bretons vers l'élevage de l'huitre creuse et le développement des centres normands ont renforcé la position d'Arcachon dans sa vocation de centre producteur de naissain.

A côté des activités de demi-élevage et d'élevage, le captage représente donc une source de revenus non négligeable pour les exploitations conchylicoles du Bassin d'Arcachon. Certes, comme le souligne Borde (1938), l'intensité du captage est plus ou moins élevée selon les années. Une récolte abondante permet néanmoins la garniture des parcs pendant deux ou trois années, en cas de pénurie passagère.

De 1977 à 1981, des perturbations dans le déroulement de la vie pélagique des larves de *C.gigas* ont réduit pratiquement à néant la récolte de naissain. Ces échecs ont grandement contribué au déclin récent des activités conchylicoles dans le Bassin d'Arcachon et se sont traduits, avant le rétablissement actuel, par la disparition de la moitié des exploitations.

CHAPITRE II

LES MODALITES DE LA REPRODUCTION DE *CRASSOSTREA GIGAS* DANS LE BASSIN D ARCACHON

L'huître japonaise, *C. gigas*, a été introduite dans le Bassin d'Arcachon sous deux formes: du naissain à partir des centres conchylicoles japonais (baie de Sendaï) et de Colombie Britannique (Pendrell Sound), et des individus adultes qualifiés d'"huîtres mères" (Pendrell Sound). Dans le premier cas les importations sont passées de quelques centaines de kilogrammes (1968 à 1970) à plusieurs centaines de tonnes par an (1971 à 1976). Il s'agissait essentiellement de jeunes individus fixés sur coquilles collectrices de *Pecten* et d'huîtres. Dans le second cas, à la suite des mortalités de masse qui avaient affecté les populations de *Crassostrea angulata* dès le premier trimestre de 1971, la décision avait été prise de renforcer rapidement le stock de *C. gigas* afin d'assurer une récolte de naissain et de permettre la reconstitution des gisements naturels anéantis. C'est ainsi que 52 puis 60 tonnes d'adultes avaient été immergées dans différents secteurs du Bassin d'Arcachon à la fin du printemps de 1971 et 1972: les huîtres étaient proches de leur stade de maturité sexuelle lors de leur immersion et devaient effectivement frayer dans la baie, quelques semaines plus tard, participant de façon non négligeable à la production du naissain.

1. Maturité sexuelle et ponte

Au cours d'observations réalisées de 1970 à 1974, les grandes lignes de l'évolution de la maturation sexuelle et de la ponte de l'huître japonaise dans le Bassin d'Arcachon ont été dégagées (His, 1973, 1975, 1976). Les études du cycle sexuel chez les lamelli-branches comportent des observations sur l'évolution de la gonade dans le but de déterminer les "dates probables de pontes". Sur le plan de la gamétogénèse, les premiers stades apparaissent au cours des processus printaniers en mars et avril. La maturité sexuelle est à son maximum au cours de la période mai-juillet avec atteinte de "la phase instable" définie par Galtsoff (1964) au cours de laquelle les huîtres sont sensibles aux stimuli qui peuvent déclencher le frai. La maturité est suivie de l'émission des gamètes qui peut être partielle ou totale. Puis la gonade est le siège de phénomènes de restauration qui précèdent les nouvelles périodes de frai pendant la saison estivale. A l'automne, les huîtres entrent en phase de repos sexuel.

L'activité valvaire particulière qui accompagne la ponte chez les huîtres du genre *Crassostrea* et son entregistrement dans le milieu naturel permettent de déceler le frai, d'en déterminer la date exacte, la fréquence et la durée (His, 1975). Couplé avec les études relatives aux observations macroscopiques de la gonade et avec les résultats des numérations de larves dans le plancton décrites ultérieurement, l'enregistrement de l'activité valvaire a permis de préciser les modalités de la reproduction de *C.gigas* dans le Bassin d'Arcachon.

Le frai est un phénomène collectif affectant la majorité des sujets pour une population d'huîtres donnée; les pontes les plus importantes se produisent avant la fin du mois de juillet; les restaurations de la gonade ne sont que partielles à partir de ce

moment là. En ce qui concerne l'étalement de la saison de reproduction, les dates limites des premières et des dernières pontes enregistrées dans le Bassin de 1973 à 1979 se situent du 3 juin (1977) au 11 septembre (1978). Les frais peuvent être massifs, affectant l'ensemble des huîtres du Bassin (1971, 1973, 1983 et 1985), ou au contraire diffus, les différentes populations frayant les unes après les autres, le phénomène s'étalant sur toute la saison estivale (1972, 1977, 1982 et 1988).

Les mollusques dont l'activité valvaire a été suivie, ont frayé de quatre à neuf fois dans le milieu naturel au cours d'une même saison de reproduction. Le frai peut se produire aussi bien en morte eau qu'en vive eau, mais fréquence et durée sont généralement plus importantes en période de fort coefficient. Ce phénomène s'explique par la plus grande instabilité du milieu à ce moment là (His, 1976).

2. Biologie des larves de *Crassostrea gigas*

Les premiers travaux relatifs à la morphologie et à l'anatomie des larves d'huîtres sont ceux de Horst (1883) chez *Ostrea edulis* (voir synthèse de Galtsoff, 1964). En ce qui concerne plus particulièrement *C. gigas*, il faut mentionner Fujita (1929 et 1934). Mais ce n'est qu'après la mise au point des élevages larvaires en milieu contrôlé que l'on a pu disposer d'embryons et de larves de Bivalves à chaque instant de leur évolution; l'étude anatomique et morphologique des stades pélagiques chez les Bivalves a été de nouveau à l'ordre du jour (Le Pennec, 1978). Ainsi Elston (1980), rejoignant l'opinion de Galtsoff (1964) considère qu'il n'existe pas de différence apparentes sur le plan morphologique et anatomique entre les larves de *Crassostrea virginica* et de *Crassostrea gigas*.

Entre quatre et six heures après les fécondations, à la

température de 22 à 24°C ,l'embryon, de forme ovale, se caractérise par la présence de cils au pôle végétatif; il tourne sur lui même en se déplaçant.

Puis le stade trochophore est atteint; il se caractérise par une forme de touffe étroite postérieurement; sa partie antérieure est ciliée, c'est la prototroche qui permet la nage de la larve; la région postéro-dorsale porte aussi des cils, la télotroche. A l'opposé de la touffe apicale, se trouve la glande coquillière qui sécrète une coquille primitive de type cuticulaire.

Dans les 24 heures qui suivent la fécondation, le stade véligère est atteint. Il se caractérise par un organe de locomotion bilobé, le vélum. La coquille, d'abord impaire, est formée de deux valves qui entourent la masse viscérale. La jeune larve a la forme d'un D majuscule, d'où son nom de larve D; c'est la prodissoconque I de Rees (1950). Sa hauteur (plus grande dimension perpendiculairement à la charnière) est d'environ 60µm.

Dès le stade D, les principaux organes larvaires sont en place (Lucas, 1982). Le vélum qui a un rôle de locomotion et de respiration, assure la rétention des particules alimentaires captées par la larve; l'alimentation débute en effet quelques heures après la formation de la prodissoconque I (Lucas et Rangel, 1982) . Les larves, qui ingèrent aussi bien des particules inertes (tripton) que vivantes (plancton), sont considérées comme des organismes sestotrophes (Lucas, 1982). Le tube digestif comporte un oesophage, un estomac où se forment postérieurement le sac du stylet cristallin et le bouclier gastrique, et un intestin qui présente une boucle. La structure de l'appareil digestif se maintient sans évolution jusqu'à la fin de la vie pélagique.

Le manteau prend le relai de la glande coquillière et sécrète, en parfaite continuité de la prodissoconque I, la prodissoconque II, qui est composée à la fois de matériel organique et minéral

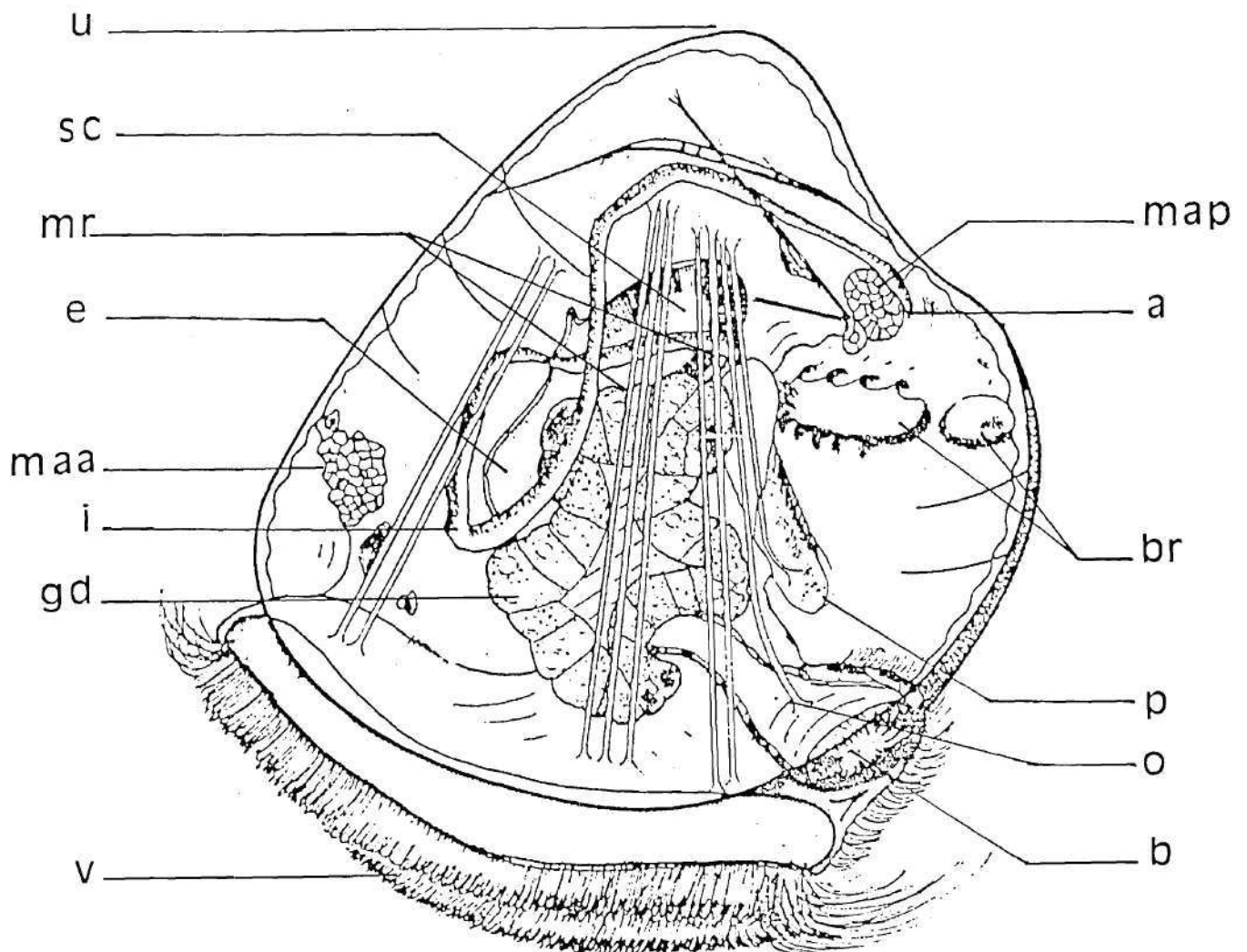


Figure 2 : Pédiveligère de *Crassostrea sp.* vue du côté gauche (d'après Elston, 1980). u: umbo; a: anus; b: bouche; o: oesophage; i: intestin; e: estomac; s c : sac du stylet cristallin; g d: glande digestive; b r: bourgeons branchiaux; p: pied; m a a: muscle adducteur antérieur; m a p muscle adducteur postérieur; v : velum; m r : muscles rétracteurs du velum.

(Le Pennec, 1978).

Vers le sixième jour à la température de 24°C, le crochet ou umbo se développe ; il est bien visible lorsque la larve dépasse la hauteur de 110µm: c'est la larve umbonée.

L'umbo devient de plus en plus proéminent lorsque la taille de la larve augmente. Le terme de véliconche (Werner, 1939) désigne les stades avancés du développement larvaire.

En fonction de la température et de la quantité de nourriture disponible, la durée de la vie pélagique varie de 15 jours à trois semaines.

Lorsque la hauteur dépasse 250 µm, une tache sombre apparaît au niveau de ce qui sera la première ébauche branchiale: c'est la tache oculaire; la larve est dite "oeillée"; ce phénomène annonce de profondes transformations qui intéressent de nombreux organes.

Lorsque la véligère approche et dépasse la hauteur de 300µm, le pied, caractérisé par un épithélium cilié, se développe; le vélum est encore actif. C'est le stade pédivéligère (Carriker, 1961) qui correspond à la dernière phase pélagique (figure 2). La larve peut à la fois nager grâce à son vélum, ou ramper sur les supports grâce à son pied. Son phototropisme devient négatif; elle cherche un support approprié pour se fixer et subir la métamorphose.

Au cours de la métamorphose se produisent de profondes modifications anatomiques. Le vélum disparaît; les palpes labiaux sont formés; les branchies se développent. Le pied, qui joue un rôle important dans la reptation sur le support, présente aussi un rôle sensitif dans le choix du support et un rôle glandulaire dans la sécrétion du ciment qui permet la fixation lorsque le support a été choisi. Ce stade postlarvaire est appelé stade plantigrade.

Lorsque la postlarve est fixée, le pied régresse rapidement. Dès le début de la phase benthique, une nouvelle coquille se forme dans le prolongement de la prodissoconque : c'est la dissoconque.

CHAPITRE III

METHODOLOGIE

1. La recherche des larves de *Crassostrea gigas* dans le Bassin d'Arcachon

La méthode utilisée pour la recherche des larves d'huîtres dans le plancton a été mise au point par Boury (1928). Cinq stations dans le secteur océanique et cinq autres dans le secteur continental sont prospectées alternativement au cours de quatre sorties hebdomadaires. L'ensemble du Bassin est couvert deux fois par semaine.

A chaque station, des pêches de plancton sont effectuées en surface et à un mètre de profondeur à l'aide de filets de vide de maille choisi en fonction de la taille des larves: 72µm pour les jeunes véligères (recherche des "émissions"), 130µm pour les larves plus âgées (suivi du développement ou "évolution" des larves). Chaque trait de filet est censé permettre la filtration d'environ 1.5 m³ d'eau. Le nombre de larves par prélèvement est évalué par comptage au microscope.

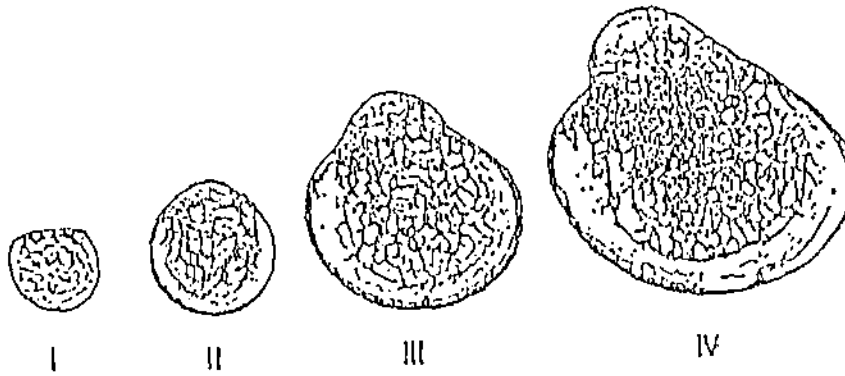


Figure 3 : les quatre stades du développement des larves d'huitres creuses, selon Medcof (1961). Le stade I est divisé en deux par les biologistes conchylicoles français : "grises" (larves âgées au plus de 24 h) et "larves en évolution" (very carly umbo de Quayle, 1969).

Jours après la fécondation	Appellations des malacologistes	Hauteur (µm)	Stades des biologistes conchylicoles	Hauteur (µm)
1 - 6	Véligères larves D	57-105	Petites dont : • grises (âge 24 heures) • en évolution	57-105
6 à 18	Véligères umbonées	105-260	Evoluées Moyennes Grosses	105-150 150-235 235-260
18 à 22	Véligères oillées	260-280	Oillées	260
22 à 24	Pédivéligères	280-300		
> 24	Plantigrades	> 300	Naissains	> 300

Tableau 1 : Stades employés par les biologistes conchylicoles pour décrire le développement larvaire de *Crassostrea gigas* et leurs équivalences avec les appellations des malacologistes.

La hauteur (distance du sommet de l'umbo au bord ventral de la coquille) et la morphologie générale des véligères sont les critères retenus pour décrire le développement ou "évolution larvaire". Les véligères sont classées par les biologistes conchylicoles français en différents stades proches de ceux de Medcof (1961) et de Quayle (1969). On distingue les larves (figure 3 et tableau 1):

- " petites ", dont la hauteur h est inférieure ou égale à $105\mu\text{m}$; on peut y reconnaître les "grises" en forme de D majuscule, à charnière droite et dont la coquille ou prodissoconque, de nature cuticulaire permet d'observer par transparence une masse viscérale qui n'est pas encore colorée par l'ingestion de la nourriture; ceci explique leur couleur gris perle caractéristique; elles sont âgées au plus de 24 heures; celles "en évolution" sont des petites (taille inférieure à $105\mu\text{m}$) dont la charnière est nettement bombée (stade II de Quayle).
- "évoluées ": $105 < h < 150\mu\text{m}$
- "moyennes ": $150 < h < 235\mu\text{m}$
- "grosses ": $h > 235 \mu\text{m}$

Ces trois derniers stades sont franchement umbonés.

Lorsque les pontes sont bien individualisées (présence de larves "grises" pendant les seules premières 24 heures qui suivent un frai massif), il est possible de suivre la croissance larvaire dans le milieu naturel. La hauteur d'une centaine d'individus est mesurée soit au microscope sur échantillon préalablement formolé, à l'aide d'un micromètre oculaire étalonné, soit sur cliché microphotographique; ceci permet d'établir la hauteur moyenne, au seuil de sécurité de 95%.

Sous des conditions de milieu favorables, (température

journalière moyenne de l'eau de mer dans les zones néritiques internes et moyennes supérieure ou égale à 22°C), des chocs thermiques importants (fort ensoleillement des parcs à marée basse, puis arrivée du flot) déclenchent des pontes massives de plusieurs centaines de milliers de larves par m³. La durée de la vie pélagique est courte et la mortalité larvaire réduite. Le stade évolué est atteint en 6 jours (plusieurs dizaines de milliers par m³); les moyennes apparaissent après 9 jours (quelques dizaines de milliers par m³) et les grosses après 12 jours (quelques milliers à quelques dizaines de milliers par m³). Les courbes de croissance larvaire (figure 5 et tableau 2, page 37) rendent compte de la rapidité du développement des véligères.

Lorsque les conditions de milieu sont défavorables, (température instable et inférieure à 22°C), les pontes sont peu massives (absence de choc thermique marqué). La croissance larvaire est ralentie (fig.5 et tabl.2); la mortalité est importante. Quelques dizaines de milliers de larves D par m³ ne donnent que quelques centaines de larves évoluées par m³. Seules quelques dizaines de larves oeillées par m³ sont observées en fin de vie pélagique.

2. L'isolement des véligères de *Crassostrea gigas* du milieu naturel

La prolifération des Chlorophycées (*Enteromorpha sp.*) pendant la saison estivale, surtout à partir de 1982, fait qu'elles envahissent toute la masse d'eau dans les chenaux du Bassin d'Arcachon; la méthode traditionnelle de pêches par trait de filet s'avère donc inefficace, le colmatage rapide des filets ne permettant de récolter que de très faibles quantités de véligères; il devient donc illusoire de rapporter les chiffres obtenus à un volume d'eau déterminé.

Une méthode de prélèvement par pompage a donc été mise au point (figure 4).

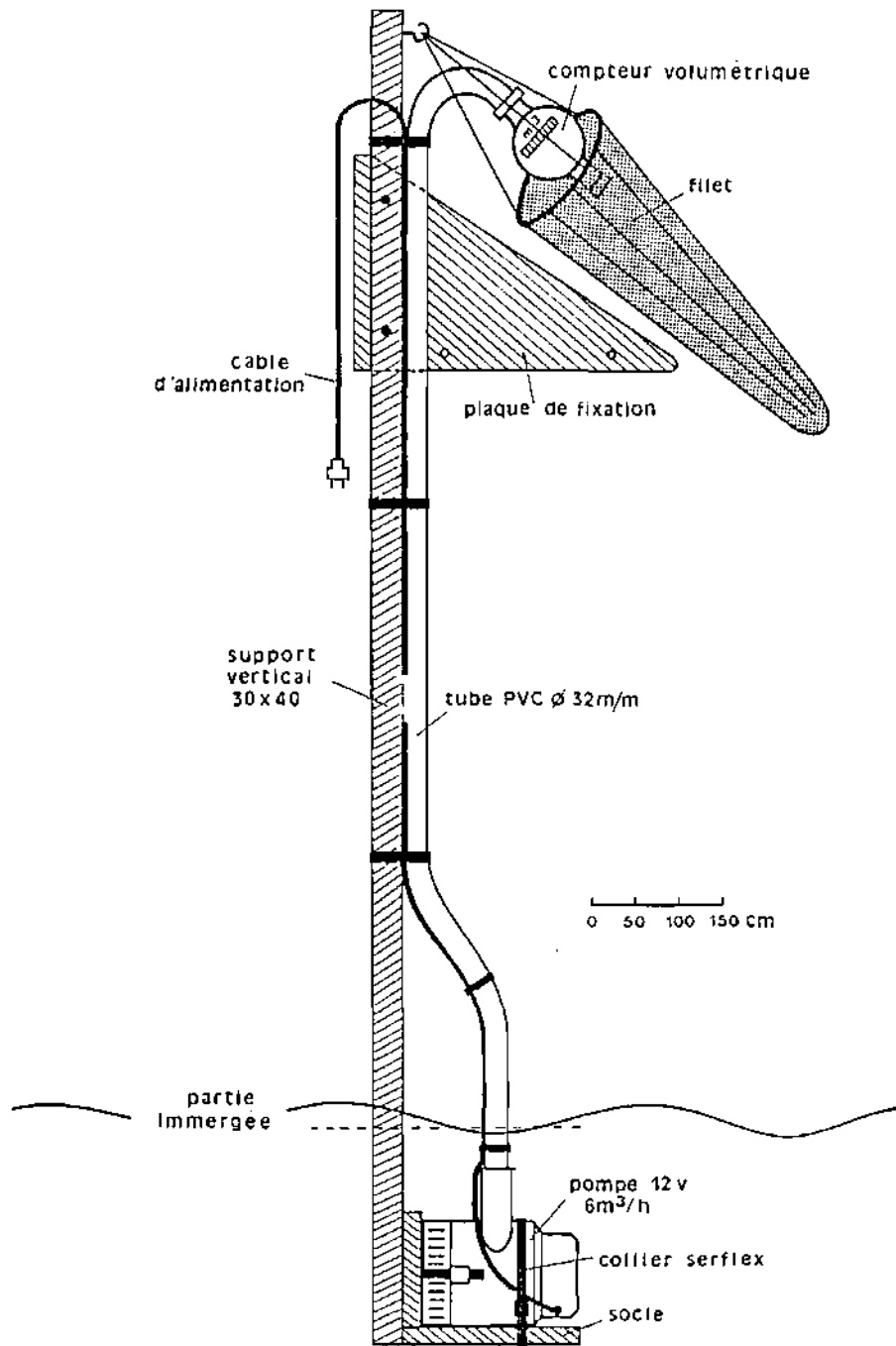


Figure 4 : Le dispositif de pompage volumétrique mis au point pour le prélèvement du plancton.

Des pompes électriques débitant $6 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$, alimentées par la batterie de l'embarcation, ont été utilisées (Figure 4). Elles sont fixées sur un support horizontal et immergées à la profondeur voulue (0m, 1m ou 2m) à l'aide d'une tige verticale. Un tube coudé en PVC est solidaire de la tige; il permet de diriger l'eau de mer vers le filet à plancton. La quantité d'eau de mer pompée est mesurée à l'aide d'un compteur volumétrique. Le support vertical diffracte les macrophytes en suspension, alors que les traits de filets permettent de récolter une grande quantité de matériel indésirable.

Le plancton récolté est ramené au laboratoire dans l'heure qui suit son prélèvement après avoir été conservé à bord en glacière (conservation pour les observations sur l'état nutritionnel des larves en microscopie à épifluorescence).

Puis il est tamisé à travers une colonne de tamis en acier inoxydable préalablement stérilisés, dont le vide de maille est choisi en fonction de la taille supposée des larves (40, 60, 90, 150, 250 et 300 μm). Par tamisages et rinçages successifs à l'eau de mer filtrée à 0.2 μm , les éléments les plus volumineux (Copépodes essentiellement et seston) sont éliminés après rétention sur le tamis de 350 μm tandis que le phytoplancton (principalement des Diatomées) est entraîné à travers le tamis de 40 μm .

Pour les études concernant la croissance pondérale et la composition biochimique élémentaire des véligères, un nettoyage supplémentaire est obtenu en plaçant les larves dans une éprouvette graduée de un litre, contenant de l'eau de mer filtrée à 0.2 μm ; les véligères ont tendance à nager dans la couche d'eau superficielle; il est alors facile de la siphonner et d'obtenir un matériel débarassé de tout élément indésirable.

3. Les élevages larvaires

3.1. L'eau de mer utilisée

Malgré la présence récente d'une adduction d'eau de mer au laboratoire, celle ci ne présente pas une qualité biologique suffisante pour permettre la conduite d'élevages larvaires de Bivalves dans de bonnes conditions (turbidité excessive, liée au système de pompage et de prise d'eau).

En outre, pour tester la qualité biologique de l'eau du Bassin, il faut la prélever en différentes zones dans les principaux chenaux. Ceci est réalisé par bateau à l'aide de bonbonnes en matière plastique préalablement amarquées par rinçages successifs à l'eau de mer pendant plusieurs mois. Par ailleurs, pour les expériences de molysmologie et pour les tests destinés à étudier plus précisément la "qualité biologique de l'eau de mer" pendant que sévissaient les anomalies de la reproduction de *C. gigas*, l'eau des élevages témoins était prélevée à l'océan, à 5 milles au large du Cap Ferret, donc dans une zone à priori à l'abri de toute pollution d'origine tellurique.

L'eau de mer est ensuite stockée au laboratoire pendant 24 h afin d'obtenir l'équilibre thermique avec les élevages. Elle est utilisée à l'état brut pour la maturation des géniteurs. En ce qui concerne les élevages larvaires et la culture du phytoplancton destiné à alimenter les véligères, elle est filtrée extemporanément sur membrane Sartorius de porosité 0.2 μm ; l'efficacité de la filtration est vérifiée au compteur de particules ZBI de marque Coultronics.

3.2. La culture du phytoplancton

Différentes algues monocellulaires sont cultivées pour alimenter les géniteurs en conditionnement et les larves.

Les géniteurs sont nourris à l'aide de la Prasinophycée *Tetraselmis suecica* et de la Diatomée *Skeletonema costatum*. La production est réalisée en eau de mer filtrée à 1 μm sur cartouche de type industriel enrichie en sels minéraux et en vitamines, dans des boudins en matière plastique transparente; les cellules sont brassées par bullage d'air comprimé, et maintenues sous éclairage constant à la température

de $20 \pm 1^\circ\text{C}$.

Les larves sont alimentées quotidiennement selon les données de Helm et Millican (1977) à l'aide de la Prymnésiophycée *Isochrysis galbana* et de la Diatomée *Chaetoceros calcitrans* à raison de 50 cellules/ μl d'élevage pour chacune d'elles, la nourriture étant apportée dès les premières 24 h après les fécondations; puis à partir du stade umboné, les véligères reçoivent chaque jour 33 cellules / μl d'élevages de chacune des deux algues précédentes et 3.3 cellules/ μl d'élevage de *T. suecica*.

La production en "bloom" est effectuée en ballons de six litres contenant 4l de milieu de Conway métrasilicaté en ce qui concerne la Diatomée ; ce dernier est préparé à l'aide d'eau de mer filtrée à $0.2 \mu\text{m}$ enrichie en sels nutritifs, autoclavée à 120°C pendant 20 mn et vitaminée après refroidissement (Walne, 1970). Ne sont utilisées pour alimenter les larves que des cultures en fin de phase exponentielle de croissance.

L'entretien des souches est réalisé en erlenmeyers de 500 ml contenant 200 ml de milieu de Erdschreiber (l'extrait de terre remplace les vitamines), l'inoculum de départ étant de 20 ml; au bout d'une semaine la culture sert à ensemercer des erlenmeyers de 2 l contenant un litre de milieu de Conway; ces derniers servent à leur tour à ensemercer les ballons de 6 l. En général, les cultures sont utilisées au bout d'une semaine.

Enfin les différentes souches, en provenance de la station expérimentale de Conway (Pays de Galles) sont "régénérées" dans des erlenmeyers de 500 ml contenant 200 ml de milieu de Erdschreiber, maintenus sous faible éclairage, à la température de 15°C pendant un mois. Ces souches vigoureuses, servent mensuellement à relancer les cultures.

3.3 Le conditionnement des géniteurs

De nombreux Bivalves peuvent être "maturés artificielement" en dehors de leur période normale de reproduction dans le milieu naturel: c'est le conditionnement des géniteurs découvert par

Loosanoff (1945).

Les huîtres sont prélevées dans le milieu naturel, dans une population dont l'état d'engraissement est élevé (manteau et palpes labiaux épais, blanchâtres, index de condition supérieur à 80, indiquant une richesse en réserves glycogénées qui favorisent la production de gamètes abondants et de bonne qualité). Le conditionnement est effectué en circuit fermé, selon la technique mise au point par Gérard (1978). Quinze sujets sont placés par bac de 30 l, dont l'eau de mer est filtrée par gravité sur un filtre biologique (couches superposées de gravier, sable grossier, sable fin et mousse plastique), et ramenée en surface par bullage (air-lift) à la partie supérieure du filtre, où elle est pompée vers le bac de conditionnement; un tuyau de trop-plein permet l'écoulement en retour vers le filtre biologique.

L'eau des bacs, aérée en permanence, est maintenue à la température de $20 \pm 1^\circ\text{C}$ à l'aide d'une résistance chauffante thermostatée

Chaque lot de géniteur en conditionnement reçoit quotidiennement un minimum de 10 l d'une culture monospécifique de *T. suecica* à la concentration moyenne de $1 \cdot 10^6$ cellules. ml^{-1} ou de la Diatomée *Skeletonema costatum* à la concentration moyenne de $2.7 \cdot 10^6$ cellules. ml^{-1} .

La maturation des *C. gigas* est généralement obtenue en 2 mois à la fin de l'hiver (février, mars), alors qu'elle est atteinte en 1 mois et 15 jours en mai et juin respectivement, les huîtres approchant alors de l'état de maturité dans le milieu naturel. Enfin pendant les mois d'été, il est possible de se procurer des géniteurs à Arcachon, ou dans les autres centres conchylicoles du littoral Atlantique.

3.4. Le déclenchement des pontes et des spermatations et les fécondations

Les chances de réussite des élevages larvaires sont augmentées par utilisation de gamètes émis par les géniteurs mûrs. En effet les prélèvements par biopsie peuvent donner lieu à l'utilisation de gamètes incomplètement mûrs car il n'existe à l'heure actuelle aucun critère rapide permettant d'évaluer la pleine maturité des gamètes chez

les huîtres.

Les géniteurs , prélevés dans les bacs de conditionnement, sont soigneusement brossés et lavés à l'eau de mer de façon à les débarrasser de leurs épibiontes. Ils sont placés dans des bacs en matière plastique fraîchement ébouillantés et contenant dix litres d'eau de mer filtrée à 0.2 μm , à la température de 28°C , obtenue à l'aide d'une résistance chauffante thermostatée. Au bout de 45 mn, ils sont transférés dans un bac identique à la température de 15°C pendant 30 mn. Les chocs thermiques successifs peuvent à eux seuls déclencher l'émission des gamètes dès le premier retour à 28°C. Néanmoins, il est parfois nécessaire de procéder à une stimulation chimique à l'aide de suspensions en eau de mer filtrée de produits sexuels de sujets qui ont été sacrifiés, et qui contiennent des substances excitatrices.

Généralement, les mâles, plus sensibles aux différents stimuli, fraient les premiers, ce qui déclenche rapidement les pontes.

Quand les lamellibranches commencent à émettre leurs produits, ils sont isolés dans des béchers stériles contenant de l'eau de mer filtrée à 0.2 μm où ils sont maintenus une à deux minutes; si l'émission des gamètes se poursuit avec abondance, ils sont transférés dans un nouveau bécher: de cette façon, les gamètes femelles qui auraient pu être fécondés dans les bacs de stimulation sont éliminés à coup sûr. En effet, pour les tests de molysmologie en particulier, les observations portent entre autres sur les taux de fécondation, en présence de divers micropolluants.

Les ovocytes émis sont passés sur un tamis en acier inoxydable stérilisé de 100 μm de porosité qui retient les débris de coquille et les salissures (fèces et pseudo-fèces émis éventuellement par les géniteurs), récupérés sur un tamis de 32 μm , soigneusement rincés à l'eau de mer filtrée à 0.2 μm et déversés dans une éprouvette stérile graduée de un litre d'eau de mer filtrée, pour être comptés, après homogénéisation par un agitateur dans quatre échantillons de 0.1 cc prélevés à la pipette d'Ependhorf.

Les ovocytes sont ensuite répartis à raison de 30 000 par litre dans des béchers stériles de 2 litres contenant de l'eau de mer filtrée à 0.2 μm . Ils sont fécondés dans la demi-heure qui suit leur émission à l'aide de 1,5 ml par litre d'une suspension dense de sperme fraîchement émis, et passé lui aussi à travers un tamis de 32 μm . Les fécondations sont effectuées entre 20 et 24°C.

L'incubation a lieu à la température de 24°C.

3.5 La conduite des élevages larvaires.

Vingt-quatre heures après les fécondations les larves D sont formées chez *C. gigas*. Dans chaque élevage, elles sont passées à travers un tamis de 100 μm et récupérées sur un tamis de 32 μm puis rincées à l'eau de mer filtrée à 0.2 μm . Un prélèvement à la pipette Pasteur stérile est effectué et les larves sont examinées sur lame creuse stérile, au microscope.

Puis les véligères sont de nouveau réparties à raison de 8 000 par litres dans des béchers stériles contenant 2l d'eau de mer fraîchement filtrée. Ultérieurement, les changements d'eau, avec les observations relatives aux mortalités, aux anomalies et à la taille des larves, seront effectués tous les deux jours, pendant la durée des expériences qui est généralement comprise entre 9 et 12 jours, les véligères étant alors nettement umbonées. Exceptionnellement des élevages ont été conduits jusqu'au stade pédivéligère, et des fixations sur collecteurs plastiques expérimentaux ont pu être obtenues en abondance dans les béchers de deux litres, ce qui traduit les bonnes conditions d'élevages, malgré le faible volume.

Lorsque la taille des larves augmente, la porosité des tamis est elle aussi augmentée progressivement.

Il faut préciser que les larves sont élevées en absence d'aération; l'expérience prouve que celle-ci exerce une action néfaste dans de si faibles volumes (projection des véligères contre les parois, Helm et Spencer, 1972). Enfin les élevages sont maintenus à l'obscurité, compte tenu du phototropisme négatif des véligères (Le Pennec, 1978).

4. Les observations.

Elles portent tout d'abord sur les embryons et les véligères elles-mêmes; puis, en ce qui concerne les expériences de toxicologie, sur les algues fourrage utilisées pour alimenter les larves.

4.1. Observations sur les embryons et les larves

Pour les expériences de toxicologie, les fécondations sont effectuées en présence de l'altéragène dont l'action est étudiée; en effet, certains toxiques peuvent exercer une action sur les gamètes eux-mêmes; de plus dans un milieu naturel pollué, le ou les éléments perturbateurs sont présents au moment du frai et des fécondations.

Ainsi les résultats acquis par utilisation d'oeufs déjà fécondés ou de larves D de 24 h sont moins précis, surtout lorsque les véligères proviennent d'une écloserie de type industriel, où elles subissent fréquemment une sélection par tamisage, le matériel biologique le plus performant étant réservé à la production de naissain (Watling, 1978).

Chaque changement d'eau de mer des élevages donne lieu aux observations suivantes :

- pourcentages de larves D obtenues dès les premières 24 h.

- pourcentages de véligères anormales.

Ils sont établis sur 200 individus par élevage (soit 400 par concentrations).

Il s'agit d'anomalies soit au niveau du vélum, qui présente des excroissances irrégulières et qui ne se rétracte pas totalement quand la larve ferme ses valves (Calabrese *et al.*, 1973), soit au niveau de la véliconche: charnière concave, échancrures à la commissure des valves (Le Pennec et Leroux,

Le comportement des larves est observé : nage, mobilité, coloration du tractus digestif traduisant la prise en charge ou non de la nourriture disponible.

Les pourcentages d'anomalies ne doivent pas atteindre 5% dans les élevages témoins (Woelke, 1972); les valeurs supérieures à 10% admises par certains auteurs permettent de mettre en doute la valeur de leurs observations.

- pourcentages de mortalités larvaires.

Comme précédemment, ils sont établis sur 200 individus par élevage.

Ne doivent être considérées comme valables que les expériences dans lesquelles les mortalités culminent à 10% dans les témoins, pendant la durée des observations. Les valeurs de 30 à 50% que l'on trouve dans la littérature sont excessives et traduisent l'intervention d'artéfacts (action de bactéries pathogènes par exemple).

-Croissance larvaire. Cinquante véligères par élevage sont mesurées sur cliché photographique à l'aide d'une binoculaire stéréoscopique munie d'un micromètre oculaire. Les hauteurs moyennes sont calculées sur 100 individus par concentrations, à 1.5 μm près, avec intervalle de confiance au seuil de sécurité de 95% (Geller, 1979).

En aucun cas la LC50 ou la LC100 ne sont utilisés. En effet un ralentissement sensible de la croissance larvaire suffit à hypothéquer les chances de maintien d'une espèce dans un biotope donné.

La durée des observations (9 à 12 jours) permet de déceler les anomalies de croissance liées à l'action des toxiques ; une durée de 48h, fréquemment utilisée par les auteurs ne le permet pas ; l'expérience montre en effet que l'action d'un polluant peut n'être sensible qu'au bout d'une semaine d'exposition.

L'action d'une dizaine de micropolluants sur les véligères de

C. gigas a été étudiée ces dernières années (sels métalliques, pesticides, herbicides) avec des seuils d'action compris entre $5 \cdot 10^{-2}$ $\mu\text{g. l}^{-1}$ et $5 \cdot 10^2$ $\mu\text{g. l}^{-1}$; or il est impossible de présager du seuil d'action des toxiques. Un test préliminaire est donc nécessaire; d'une durée de 48 h, il permet de dénombrer les pourcentages de larves D anormales obtenues pour une gamme très étalée de concentrations et de choisir les teneurs à tester pour les observations définitives.

4.2. Observations sur le phyplancton

Les observations sur la croissance des algues fourrage et des larves de Bivalves sont complémentaires. En effet, les véligères, et celles de *C. gigas* en particulier, présentent des exigences nutritionnelles très marquées.

Dans le milieu naturel, les échecs de la reproduction ont pu être mis en relation avec un déficit nutritionnel (Loosanoff, 1950; Berg, 1971).

L'étude d'impact d'un altéragène doit donc inclure des observations concernant son influence sur les algues fourrage, de façon à lever l'hypothèque d'une éventuelle intervention défavorable par voie indirecte.

L'action des micropolluants sur les multiplications cellulaires des algues fourrage utilisées pour alimenter les véligères en élevage a donc été étudiée.

Les tests ont été effectués dans des erlermeyers de 2 l contenant 1 l de milieu de Conway (Walne, 1966), enrichi en métasilicate pour les Diatomées. Ont été généralement testées les valeurs égales ou inférieures à celles qui retardent la croissance des véligères; en effet, au-dessus de ce seuil, le produit exerce une action suffisamment néfaste pour qu'il représente un danger pour la reproduction de l'huître.

Les cultures, en double exemplaire pour les témoins et les différentes concentrations, ont été maintenues sous éclairage constant

à la température de $20 \pm 1^\circ\text{C}$, et la salinité du milieu de culture ajustée à la valeur de 27 p. mille.

Chaque culture a reçu un inoculum de départ tel que la concentration initiale était voisine de 10^6 cellules. ml^{-1} ; les cultures ont été agitées manuellement trois fois par jour.

Les mesures de densités cellulaires ont été effectuées au compteur de particules (Coulter Counter) ou à la cellule de Malassez, pendant 21 jours, les témoins étant généralement en phase stationnaire.

2EME PARTIE : LES ANOMALIES DE LA REPRODUCTION DE *CRASSOSTREA GIGAS*
DANS LE BASSIN D'ARCACHON

CHAPITRE IV : MISE EN EVIDENCE DES ANOMALIES DU DEVELOPPEMENT
LARVAIRE

1. Premières anomalies du développement larvaire en 1976
2. Généralisation du phénomène de 1977 à 1981
3. Conclusions

Chapitre V : ETUDES EXPERIMENTALES SUR LES CAUSES DES ANOMALIES DE
LA REPRODUCTION DE *CRASSOSTREA GIGAS*

1. Action de la température sur le développement larvaire
 - 1.1. Action des basses températures
 - 1.2. Action des fluctuations thermiques
2. Etudes expérimentales sur les géniteurs du Bassin d'Arcachon
 - 2.1. Géniteurs maturés hors du Bassin d'Arcachon
 - 2.1. Géniteurs maturés dans le Bassin d'Arcachon.
3. Qualité biologique de l'eau du Bassin d'Arcachon
 - 3.1. Pendant que sévissaient les anomalies (1981)
 - 3.2. Après l'interdiction des peintures antisalissure à base d'organostanniques
4. Qualité des eaux de ruissellement se déversant dans la baie
5. Conclusions

CHAPITRE VI : MISE EN ELEVAGE DES VELIGERES DE *CRASSOSTREA GIGAS*
PROVENANT DU MILIEU NATUREL

1. Origine des véligères et leur comportement dans le milieu naturel
2. Comportement des véligères mises en élevage
3. Conclusions

2EME PARTIE

LES ANOMALIES DE LA REPRODUCTION DE *CRASSOSTREA GIGAS* DANS LE BASSIN D'ARCACHON

CHAPITRE IV : MISE EN EVIDENCE DES ANOMALIES DU DEVELOPPEMENT LARVAIRE

1. Premières anomalies du développement larvaire.

Au cours de l'été 1976, un frai massif dans le secteur continental du Bassin (590 000 larves D) a disparu en quelques jours sans qu'aucune évolution marquée des véligères ne soit notée. Seules quelques centaines de larves umbonées ont été dénombrées. La température de l'eau de la baie s'élevait pourtant à 26°C dans la zone néritique interne du Bassin. Une faible coloration des véligères était observée (coloration jaune délavé, et non rouille comme les années précédentes). Aucune anomalie au niveau de la véligère n'était décelée.

Le phénomène n'a eu aucune incidence sur le captage du naissain; en effet, les larves issues des pontes successives qui se sont produites dans le secteur océanique de la baie (Grand Banc, Cap Ferret) se sont formées normalement dans les eaux néritiques externes; puis elles se sont disséminées par le jeu des courants de marée sur l'ensemble de la baie au cours de la période d'évolution larvaire. Plusieurs centaines et même plusieurs milliers parfois de jeunes recrues pouvaient être dénombrés sur les collecteurs immergés dans les différentes zones du Bassin, en particulier dans le secteur continental (parcs de captage du chenal de Comprian, particulièrement favorable à la récolte du naissain).

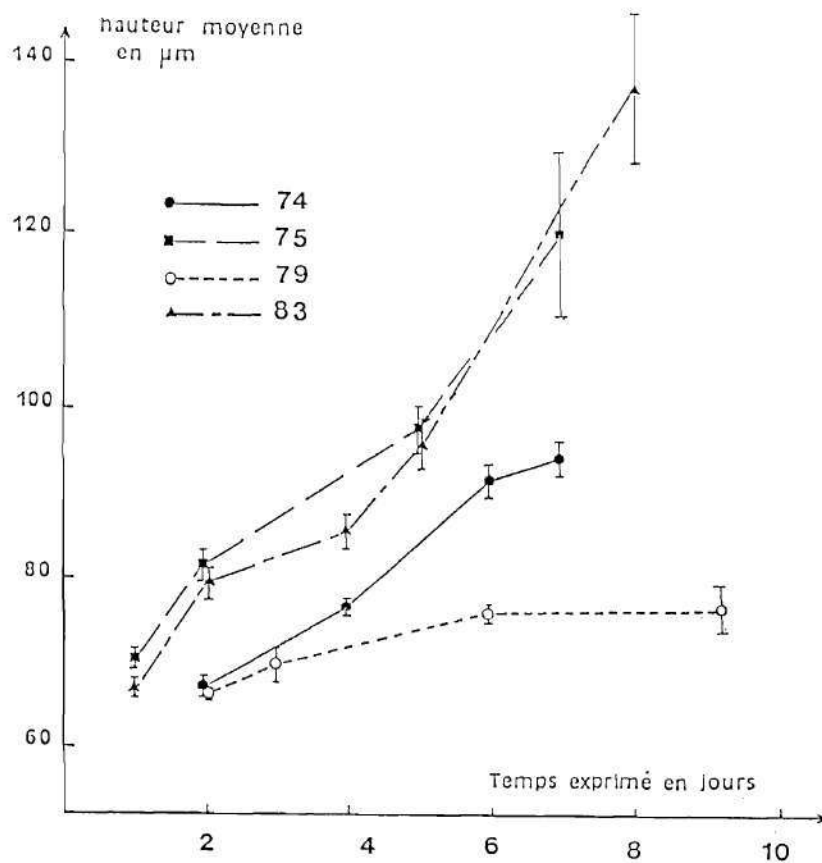


Figure 5 : croissance des véligères de *Crassostrea gigas* dans le Bassin d'Arcachon : 1975 et 1983 : années favorables au développement larvaire ; 1974 et 1979 : années défavorables et avec anomalies respectivement.

Année	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9
1974 (ponte du 21/6)		(23/6) 67,02 ± 0,90		(25/6) 76,36 ± 0,85		(27/6) 91,15 ± 1,42	(28/6) 93,58 ± 2,04		
1975 (ponte du 30/7)	(31/7) 70,21 ± 1,14	(1/8) 81,58 ± 1,85			(4/8) 97,15 ± 2,58		(7/8) 120,04 ± 8,75		
1979 (ponte du 27/7)		(29/7) 66,64 ± 0,80	(30/7) 70,02 ± 1,90			(2/8) 75,73 ± 0,95			(5/8) 75,45 ± 2,57
1983 (ponte du 10/7)	(11/7) 67,22 ± 1,15	(12/7) 79,58 ± 1,79		(14/7) 85,34 ± 1,63	(15/7) 95,65 ± 2,83			(18/7) 135,10 ± 8,56	

Tableau 2 : hauteurs moyennes (en µm avec intervalle de confiance au seuil de sécurité de 95%) des véligères du Bassin d'Arcachon pour les années favorables (1975 et 1983), défavorables (1979) et avec manifestation des anomalies larvaires (1979).

2. Généralisation du phénomène de 1977 à 1981.

Dès l'été 1977 le phénomène s'est généralisé à l'ensemble du Bassin; il s'est manifesté chaque année jusqu'en 1981.

Au cours de ces cinq années consécutives, la saison de reproduction de 1979 a été caractéristique des anomalies constatées.

Les examens de maturité sexuelle et les données de l'ostéographie ont permis de distinguer cinq périodes de pontes en 1979. La première a eu lieu dans le secteur continental les 11 et 12 juin; on notait 110 000 larves D. Leur nombre décroissait au fil des jours sans que l'on ait pu observer de bombement au niveau de la charnière; le stade umboné n'a pas été atteint. La température de l'eau variait de 18°6 à 20°7 jusqu'au 19 juin.

La seconde ponte s'est produite les 7 et 8 juillet et a intéressé la plupart des secteurs. Le 10 juillet, 1 150 000 larves D ont pu être observées et seulement 1 200 évoluées le 19 juillet, quantité dérisoire par rapport à l'importance initiale du frai. Pourtant la température de l'eau était supérieure ou égale à 21°C les quatre premiers jours qui ont suivi la ponte.

La troisième ponte s'est étalée du 26 au 30 juillet: 126 000 "petites" ont été dénombrées le 30 juillet à partir desquelles on n'a observé que 125 "évoluées" une semaine plus tard. La croissance des véligères a été étudiée (tableau 2 et figure 5); la hauteur moyenne est passée de $66,64 \pm 0,80 \mu\text{m}$ le second jour à $75,45 \pm 2,57 \mu\text{m}$ le 9ème jour. La croissance a donc été très faible, malgré des températures supérieures à 21°6 et dépassant même 23° C.

Au cours du 4ème frai, du 7 au 13 août, seules 140 "évoluées" ont été dénombrées sur les 41 400 "petites" observées 12 jours avant. La cinquième ponte, fin août a correspondu à une ponte

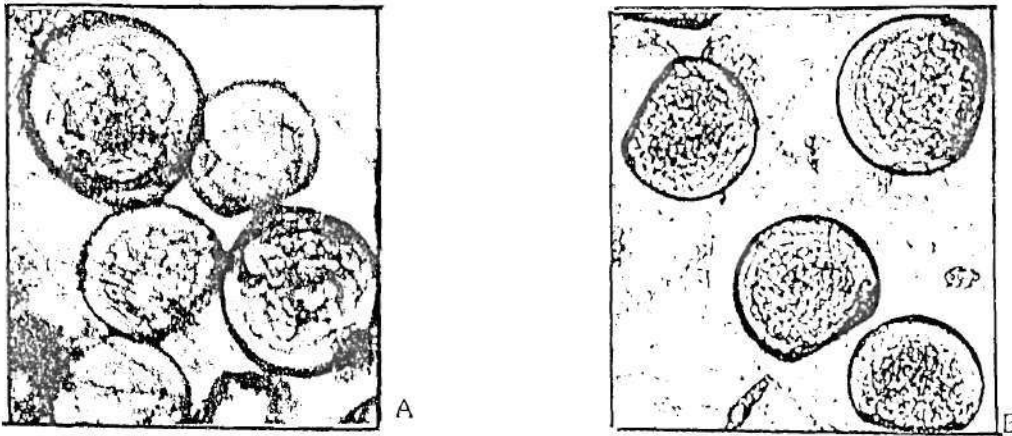


Figure 6 : Aspect des véligères du Bassin d'Arcachon six jours après les pontes en 1975 (A) et en 1979 (B) ; noter la différence de taille des larves au même âge (--- = 50 μ m).

Années	Nbre maximum de larves " petites "	Nbre maximum de larves " évoluées " correspondants	Températures limites dans les 12 jours qui ont suivi l'émission
1977	67 000	720	21°95 à 22°65
	393 000	0	18°85 à 21°70
	22 000	250	20°70 à 22°90
	116 000	120	19°80 à 21°55
1978	57 000	0	18°50 à 19°90
	341 000	700	20°65 à 23°55
	15 800	250	21°05 à 23°90
	184 000	150	20°75 à 22°90
	14 250	20	21°60 à 24°10
1979	110 000	0	18°60 à 21°75
	1 150 000	1 200	20°05 à 23°10
	126 000	150	10°30 à 22°65
	15 000	15	—
	41 400	140	—
1980	85 000	0	18°35 à 20°
	1 080 000	0	18° à 20°10
	145 000	100	21°85 à 23°40
	75 200	0	21°85 à 23°35
1981	552 000	110	19°90 à 21°45
	40 300	0	19°65 à 21°45
	18 000	80	21°80 à 22°50

Tableau 3 : nombres maximums de larves " petites " et " évoluées " dénombrées dans le plancton du Bassin d'Arcachon pendant les années où les anomalies larvaires ont été observées et températures de l'eau de mer enregistrée à Eyrac pendant les douze jours qui ont suivi les pontes.

résiduelle.

L'examen au microscope n'a pas révélé d'anomalies sur le plan morphologique des larves D ou des véligères plus âgées; cependant ces dernières se caractérisaient par le faible bombement de la charnière et la faible pigmentation de la glande digestive (fig. 6). La comparaison des courbes de la figure 5 permet de distinguer une croissance linéaire retardée (1974), avec des conditions météorologiques défavorables) d'une absence presque totale de croissance (1979) traduisant l'existence des anomalies du développement.

3. Conclusions

Ces phénomènes, observés pour la première fois en 1976 dans le secteur continental, se sont généralisés à l'ensemble du Bassin en 1977 et ont persisté jusqu'en 1981. Le tableau 3 regroupe les quantités de larves "petites" et évoluées" lors des principales émissions pendant les cinq années où ont sévi les anomalies, ainsi que les températures limites de l'eau pendant les douze jours qui suivent la détection du frai.

Il met en évidence d'une part le blocage qui existe au niveau du passage au stade umboné et l'absence de relation du phénomène avec le facteur thermique.

La voie expérimentale a été choisie pour tenter d'expliquer les anomalies constatées, une attention particulière étant portée au développement des larves pendant les premiers jours de leur vie pélagique.

CHAPITRE V : ETUDES EXPERIMENTALES SUR LES CAUSES DES ANOMALIES DE LA REPRODUCTION DE *CRASSOSTREA GIGAS*

Parmi les raisons qui pouvaient expliquer les échecs répétés du captage, la Mission Scientifique Chargée de l'Etude des Problèmes du Bassin d'Arcachon envisageait soit une cause naturelle (mauvaises conditions climatiques et basses températures de l'eau de la baie en particulier) soit l'action des facteurs anthropiques liés au développement des activités agricoles (sylviculture et maïssiculture), à l'urbanisme et aux activités de plaisance.

Seule la technique des élevages larvaires en milieu contrôlé pouvait permettre d'étudier les problèmes posés (Lucas, 1975). Les anomalies n'affectant les véligères que pendant les huit premiers jours de la vie pélagique, les observations ont été limitées à 12 jours, l'ensemble des différents stades umbonés étant normalement obtenus pendant cette période.

Les élevages ont été conduits dans des béciers stériles contenant 2l d'eau de mer filtrée à 0.2 μ m, à des salinités ambiantes variant de 28 à 33 p.mille et à la température de 24 \pm 1°C.

Le lieu de prélèvement de l'eau de mer utilisée sera précisé pour chaque expérience. Comme précédemment on procède aux observations relatives aux anomalies, aux mortalités et aux hauteurs moyennes des véligères. La méthode des croissances comparées a été utilisée pour l'interprétation des résultats.

Quatre hypothèses avaient été émises pour rechercher les causes des anomalies:

- des conditions climatiques défavorables.
- la mauvaise qualité des géniteurs du Bassin d'Arcachon. En effet les huîtres, organismes filtreurs, sont connues pour accumuler et concentrer, entre autres au niveau de la gonade, les micropolluants se trouvant dans l'eau de mer. Les oeufs peuvent donc contenir des métalloprotéines toxiques, rendant non viables les larves issues de ces gamètes. De plus, des perturbations subies par les bivalves adultes affectent la viabilité des larves (Bayne, 1976).
- la mauvaise qualité de l'eau du Bassin. Celle-ci peut contenir une (ou plusieurs) substance toxique qui sans atteindre des concentrations suffisantes pour perturber l'embryogénèse et la formation des larves D, exerce une action marquée sur la croissance des véligères et les rend plus sensibles à des conditions adverses de milieu (Mac Innes et Calabrese, 1979).
- Les mortalités peuvent s'expliquer aussi par une perturbation du régime trophique des véligères, ainsi que le suggère la faible pigmentation du tractus digestif.

1. Action de la température sur le développement larvaire.

La vie pélagique des larves de *C. gigas* se déroule de façon satisfaisante dans le Bassin d'Arcachon quand la température de l'eau de mer est égale ou supérieure à 22° dans les zones néritiques

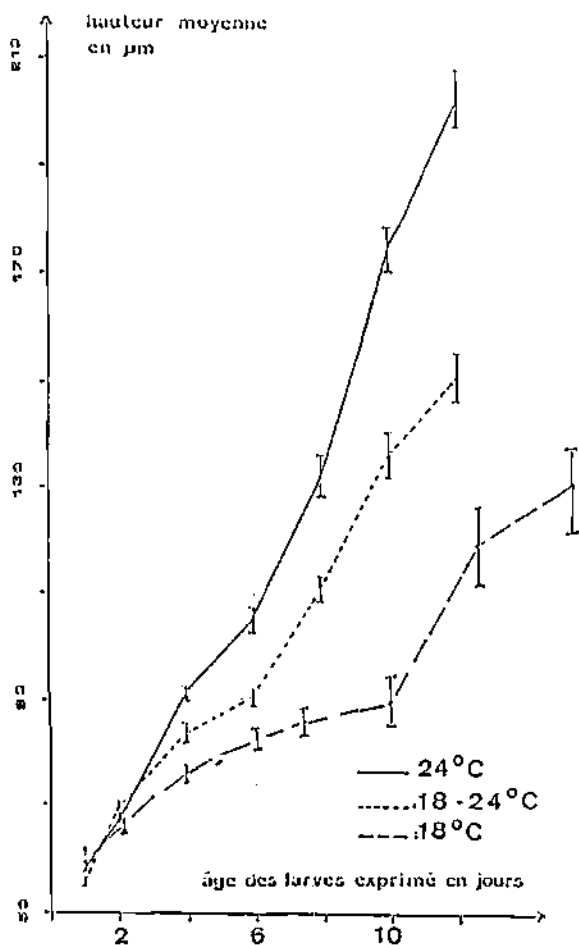


Figure 7 : Croissance des larves de *Crassostrea gigas* élevées à 18°, 24° ou ayant subi des passages alternatifs de 18° à 24°.

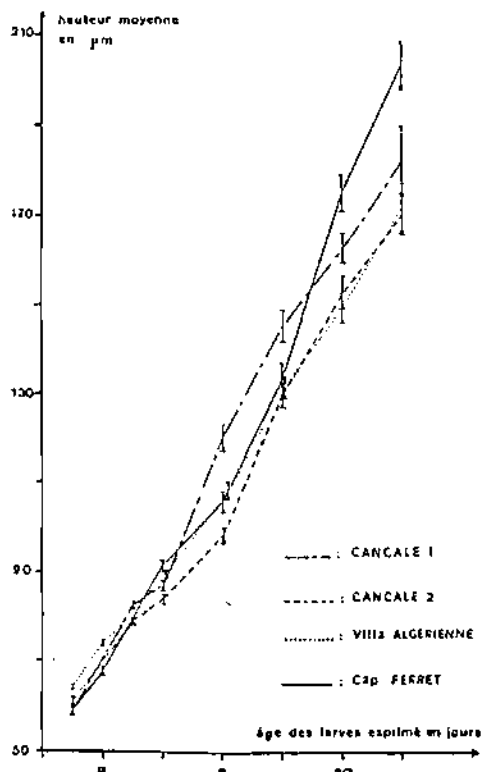


Figure 8 : croissance des véligères de *Crassostrea gigas* issues de géniteurs maturés à l'extérieur de la baie (Cancale 1 et 2) et de géniteurs maturés dans le Bassin (Cap Ferret et Villa Algérienne).

moyennes et internes (His, 1973). Entre 1977 et 1981, ces valeurs ont été rarement atteintes.

Par ailleurs, au cours d'une même semaine, des températures favorables (22°C) ont alterné avec des valeurs plus basses (19 à 21°C). L'influence du facteur thermique sur les larves de *C.gigas* a donc été étudiée.

1.1 Action des basses températures.

Des véligères âgées de 24 h (larves D) ont été élevées en eau de l'océan à la température de 18° C et à la salinité de 33.3 p. mille. Une valeur aussi basse de la température de l'eau de la baie n'a jamais été observée pendant la saison de reproduction durant les années où les anomalies ont pu être observées.

Les mortalités ont été peu importantes dans les élevages, puisqu'elles se sont stabilisées à 5% le sixième jour des expériences. Par ailleurs, le taux d'anomalies morphologiques (2% au départ) est resté constant.

Par rapport aux mêmes véligères élevées à la température de 24°C (figure 7), un ralentissement sensible de la croissance a été observé, puisque du premier au 12ème jour, la croissance n'a représenté que 58% de celle qui a été observée dans les élevages témoins. 2% seulement des larves ont franchi la limite des "évoluées" le 8ème jour. Par contre, en fin d'observations, 60% de la population a dépassé cette limite des 105 µm et 8% des véligères ont atteint le stade "moyenne".

Bien qu'un ralentissement du développement larvaire soit observé lorsque les élevages sont maintenus à 18°C, les véligères de *C. gigas* sont susceptibles de se développer et les mortalités larvaires sont faibles. Les basses températures ne peuvent donc expliquer les anomalies de la reproduction qui ont été mises en évidence.

1.2. Action des fluctuations thermiques.

Des véligères ont subi des fluctuations thermiques supérieures à celles qui ont été observées dans le milieu naturel par passages alternatifs de 18°C à 24°C à intervalles de deux jours. Un ralentissement de la croissance larvaire a été observé (fig. 7); le taux de croissance final n'a représenté que 60% de celui des témoins, mais 60% d'évoluées et 40% de moyennes ont été dénombrées le douzième jour. Les mortalités se sont élevées à 10% comme chez les témoins.

2. Etudes expérimentales sur les géniteurs du Bassin d'Arcachon.

Les expériences ont eu lieu en 1981, année pendant laquelle les anomalies de la reproduction ont été particulièrement marquées. Il s'agissait de savoir si les *C. gigas* du Bassin constituaient un stock de géniteurs de bonne qualité ou si au contraire les gamètes "maturés" dans la baie donnaient naissance à des larves non viables.

Le Bassin d'Arcachon approvisionnant en huîtres de semi-élevage ou d'élevage les centres conchylicoles bretons, les croissances de larves issues de différents lots de *C. gigas*, originaires du Bassin, ont été comparées; de ces lots, les uns ont été placés en élevage dès l'âge d'un an à Cancale (Bretagne); les géniteurs âgés de cinq ans lors de leur utilisation ont donc "maturé" leurs produits sexuels hors de la baie; ils sont dénommés géniteurs "maturés" à l'extérieur; les autres, du même âge, ont effectué leur cycle sexuel dans la baie; ils sont appelés géniteurs "maturés" à Arcachon.

Dans les deux cas, la "phase instable" qui caractérise la maturité physiologique des huîtres et au cours de laquelle l'émission des gamètes peut être obtenue en soumettant les bivalves à un choc ther-

mique, a été atteinte par conditionnement en circuit fermé. Pontes, développement embryonnaire et larvaire ont été effectués dans de l'eau prélevée au large du Cap-Ferret (océan).

Les qualités des gamètes provenant des deux types de géniteurs ont été étudiées par la méthode des croissances comparées.

2.1. Géniteurs maturés hors du Bassin d'Arcachon.

Deux lots de géniteurs ont été utilisés au cours de deux séries d'expériences (Cancale 1 et Cancale 2). Les pourcentages de larves anormales sont restés faibles (5 et 8% le douzième jour) ainsi que les taux de mortalité (7 et 2% en fin d'observations).

L'étude des courbes de croissance permet de constater que dans les deux cas les véligères se sont développées, la croissance étant meilleure dans la première série (Cancale 1) dont 84% des larves sont umbo-nées dès le sixième jour, contre 11% dans la seconde (fig. 8). Sans que les observations sur la croissance aient été poursuivies avec précision au-delà du douzième jour, les élevages ont été maintenus jusqu'à l'obtention des stades pédivéligère et plantigrade (Cancale 2).

2.2. Géniteurs maturés dans le Bassin d'Arcachon.

Comme précédemment, deux séries d'observations ont été effectuées à l'aide d'huîtres prélevées au Cap Ferret et à la Villa Algérienne (fig. 8).

Avec le premier lot de géniteurs, les pourcentages de larves anormales ont été plus élevés et ont atteint 15%; ils n'ont été que de 2% avec le second. Les mortalités ont affecté progressivement les larves anormales et ont été au total de 15% (Cap-Ferret) et 2% (Villa Algérienne) en fin d'expériences.

3. Qualité biologique de l'eau du Bassin d'Arcachon.

Comme précédemment ces études ont été conduites pendant que sévissaient les anomalies de la reproduction des huîtres (1981), mais aussi en 1982 et 1983, c'est-à-dire après la reprise du captage, la seule modification intervenue étant les mesures restrictives concernant l'utilisation des peintures antisalissure à base d'organostanniques.

La technique des bioessais a donc permis d'évaluer la "qualité biologique" de l'eau de la baie et celle des eaux de ruissellement, en utilisant d'une part les oeufs et les larves de *C.gigas* comme organismes test, d'autre part les algues fourrage *Isochrysis galbana* et *Chaetoceros calcitrans*.

3.1. Pendant que sévissaient les anomalies (1981)

En 1981, les anomalies de la reproduction se sont manifestées très nettement pendant la saison estivale.

L'eau utilisée pour les expériences a été prélevée pendant les premières heures du jusant; c'est à ce moment là que les pontes les plus importantes sont aussi les plus fréquentes chez *C. gigas*, ainsi que l'ont montré les résultats de l'ostréographie (His, 1976); c'est donc à ce moment qu'ont lieu les fécondations dans le milieu naturel.

Les prélèvements ont été effectués:

- dans le chenal principal du Teychan (Banc, Tès et Com-prian, fig.1), en avril, juin et juillet 1981; à cette dernière date un frai massif dont les véligères ne se sont pas développées vient de se produire.
- dans le port d'Arcachon

Age des larves (jour)	LIEUX ET DATES DE PRÉLÈVEMENT DE L'EAU			
	BANC avril	COMPRIAN avril	BANC juin	Tès juin
1	60,42 ± 0,35	61,42 ± 0,31	57,98 ± 0,36	58,91 ± 0,62
2	71,76 ± 0,59	72,26 ± 0,63	80,54 ± 0,84	80,82 ± 1,03
4	87,22 ± 0,94	88,76 ± 1,07	92,81 ± 1,22	91,27 ± 1,60
6	108,60 ± 1,59	106,06 ± 1,50	127,00 ± 2,27	123,48 ± 2,78
8	127,68 ± 1,95	125,19 ± 2,12	139,51 ± 2,61	148,29 ± 4,35
10	146,49 ± 2,59	147,90 ± 3,21	158,47 ± 3,88	168,03 ± 5,78
12	165,80 ± 4,17	158,31 ± 5,07	194,33 ± 6,69	202,49 ± 5,53

Age des larves (jour)	LIEUX ET DATES DE PRÉLÈVEMENT DE L'EAU			
	COMPRIAN juin	Tès juillet	Océan juillet	PORT DE PLAISANCE juillet
1	59,17 ± 0,47	58,70 ± 0,88	58,70 ± 0,88	62,65 ± 0,68
2	83,48 ± 0,84	67,39 ± 1,15	67,27 ± 0,99	71,88 ± 0,80
4	94,94 ± 1,27	86,45 ± 1,91	91,12 ± 1,44	85,21 ± 1,74
6	133,66 ± 2,65	105,79 ± 2,69	105,45 ± 2,44	88,33 ± 3,74
8	165,34 ± 4,99	132,16 ± 3,60	132,41 ± 3,95	116,71 ± 5,16
10	174,55 ± 4,64	142,18 ± 4,54	174,51 ± 4,08	132,58 ± 4,71
12	199,88 ± 5,51	177,21 ± 6,21	202,83 ± 5,21	169,13 ± 7,57

Tableau 4 : Hauteurs moyennes (μm avec intervalle de confiance au seuil de sécurité de 95%) des véligères de *Crassostrea gigas* élevées en eau du Bassin prélevée dans différents secteurs et à différentes dates et en eau prélevée au large du Cap Ferret (Océan) en 1981.

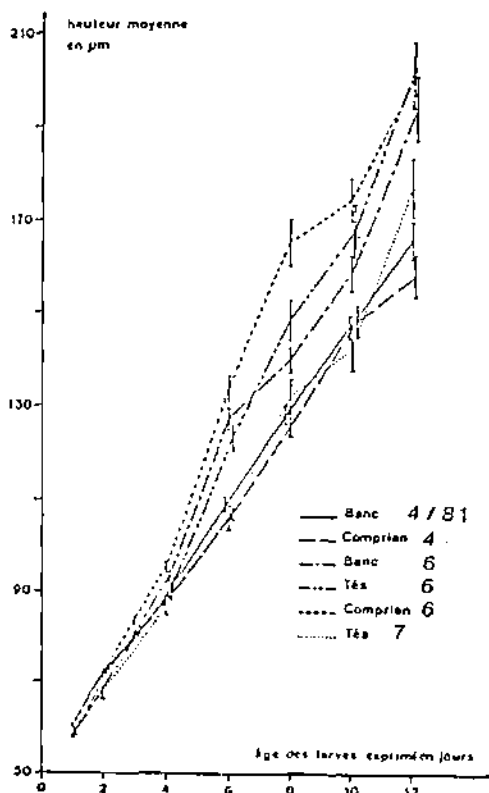


Figure 9 : Croissance des véligères de *C. gigas* en eau prélevée dans différents secteurs du Bassin d'Arcachon en avril, juin et juillet 1981.

- à l'océan, à 5 milles au large du Cap-Ferret; l'eau, dans ce dernier cas, servant à la conduite des élevages témoins.

Pour les expériences en eau du Teychan, les pourcentages d'anomalies et de mortalités ont été inférieurs à 5% pendant la durée des observations, à l'exception des élevages du mois de juillet (Tés) où la valeur de 10% a été atteinte.

Les hauteurs moyennes des véligères ont été comprises entre $158,31 \pm 5,07 \mu\text{m}$ et $202,49 \pm 5,58 \mu\text{m}$ le douzième jour (tabl.4); il n'y a donc pas eu retard de croissance (fig. 9). En effet, le sixième jour les larves évoluées ont constitué de 96% (Tés, juin 1981) à 46% (Tés, juillet 1981) des élevages; toutes les véligères étaient umbonées en fin d'observation. De plus les élevages du mois de juin ont été poursuivis jusqu'au stade pédivéligère et plantigrade. En laboratoire, les larves se développent donc normalement; dans le milieu, avec la même eau (juillet 1981) leur croissance est arrêtée.

Si les perturbations de la reproduction étaient liées à l'action directe d'un micropolluant imputable aux activités nautiques, celui-ci devait a priori être particulièrement abondant dans l'eau du port de plaisance.

En 1981, pontes, fécondations, développement et croissance larvaires ont donc été obtenus en eau de mer prélevée au cours de l'été, dans le port de plaisance, deux heures après la pleine mer, par marée de vives eaux. Les témoins ont été réalisés avec l'eau du chenal principal du Teychan (pointe du Tés).

Les pourcentages de larves anormales ont été relativement importants avec l'eau étudiée (40%); les mortalités sont restées faibles jusqu'au dixième jour (inférieures à 15%), mais ont atteint 40% le douzième jour, en fin d'observations (contre 4% dans les témoins), et ont amené la disparition des véligères anormales. On a pu observer en effet la persistance de larves D dont la hauteur était pratiquement

	Date	Degrés de liberté	F	p
Eau du port d'Arcachon	1981	1	9,30	0,01
	1982 A B	3 3	5,43 2,66	0,01 NS
Eau de ruissellement	15-07-83 C D	3 2	8,13 2,30	0,001 NS
	20-07-83	3	13,55	0,001

NS : non significatif.

Tableau 5 : analyse de variance sur les hauteurs moyennes des véligrères de *C. gigas* obtenues le dernier jour d'expériences .A : témoin, eau prélevée à pleine mer et à mi-marée et à basse mer ; B : témoin, à pleine mer et à mi-marée ; C : témoin, eau du canal, de Cassy et de l'Eyre ; D : témoin, eau du canal et de Cassy (voir figure 20).

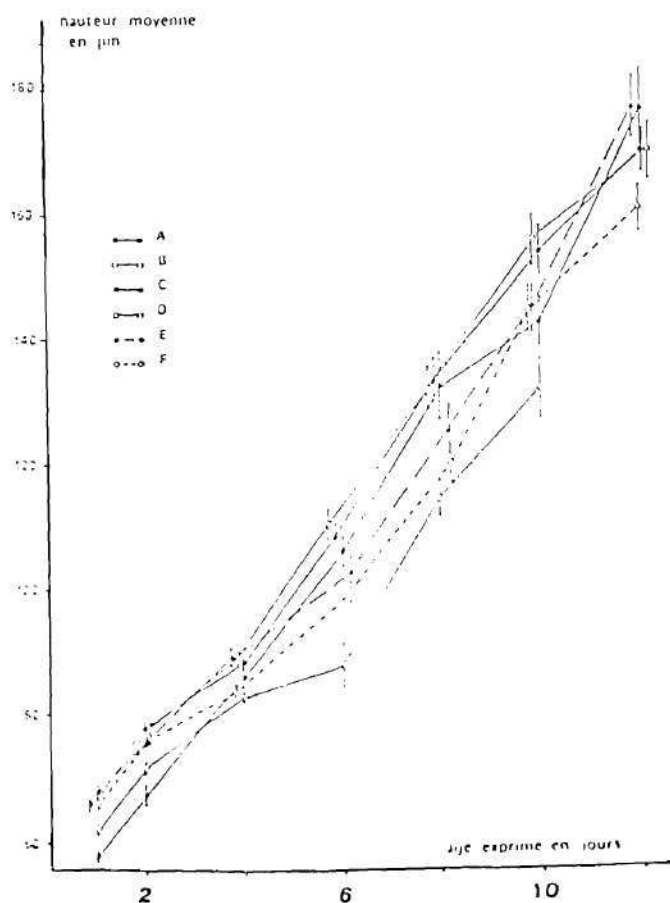


Figure 10 : hauteurs moyennes des larves de *C. gigas* élevées en eau de mer prélevée : A : au Tés (témoin) le 15-7-81 ; B : dans le port d'Arcachon le 15-7-81 ; C : au Tés (avril 1982, témoin) ; D, E, F, dans le port d'Arcachon (avril 1982) à la pleine mer, par 3 heures de descendant et à basse mer.

stationnaire (valeur moyenne de $132,58 \pm 4.70 \mu\text{m}$ contre $142,18 \pm 4.18 \mu\text{m}$ dans les témoins le dixième jour). De plus, l'hétérogénéité de la taille des larves dans les élevages avant que n'interviennent les mortalités, était caractéristique d'un milieu perturbé par la présence de micropolluants.

La différence avec les élevages témoins est donc très nette (tabl.5).

3.2. Après l'interdiction des peintures antisalissure à base d'organostanniques

En 1982, les observations ont été effectuées, au printemps, trois mois après l'interdiction des peintures antisalissure.

L'eau du port a été prélevée à pleine mer, à mi-marée et à basse mer (marée de vives eaux); celle des témoins par deux heures de descendant à la pointe du Tés.

Dans tous les cas, les pourcentages d'anomalies larvaires et de mortalités sont restés faibles (inférieurs à 12% pendant la durée totale d'observations de douze jours). L'étude de la croissance des véligères (fig.10) a montré que le développement a été normal dans tous les cas: l'hétérogénéité de la population en ce qui concerne les tailles des véligères a disparu; l'action d'un micropolluant agissant sur le développement larvaire ne s'est donc plus manifestée.

3. Qualité des eaux de ruissellement qui se déversent dans le Bassin.

Deux séries d'observations ont été réalisées les 15 et 26 juillet 1983 afin de rechercher la présence éventuelle de micropolluants dans les eaux de ruissellement du secteur continental de la baie; celles-ci provenaient du canal des Etangs, du ruisseau de Cassy (drainant une zone de maïssiculture) et du delta de l'Eyre à

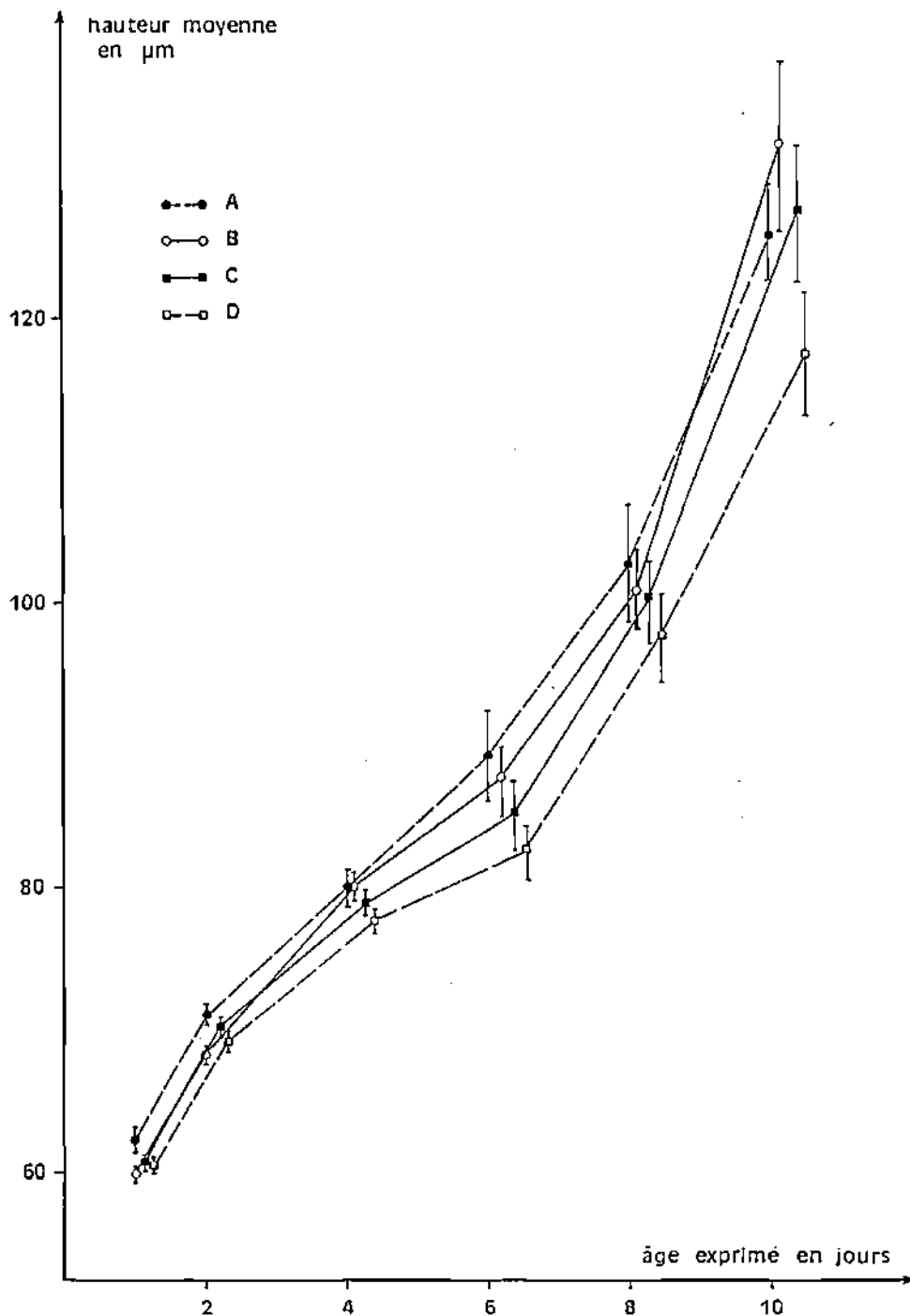


Figure 11 : Hauteurs moyennes (μm , avec intervalle de confiance au seuil de sécurité de 95%) des-véligères de C. gigas élevées : A témoin (eau de l'océan dont la salinité a été ramenée à 27‰ avec de l'eau distillée) ; B, C, et D en eau de mer dont la salinité a été ramenée à 27‰ avec de l'eau prélevée dans le canal des Etangs (B), le ruisseau de Cas-sy (C) et l'Eyre à Biganos (D). Expérience du 15 -7 -1983.

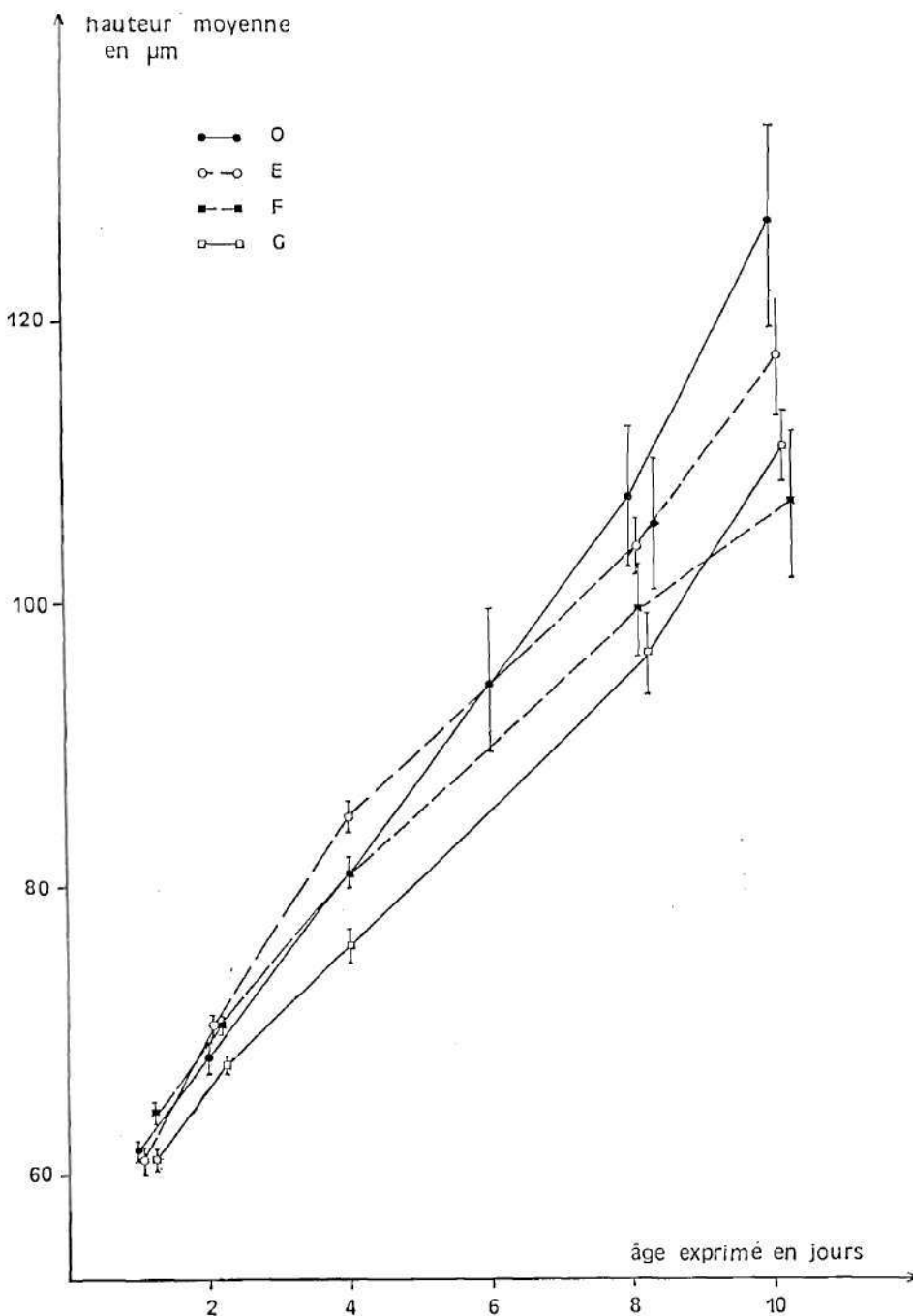


Figure 12 : Hauteurs moyennes (μm , avec intervalle de confiance au seuil de sécurité de 95%) des véligères de *C.gigas* élevées : O témoin (eau de l'océan dont la salinité a été ramenée à 27‰ avec de l'eau distillée) ; E, F et G : eau de mer dont la salinité a été ramenée à 27 p. mille avec de l'eau prélevée dans le canal des Etangs (E), le ruisseau de Cassy (C) et l'Eyre au Teich (G). Expérience du 20 juin 1983.

Biganos (15 juillet) et au Teich (26 juillet).

▪ Expériences du 15 juillet 1983 (figure 11).

Les larves D, obtenues dans les premières 24 heures après les pontes, ont été normales dans tous les cas.

Les mortalités ont été peu importantes en fin d'observations; elles sont comprises entre 1 et 2% (eau de Cassy et de l'Eyre) et 9 à 10% (témoins et eaux du canal des étangs).

La plupart des véligères ont atteint le stade umboné dès le dixième jour; bien qu'il n'existe que peu de différences entre les élevages, les larves élevées en présence d'eau du canal des Etangs (hauteur moyenne de $132,64 \pm 6,01 \mu\text{m}$) se sont mieux développées que les témoins ($125,56 \pm 3,72 \mu\text{m}$) et que les élevages en eau du ruisseau de Cassy ($127,31 \pm 4,58 \mu\text{m}$); la hauteur moyenne obtenue avec les prélèvements du delta de l'Eyre ($118,77 \pm 380 \mu\text{m}$) a été nettement plus faible que les trois autres.

▪ Expérience du 26 juillet 1983 (figure 12).

Les larves D obtenues 24 heures après les fécondations ont été pour la plupart normales (4% d'anomalies dans les témoins et de 2 à 7% dans les tests).

Les pourcentages de mortalités en fin d'observations ont été les suivants: nuls dans les témoins, inférieurs à 2% en eau du canal des Etangs, 17% avec les prélèvements du ruisseau de Cassy et 42% avec ceux du delta de l'Eyre; dans ces deux derniers cas, ils ont donc été relativement importants.

Les hauteurs moyennes plus faibles que dans les élevages témoins ($127,79 \pm 6,77 \mu\text{m}$) ont été par ordre décroissant de $117,8 \pm 2,6 \mu\text{m}$ (canal des Etangs), $111,3 \pm 2,6 \mu\text{m}$ (ruisseau de Cassy) et enfin $107 \pm 4,8 \mu\text{m}$ (estuaire de l'Eyre, Le Teich).

5. Conclusions

Le facteur thermique joue un rôle important dans la vitesse de croissance des larves (Helm et Millican, 1977); son importance par rapport au facteur nutritionnel sera présenté ultérieurement (3ème partie).

On sait que du naisain peut être produit chez les huîtres à la température de 20° C (Lucas, 1980). De plus les fluctuations thermiques subies par les véligères de *C. gigas* n'ont pas permis d'observer les anomalies constatées dans le milieu naturel; d'ailleurs ces anomalies se sont manifestées dans le Bassin d'Arcachon pour des températures de l'eau de la baie supérieures à 22° C (étés 1976 et 1980).

De mauvaises conditions thermiques ne pouvaient donc expliquer les problèmes relatifs à la reproduction de *C. gigas* et au déficit du captage dans le Bassin d'Arcachon.

Par ailleurs, les géniteurs du Bassin, maturés ou non dans la baie, ont permis d'obtenir des larves viables dont le développement larvaire a été satisfaisant: le blocage qui existait lors du passage aux stades umbonés dans le milieu naturel n'a pas été retrouvé puisque dès le huitième jour les hauteurs moyennes des véligères ont été franchement supérieures à la limite des 105 µm, avec une valeur minimum de 129,8 ± 2.8 µm ; les véligères ont présenté des croissances similaires quel qu'ait été le lieu de maturation des huîtres.

La mauvaise qualité des géniteurs n'a pu donc expliquer les anomalies de la reproduction.

De plus, la "qualité biologique " de l'eau de la baie, que ce soit lorsque sévissaient les anomalies (1981) ou ultérieurement, après les restrictions relatives à l'utilisation des peintures antisalissure à base d'organostanniques, est suffisante pour permettre au laboratoire un

développement larvaire normal. Ce résultat a été obtenu en prélevant de l'eau de mer dans les principaux chenaux

Par ailleurs, nous verrons ultérieurement (4ème partie) que l'action de l'acétate de tributylétain se manifeste de façon progressive sur les véligères de *C. gigas* quand la concentration dans l'eau de mer augmente; ceci a rendu possible l'établissement d'une échelle d'action qui permet d'évaluer le degré de contamination de l'eau de mer. Par utilisation de cette échelle (tableau 25), on constate les faits suivants, en ce qui concerne les eaux du port de plaisance d'Arcachon:

- en juillet 1981, l'obtention de véligères normales, dont la croissance est sub-normale, permet de situer le seuil de contamination au dessous de la valeur de $0.05 \mu\text{g. l}^{-1}$, et l'hétérogénéité de la population larvaire, en ce qui concerne les hauteurs, permet d'affirmer que

l'on se trouve au dessus de la limite de 0.02 g.l^{-1} .

- au cours du mois d'avril 1982, au contraire, les faibles taux de mortalité et la croissance observée , même en eau de mer prélevée à basse mer, montrent que l'eau du port contenait, dans la fraction dissoute, moins de $0.02 \mu\text{g. l}^{-1}$ d'organostannique. les mesures relatives à la limitation de leur utilisation ont donc été suivies d'effet, puisqu'on observe une amélioration de la "qualité biologique de l'eau du port de plaisance d'Arcachon dès le mois d'avril 1982.
- en aucun cas les phénomènes qui ont affecté les véligères du Bassin d'Arcachon (arrêt de la croissance et dépigmentation des

véligères), n'ont été observés lorsque les élevages ont été conduits en eau de mer prélevée dans le port de plaisance, que ce soit en 1981 ou en 1982.

Les eaux douces qui se déversent dans le Bassin ne modifient que peu la qualité biologique de cette dernière et ne contiennent pas dans l'ensemble d'élément toxique susceptible d'avoir fortement perturbé la formation ou la croissance des larves D pendant que se manifestaient les anomalies.

De plus il a été démontré que ni les eaux de ruissellement ni les sédiments prélevés à l'émonctoire des principales arrivées d'eau douce ne contenaient d'élément toxique susceptible de perturber les multiplications cellulaires des algues fourrage, *Isochrysis galbana* et *Chaetoceros calcitrans*, utilisées pour l'alimentation des larves de bivalves en éclosérie.

CHAPITRE VI : MISE EN ELEVAGE DES VELIGERES DE *CRASSOSTREA GIGAS*
PROVENANT DU MILIEU NATUREL

Pendant que se manifestaient les anomalies de la reproduction de *C.gigas* les élevages en milieu contrôlé ont permis de démontrer que ni la qualité des géniteurs ni la "qualité biologique" de l'eau vis à vis des larves ne permettaient d'expliquer les échecs répétés du captage dans la baie. L'hypothèse d'une perturbation du régime trophique des véligères, suggérée par la faible coloration de leur tractus digestif, restait à démontrer.

1. Origine des larves et leur comportement dans le milieu naturel

Des larves, provenant d'une ponte de faible intensité qui s'est produite le 29 juillet 1981, ont été mises en élevage, donc alimentées, au laboratoire les 30 et 31 juillet puis le 2 août; elles étaient donc âgées respectivement de un, deux et quatre jours. Les expériences ont été réalisées en eau de mer du bassin prélevée en même temps que les véligères (salinités comprises entre 32.1 et 32.8 p. mille).

Il existe, dans le milieu naturel, une légère augmentation de la hauteur moyenne des véligères, surtout sensible pendant les premières 48 heures (comparer les hauteurs moyennes les second et quatrième jour, fig.13); puis la hauteur est stationnaire; cette croissance correspond à la phase endotrophe pendant laquelle il y a utilisation des seules réserves vitellines.

2. Comportement des véligères mises en élevage

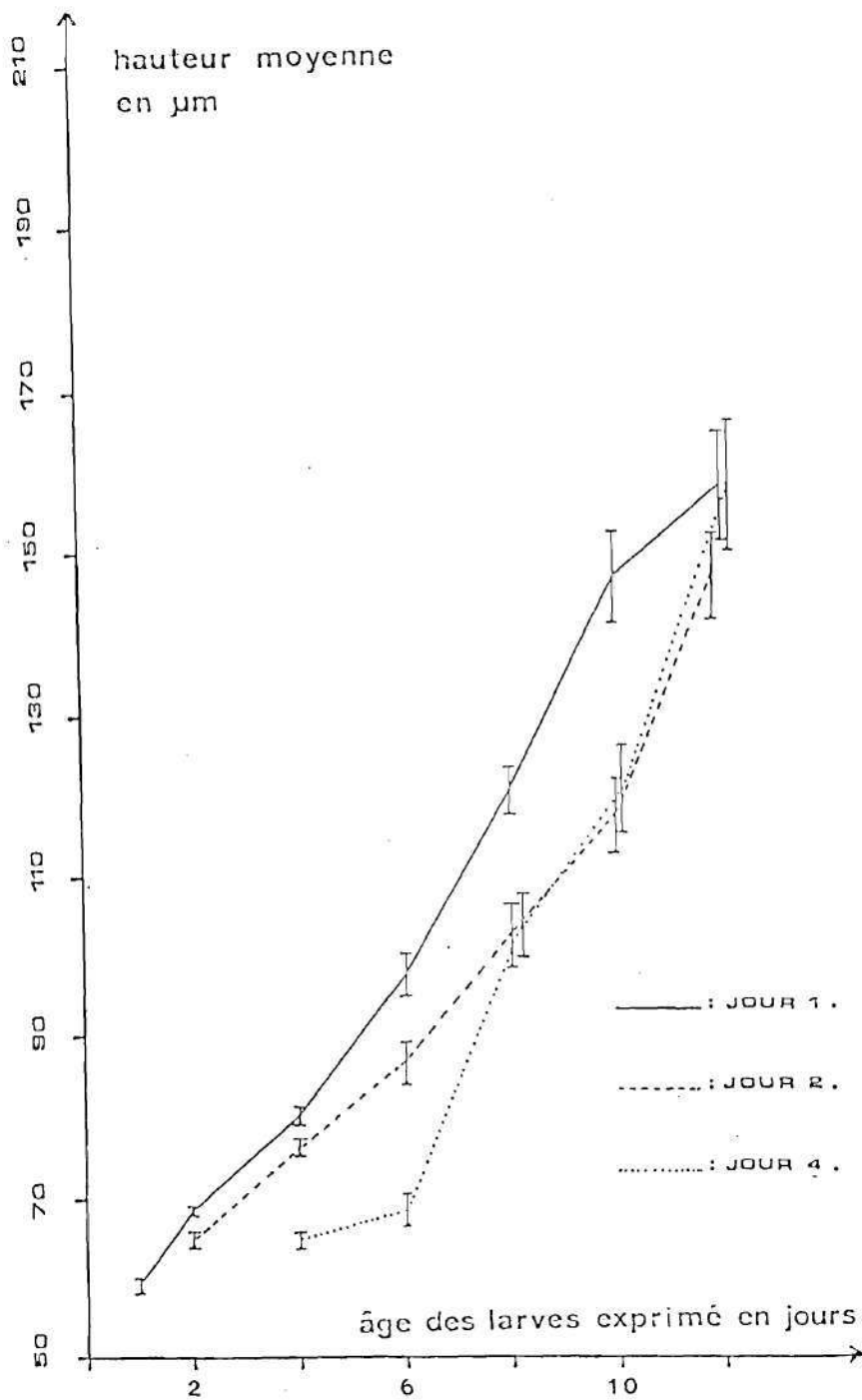


Figure 13 : Croissance des véligères de C.gigas prélevées dans le Bassin d'Arcachon et mises en élevage à différents âges (1, 2 et 4 jours) en eau de la baie, à la température de $24 \pm 21^\circ\text{C}$. (Ponte du 30 - 7 - 81).

Les taux d'anomalies et de mortalité larvaire ont été faibles, 2 et 5% respectivement le 12ème jour pour les véligères prélevées à l'âge de un jour.

Pour ces dernières, 35% étaient évoluées le sixième jour et 85% au bout d'une semaine; le douzième jour 96% des larves étaient umbonées, avec 31% d'évoluées et 65% de moyennes.

La population prélevée à l'âge de deux jours a présenté au moment de la récolte de faibles taux d'anomalie et de mortalité (2 et 3% respectivement) ; la mortalité a atteint 6% en fin d'expériences. Le sixième jour 12% des véligères étaient évoluées et 46% le huitième jour. Le douzième jour 95% des larves étaient umbonées dont 60% au stade évoluées et 35% au stade moyennes.

On pouvait dénombrer une mortalité de 6% sur les véligères lors de leur prélèvement le quatrième jour dans le Bassin et 26% en fin d'expériences, affectant dans ce dernier cas des larves qui avaient peu poussé. Aucune véligère n'était évoluée le sixième jour (deux jours d'élevage en laboratoire). Par contre, dès le huitième jour, 56% des larves ont atteint ce stade et 92% étant umbonées le douzième jour; la population était alors constituée de 40% d'évoluées et de 52% de moyennes.

Les larves prélevées dans le bassin d'Arcachon à différents âges ont donc évolué normalement en laboratoire (fig.13). Dès leur mise en élevage, on a constaté au microscope photonique l'apparition d'une coloration de leur masse viscérale qui n'existait pas dans le milieu naturel lorsque se manifestaient les anomalies; cette coloration traduisait la prise en charge immédiate de la nourriture dès qu'elle était mise à la disposition des larves ; nous verrons à ce propos que les larves élevées en présence de 0.05 $\mu\text{g.l}^{-1}$ de TBT ne s'alimentent pas en présence de la même nourriture, à partir du sixième jour

d'élevage (4ème partie).

Parallèlement à la prise en charge de la nourriture, les véligères du milieu naturel mises en élevage ont présenté une croissance continue, malgré un certain temps de latence observé avant la reprise de la croissance, dans le cas des prélèvements effectués le quatrième jour (fig. 13).

3. Conclusions

Les véligères du milieu naturel n'ont donc présenté aucune anomalie de comportement lorsqu'elles ont été élevées au laboratoire, en eau du Bassin prélevée simultanément, c'est à dire au moment où cette même cohorte n'évoluait pas "in situ"; les véligères ont reçu toutefois en laboratoire une nourriture appropriée ; ceci a permis de penser que les perturbations du développement larvaire dans le Bassin se sont situées au niveau trophique, ce que semblait corroborer l'absence de pigmentation de leur tube digestif. A l'inverse, nous verrons (4ème partie) que la perturbation du régime trophique des véligères par les organostanniques, en milieu expérimental, se traduit par une mauvaise prise en charge de la nourriture. Les deux phénomènes sont donc totalement différents.

les anomalies constatées dans le milieu naturel ne pouvaient donc s'expliquer par l'action directe des sels organométalliques de l'étain sur les véligères elles-mêmes.

Le nanoplancton végétal constitue l'élément essentiel de la nourriture des larves (Lucas, 1982); il contient les pigments nécessaires à la photosynthèse; cette propriété permet d'observer le bol alimentaire contenu dans la glande digestive (Masson, 1975; Lucas et Rangel, 1981). La dépigmentation des larves qui caractérisait les anomalies constatées à Arcachon et la nature trophique du phénomène permettait de supposer que la cause directe se situait au niveau d'une perturbation du nanoplancton lui-même, les véligères ne semblant pas

avoir à leur disposition la nourriture qu'elles peuvent ingérer.

De nombreux travaux ont été consacrés à la nutrition des larves de bivalves. La solution de ces problèmes a conditionné, rappelons-le la réussite de la reproduction des mollusques en milieu contrôlé (Loosanoff et Davis, 1963; Davis et Guillard, 1958; Walne, 1966). Comme le souligne Ukeles (1980) : "on sait très bien que certains flagellés nus constituent la meilleure source de nourriture pour les jeunes larves de *Crassostrea virginica*". La taille des algues est une caractéristique essentielle qui rend de nombreuses espèces inutilisables, en particulier pour les larves D qui ne mesurent que 65 à 70 μm , avec un diamètre buccal relativement étroit". L'auteur rappelle que les exigences nutritionnelles des jeunes stades larvaires sont bien spécifiques et que, si elles ne sont pas satisfaites, il y a arrêt de croissance et mort. Ceci semble correspondre aux phénomènes qui ont été observés à Arcachon de 1976 à 1981.

3EME PARTIE : ETUDES SUR LA NUTRITION DES LARVES DE *CRASSOSTREA GIGAS*

CHAPITRE VII : L'IMPORTANCE RELATIVE DU FACTEUR NUTRITIONNEL

1. Action combinée de la température, de la salinité et de la nutrition
2. Influence de la durée du jeûne sur la survie et la croissance des véligères
 - 2.1. Sous des conditions favorables à la croissance larvaire (30°C et 25 p. mille)
 - 2.1.1. Mortalité larvaire
 - 2.1.2. Prise en charge et digestion des algues fourrage
 - 2.1.3. Croissance larvaire
 - 2.2. Sous des conditions moyennes de milieu (22°C et 35 P. mille)
 - 2.2.1. Mortalité larvaire
 - 2.2.2. Prise en charge et digestion des algues fourrage
 - 2.2.3. Croissance larvaire
3. Discussion

CHAPITRE VIII : LES ALGUES FOURRAGE UTILISEES EN MILIEU CONTROLE POUR L'ALIMENTATION DES LARVES DE BIVALVES

1. Les différentes espèces utilisées

2. Les critères d'utilisation des algues fourrage

CHAPITRE IX : LE PHYTOPLANCTON DU BASSIN D'ARCACHON EN PERIODE ESTIVALE. ROLE POTENTIEL DU NANOPLANCTON DANS LA NUTRITION DES LARVES DE *C. GIGAS*

1. Le microplancton
2. Le nanoplancton
3. Rôle du nanoplancton dans la nutrition des larves de *Crassostrea gigas*
4. Discussion

CHAPITRE X : NUTRITION DES VELIGERES DU BASSIN D'ARCACHON

1. Observations sur les véligères prélevées "in situ"
 - 1.1. Microscopie à épifluorescence et observation des contenus stomacaux sur coupe histologique
 - 1.2. Observations sur les particules captées par les larves dans le milieu naturel
 - 1.3. Croissance linéaire et pondérale et composition biochimique élémentaire des véligères

2. Expérimentations à l'aide de véligères du milieu naturel

2.1. Etude du "grazing"

2.2. Isolement et obtention en culture monospécifique d'algues ingérées par les larves

2.3. Evaluation de la qualité alimentaire des algues isolées du tractus digestif des véligères

2.3.1. Expérience 1

2.3.2. Expérience 2

2.3.3. Expérience 3

2.3.4. Expérience 4

3EME PARTIE

ETUDES SUR LA NUTRITION DES LARVES DE *CRASSOSTREA GIGAS*

L'atteinte du milieu naturel, et l'absence de reproduction des huîtres creuses, pour ce qui concerne plus spécialement le Bassin d'Arcachon, peut s'effectuer au niveau du premier maillon de la chaîne alimentaire : le nanoplancton végétal.

Ceci démontre l'intérêt que présentent des recherches sur la nutrition des larves de bivalves dans le milieu naturel, que ce soit sur le plan descriptif (études qualitatives et quantitatives) ou sur le plan expérimental (essais d'isolement, de mise en culture et d'utilisation pour les élevages des espèces spécifiques du Bassin d'Arcachon, compte tenu de son caractère semi-fermé qui en fait une véritable écloserie naturelle).

Les travaux proposés, à la suite des résultats précédents, concernent donc essentiellement la nutrition des larves de bivalves d'intérêt commercial *in situ*, mais aussi des observations sur la biologie de ces organismes, compte tenu des possibilités particulièrement intéressantes offertes par la faculté de pouvoir isoler, en grandes quantités, et de pouvoir même mettre en élevage, les véligères du milieu naturel.

CHAPITRE VII : L'IMPORTANCE RELATIVE DU FACTEUR NUTRITIONNEL.

Deux conditions sont nécessaires pour que le développement et la croissance larvaire des bivalves se déroulent de façon satisfaisante: des conditions climatiques (température et salinité essentiellement) et des conditions nutritionnelles permettant de satisfaire les besoins des véligères. Lorsque ces deux conditions ne sont pas satisfaites simultanément, il y a échec de la reproduction (Persoone et Claus, 1980).

La capacité de survie des larves d'huîtres lorsque la nourriture est rare ou absente est très importante pour le maintien de l'espèce (Millar et Scott, 1967). On sait que les jeunes véligères de *Crassostrea gigas* sont très exigeantes sur le plan nutritionnel; de plus il existe, au cours de la phase pélagique, une période particulièrement sensible lors du passage de l'endotrophie à l'exotrophie. L'action combinée des facteurs température, salinité et nutrition sur la survie et la croissance des véligères de *C.gigas* a donc été étudiée afin de dégager l'influence relative de chacun de ces facteurs agissant simultanément.

Enfin, à l'issue de périodes de jeûne d'une durée croissante, sous des conditions de milieu optimum d'une part puis moyennes d'autre part, le pouvoir de récupération de ces mêmes véligères (survie, prise en charge de nourriture, reprise de la croissance) a été étudié.

1. Action combinée de la température, de la salinité et de la nutrition.

Quatre niveaux de température (15, 20, 25, et 30°C), quatre niveaux de salinité (20, 25 30 et 35 p.mille) et deux niveaux

S‰	T°C	Age	3	5	7
20% S	15°C	+	64.70±0.75	66.56±0.59	67.46±0.83
		-	64.82±0.94	62.60±1.04	65.03±0.96
	20°C	+	69.55±0.79	72.18±1.98	73.89±1.34
		-	65.06±0.70	66.50±0.85	64.80±0.92
	25°C	+	76.20±1.06	84.80±2.06	103.97±2.73
		-	67.78±1.11	70.19±0.83	69.71±0.99
30°C	+	81.80±1.35	91.98±3.13	120.80±5.56	
	-	69.98±1.14	72.21±1.16	71.24±0.96	
25% S	15°C	+	63.58±0.82	69.15±0.82	76.00±1.57
		-	64.70±0.72	64.89±0.78	64.12±0.56
	20°C	+	68.30±1.05	77.42±0.82	87.99±1.17
		-	66.70±0.85	66.90±0.70	67.20±0.90
	25°C	+	73.17±1.87	88.50±3.07	116.46±5.54
		-	67.83±1.19	71.12±1.08	69.50±0.93
30°C	+	88.43±1.77	112.50±2.55	147.26±6.98	
	-	68.86±0.98	71.23±0.92	71.68±0.79	
30% S	15°C	+	67.80±0.75	69.73±1.30	75.63±1.63
		-	63.85±0.77	66.99±1.07	65.39±0.51
	20°C	+	74.09±1.32	79.70±1.69	84.29±2.24
		-	68.02±0.70	70.52±1.32	71.78±1.19
	25°C	+	84.34±2.12	112.77±2.85	116.62±4.58
		-	71.64±0.87	73.65±0.89	73.97±1.26
30°C	+	90.55±1.59	98.33±2.69	139.12±5.14	
	-	74.77±0.80	76.94±1.36	78.47±1.42	
35% S	15°C	+	67.90±0.82	72.20±1.07	74.00±1.47
		-	65.85±0.65	65.60±0.71	66.70±1.74
	20°C	+	74.53±1.06	82.00±1.76	93.80±2.75
		-	69.23±0.67	70.70±0.75	71.19±0.96
	25°C	+	83.25±0.95	91.30±2.70	111.50±3.25
		-	68.70±1.04	72.36±0.53	72.20±0.71
30°C	+	90.88±1.87	115.07±2.46	137.89±6.44	
	-	71.44±1.07	71.14±0.92	72.20±0.96	

Tableau 6 : Hauteurs moyennes (μm au seuil de sécurité de 95%) des véligères de *C. gigas* élevées à différentes températures et différentes salinités, alimentées (+) ou maintenues à jeun (-). Age des larves exprimé en jours (3, 5 et 7) à partir des fécondations.

SOURCE DE VARIATION	DF	AGE J 3				AGE J 5				AGE J 7			
		MS	% VARIATION TOTALE	F RATIO	P	MS	% VARIATION TOTALE	F RATIO	P	MS	% VARIATION TOTALE	F RATIO	P
T(°C)	3	298.99	30.50	86.16	...	743.43	21.00	19.21	...	2 105.17	17.51	362.04	...
S(‰)	3	44.81	4.57	12.91	...	3.61	2.60	2.42	NS	101.91	0.85	17.53	...
Nutrition	1	526.82	53.76	151.02	...	2 289.11	64.79	59.14	...	8 420.77	70.05	999.99	...
T(°C) X (S‰)	9	3.68	0.37	1.06	NS	26.78	0.76	0.69	NS	9.98	0.08	1.72	NS
T(°C) X nutrition	3	92.98	9.40	26.80	...	309.03	8.74	7.98	..	1 320.71	10.99	227.13	...
(S‰) X nutrition	3	9.45	0.96	2.72	NS	32.78	0.93	0.85	NS	56.90	0.47	9.79	..
Erreur résiduelle	9	3.47	0.36			38.71	1.09			5.81	0.05		
Total	31	980.20				3 533.45				12 021.25			

Tableau 7 : Action de la température, de la salinité et de la nutrition (larves alimentées ou à jeun), pendant sept jours.
Analyse de variance à trois facteurs effectuée tous les deux jours. Age : âge des larves après les fécondations.
- ... : significatif à $p = 0.001$; .. : significatif à $p = 0.01$. - DF : degré de liberté; MS : carré moyen.

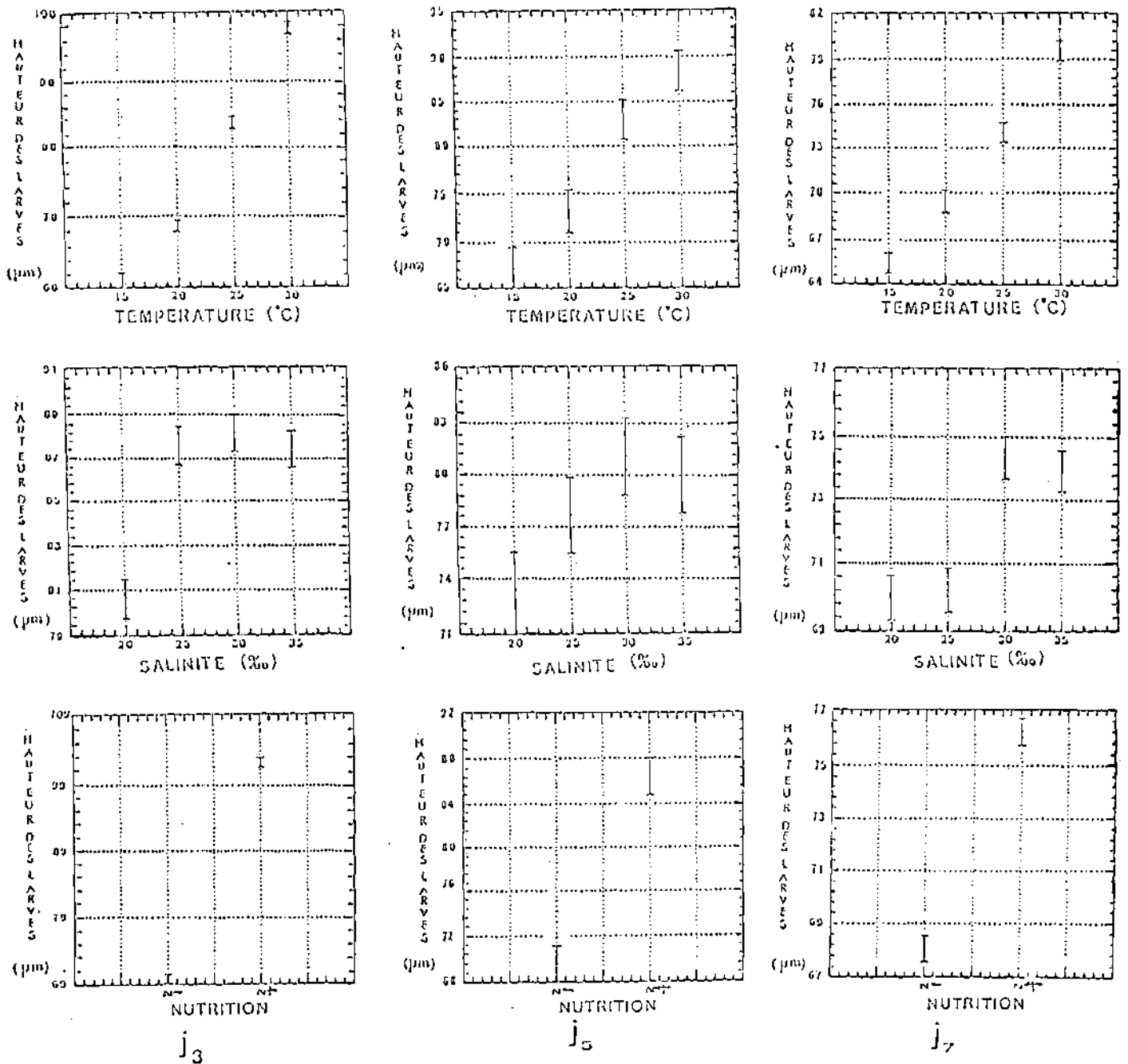


Figure 14 : Influence de la température, de la salinité et de la nutrition sur la hauteur moyenne (μm avec intervalle de confiance au seuil de sécurité de 95%) des larves de *C. gigas* les 3^{ème}, 5^{ème} et 7^{ème} jours d'élevage (J1, J2 et J3). Analyse de variance à trois facteurs. N^+ : larves alimentées ; N^- : larves maintenues à jeun (Erreur standard sur la moyenne).

de nutrition (larves nourries et larves à jeun) ont été retenus.

Les larves alimentées recevaient 50 cellules d'*I.galbana* et 50 cellules de *C.calcitrans forma pumilum* par μ l d'élevage.

Les expériences ont été conduites au laboratoire pendant les sept premiers jours de la vie pélagique, c'est à dire bien au delà de la période de passage de la phase endotrophe à la phase exotrophe, qui intervient généralement entre le 2ème et le 3ème jour.

Après les sept jours de jeûne, des mortalités pouvant atteindre 40%, ont affecté les élevages à la salinité de 35 p.mille; dans tous les autres cas, la plupart des véligères ont survécu.

Mis à part à 15°C, les larves alimentées se sont bien développées aux différentes températures et salinités, alors que celles maintenues à jeun ne présentent pratiquement aucune croissance à partir du troisième jour d 'élevage (tableau 6).

L'importance respective de la nutrition, de la température et de la salinité sur la croissance larvaire aux troisième, cinquième et septième jours est représentée sur la figure 14 (voir tableau 7).

La nutrition est prépondérante dès le troisième jour car elle explique déjà 54% environ de la variance totale observée; le phénomène s'amplifie avec le temps, puisqu'on passe respectivement à 64.8 et 70% les 5ème et 7ème jours. Les écarts de taille entre véligères nourries ou non augmentent eux aussi quand on passe du 3ème au 7ème jours.

Bien que son influence semble diminuer avec le temps, la température agit de façon hautement significative sur la croissance larvaire (30.5% et 17,5% du total de la variance); une élévation de la température s'accompagne d'une augmentation régulière de la taille des larves et la croissance la plus importante s'observe à la valeur de 30°C (figure 14).

L'action de la salinité est peu marquée puisque ce facteur

SOURCE DE VARIATION	DF	AGE				J 5				J 7			
		MS	% VARIA- TION TOTALE	F RATIO	P	MS	% VARIA- TION TOTALE	F RATIO	P	MS	% VARIA- TION TOTALE	F RATIO	P
T(°C)	3	362.16	87.41	74.12	***	1 002.35	85.00	15.69	***	3 376.68	95.68	263.17	***
S(‰)	3	47.29	11.41	9.48	**	112.91	9.59	1.77	NS	139.01	3.96	10.50	**
Erreur résiduelle	9	4.89	1.10			63.00	5.42			12.83	0.36		
Total	15	414.34				1 179.12				3 529.32			

Tableau 8 : Action de la température et de la salinité sur la taille moyenne des larves nourries pendant 7 jours, exprimée en pourcentage de la variance totale. Analyse de variance à 2 facteurs effectuée tous les 2 jours. Age : âge des larves exprimé en jours. - *** : significatif à $p = 0.001$; ** : significatif à $p = 0.01$. - DF : degré de liberté ; MS : carré moyen.

SOURCE DE VARIATION	DF	AGE				J 5				J 7			
		MS	% VARIA- TION TOTALE	F RATIO	P	MS	% VARIA- TION TOTALE	F RATIO	P	MS	% VARIA- TION TOTALE	F RATIO	P
T(°C)	3	29.02	76.34	13.10	**	50.13	76.06	31.13	***	49.20	69.13	16.62	***
S(‰)	3	6.98	17.67	3.03	NS	13.48	20.67	8.37	**	19.01	26.71	6.42	**
Erreur résiduelle	9	2.26	5.79			3.61	2.47			2.96	4.16		
Total	15	39.06				65.22				71.17			

Tableau 9 : Action de la température et de la salinité sur la taille des larves maintenues à jeun pendant 7 jours, exprimée en pourcentage de la variance totale. Analyse de variance à 2 facteurs effectuée tous les 2 jours. Age : âge des larves exprimé en jours. - *** : significatif à $p = 0.001$; ** : significatif à $p = 0.01$. - DF : degré de liberté ; MS : carré moyen.

n'explique que 0.85 et 4.57% de la variance totale; la hauteur moyenne la plus faible s'observe à la valeur de 20 p.mille et la plus élevée à 30 p.mille (figure 14).

Seule l'interaction température X nutrition exerce une action significative du 3ème au 7ème jour (environ 9 à 11% de la variance totale).

Si l'on étudie l'action combinée de la température et de la salinité sur les larves alimentées, en faisant donc abstraction du facteur nutritionnel, on constate que la température explique à elle seule de 85 à 95.7% de la variance totale (tableau 8). Dans le cas de véligères maintenues à jeun, la température explique encore de 69 à 76.9% de la variance totale (tableau 9).

La salinité n'intervient que très faiblement et n'exerce pas une action significative à tous les niveaux. Elle semble avoir une influence plus marquée sur la croissance lorsque les larves ne sont pas alimentées (de 17.9 à 26.7% de la variance totale contre de 4 à 11.4% en présence des algues fourrage).

La nutrition exerce donc une action prépondérante sur la survie et la croissance des larves D de *C.gigas*, malgré la légère augmentation de taille observée en particulier à 30°C sur les individus à jeun et à la salinité de 30 p.mille (12µm entre le premier et le troisième jour), et qui correspond à la phase endotrophe décrite par Gerdes (1983).

Bien que beaucoup moins active que le facteur nutritionnel, la température joue donc aussi un rôle non négligeable, la meilleure croissance pouvant être observée à 30°C, comme chez *C.virginica* (Davis, 1953; Lough, 1975); cette valeur semble être une limite au de-là de laquelle des perturbations du développement larvaire de *C.gigas* sont observées (Helm et Millican, 1977).

Malgré sa faible influence, la salinité exerce une action qui semble varier avec le temps. La croissance la plus faible est observée à la valeur de 20 p.mille et un ralentissement sensible se manifeste à 35 p. mille, avec, rappelons-le, des mortalités larvaires sensibles à cette valeur. En revanche, la salinité de 30 p. mille semble constituer la valeur la plus favorable, ce résultat étant en désaccord avec les 25 p. mille signalés par Helm et Millican (1977).

Précisons enfin que les larves de l'huître plate, *Ostrea edulis* et de la moule de Méditerranée, *Mytilus galloprovincialis*, ont été soumises aux mêmes conditions expérimentales que les précédentes (Robert et al., 1988). Pour ces deux espèces, l'analyse polyfactorielle indique encore que le facteur nutritionnel exerce une action prépondérante (de 75 à 88% de la variance totale en ce qui concerne la croissance larvaire chez l'huître et de 64 à 75% chez la moule).

Seules les véligères de *M.galloprovincialis* sont susceptibles de croître de façon sensible en absence de nourriture particulière .

La température est encore ici le second facteur qui intervient de façon significative sur le développement larvaire; l'optimum est aussi de 30°C chez *O. edulis*, alors que cette valeur ne permet pas le développement larvaire de la moule; chez cette dernière la croissance la meilleure s'observe à 20°C.

En ce qui concerne la salinité, facteur dont l'action est peu marquée, la valeur la plus favorable à la survie et à la croissance des larves de l'huître plate est de 30 p.mille contre 35 P. mille chez la moule de Méditerranée.

2. Influence de la durée du jeûne sur la survie et la croissance des véligères de *Crassostrea gigas*.

La possibilité d'une absence momentanée ou d'une limitation de la nourriture pour les larves de bivalves dans le milieu naturel a été envisagée par de nombreux auteurs (Riisgard *et al.*, 1980; Millar et Scott, 1967; Bayne, 1965). La durée de la phase lécithotrophe et la capacité de survie en absence de nourriture varient selon les espèces. Il semblait donc intéressant d'étudier l'influence de la durée du jeûne sur la capacité des larves de *C.gigas* à récupérer leur potentiel de croissance, que ce soit là encore sous les conditions les plus favorables de milieu précédemment définies (30°C et 30 p.mille de salinité) ou sous des conditions moyennes (22°C et 25 p.mille de salinité).

La nourriture algale a été apportée aux larves D 24 heures après les fécondations (élevages témoins) ou à l'issue d'une période de jeûne variant de 2 à 8 jours après . Les mortalités ont été dénombrées quotidiennement pendant la durée des expériences (15 jours). La prise en charge de la nourriture a été étudiée par la technique de Babinchack et Ukeles, 1979); les pigments chlorophylliens des algues ingérées par les larves sont excités par les rayons ultra-violets et observés à travers la véliconche en microscopie à épifluorescence; l'échelle suivante permet de caractériser l'état nutritionnel des véligères:

- stade I: présence dans la lumière du tube digestif d'algues entières émettant une fluorescence rouge correspondant à la phase d'ingestion.
- stade II: présence d'algues entières et d'algues lysées émettant une fluorescence rouge et orangée qui correspond au début de la digestion.

- stade III: fluorescence orangée ou rose qui correspond à la digestion.
- stade IV: aucune fluorescence, absence d'ingestion ou fin de digestion.

La croissance des larves a été établie à 1.5µm près, par mensuration de la hauteur moyenne de 50 véligères pour les différents types d'élevages.

2.1. Sous des conditions favorables à la croissance larvaire (30°C et 30 p.mille).

2.1.1. Mortalité larvaire.

De très faibles mortalités affectent les élevages soumis à un jeûne de trois jours (6%); le quart des individus est éliminé après quatre jours de jeûne et l'adjonction ultérieure de nourriture permet la survie de 64% des véligères.

Une absence d'apport algal pendant cinq jours aboutit à la mort de 42% des larves, avec stabilisation ultérieure à la valeur de 54% après l'apport de nourriture. Enfin les élevages sont totalement décimés lorsque les algues ne sont fournies aux élevages que les 6ème et 7ème jours.

2.1.2. Prise en charge et digestion des algues fourrage.

Les larves D âgées de 24 heures s'alimentent deux heures après l'adjonction de la nourriture (tabl.10) et la digestion est très rapide (76% de stades III en six heures). Pratiquement tous les individus se sont nourris au bout de 24 heures (absence totale de stade IV).

DATE DE LA PREMIERE ALIMENTATION EN JOURS	TEMPS EN HEURES											
	2				6				24			
	STADES DE DIGESTION (EN %)				STADES DE DIGESTION (EN %)				STADES DE DIGESTION (EN %)			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
N+J1	9	0	0	91	0	17	76	7	0	7	92	1
N+J2	4	23	73	0	2	29	68	1	0	3	97	0
N+J3	1	8	21	70	2	6	38	54	4	8	61	27
N+J4	0	2	3	95	4	1	5	90	15	2	15	68
N+J5	5	3	6	86	2	6	14	78	14	3	9	74

Tableau 10 : Etat nutritionnel des larves de *C. gigas* alimentées 24 heures (N+J1), 2, 3, 4 et 5 jours (N+J2... N+J5) après les fécondations. Observations effectuées 2, 6 et 24 heures après l'adjonction de la nourriture. Les stades de la digestion sont ceux de Babinchak et Ukeles (1979). Température 30±1°C; salinité 30p. mille.

	NOMBRE DE JOURS d'ALI- MENTATION	PREMIER JOUR D'ALIMENTATION					
		N+J1	N+J2	N+J3	N+J4	N+J5	N+J6
30°	9	-	110,7 à 126,9	-	90,0 à 101,2	-	-
-	10	115,3 à 139,7	-	121,9 à 140,9	-	87,1 à 101,3	-
25°.	11	-	131,7 à 145,1	-	102,0 à 125,2	-	-

Tableau 11 : Comparaison des accroissements linéaires exprimés en microns, en fonction de la durée initiale du jeûne et de la durée des périodes d'alimentation chez les larves de *C. gigas*. Température 30±1°C salinité 30p. mille.

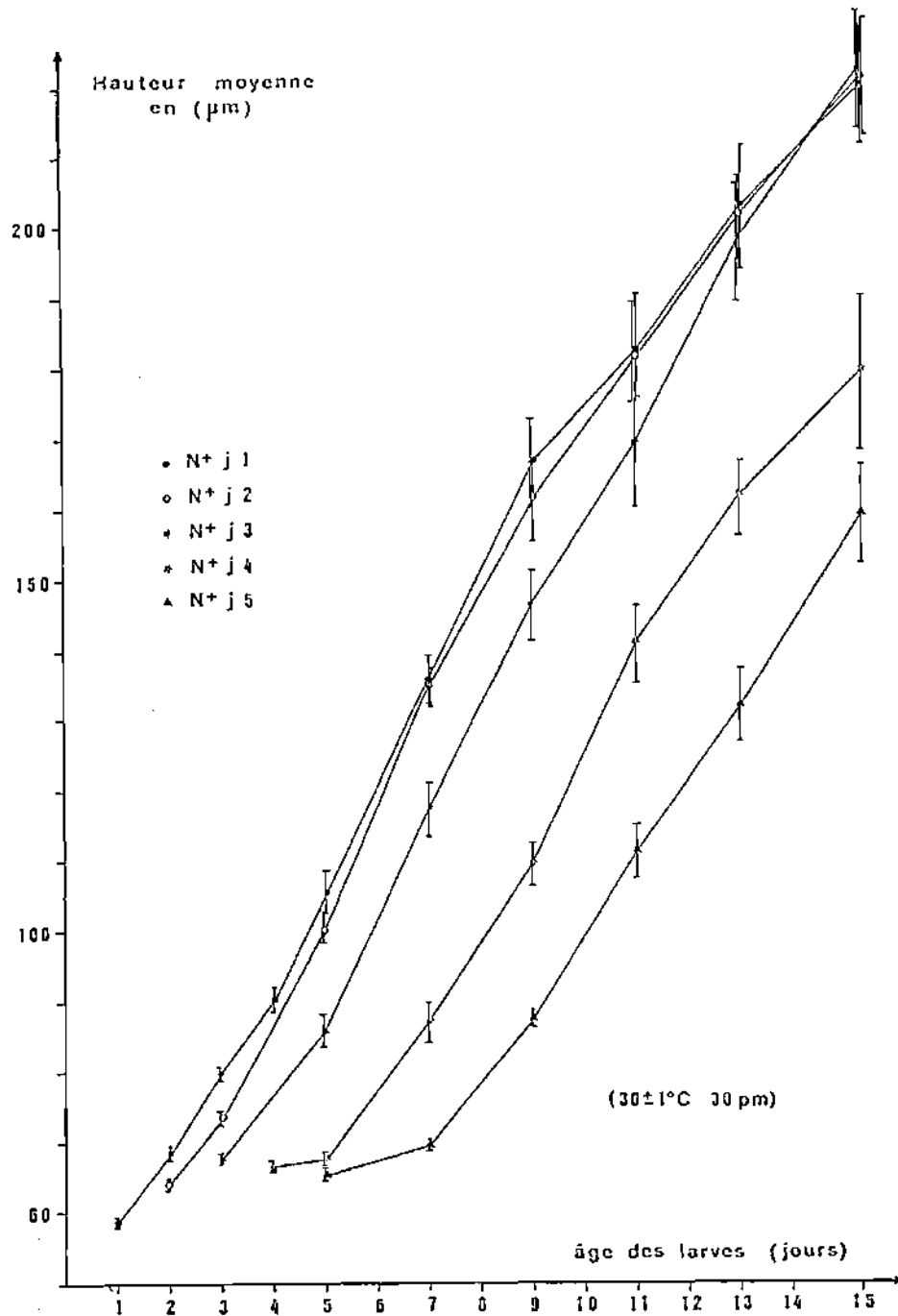


Figure 15 : Hauteurs moyennes en μm exprimées au seuil de sécurité de 95% des larves de C.gigas alimentées 24 heures après les fécondations ($N^+ J_1$), 2, 3, 4 et 5 jours après les fécondations ($N^+ J_2$, $N^+ J_3$, $N^+ J_4$ et $N^+ J_5$ respectivement). Température d'élevage 30°C ; salinité 30‰.

A l'issue d'un jeûne de 24 heures, les véligères ont ingéré et sont en train de digérer les algues fourrage, deux heures après avoir été mises en présence de la nourriture (stades II et III); puis ingestion et digestion se poursuivent. Le comportement est donc très voisin de celui des précédentes.

Une période de latence s'observe à l'issue de trois jours de jeûne: 2 heures, 6 heures et 24 heures après l'apport d'algues, respectivement 70%, 54% et 27% des véligères ont leur tube digestif vide. Le retard augmente avec la durée du jeûne (68% et 74% de véligères non alimentées au bout de 24 heures, après des jeûnes respectifs de 4 et 5 jours).

2.1.3. Croissance larvaire.

Pendant les trois premiers jours de la vie pélagique, la hauteur moyenne augmente même en absence de nourriture (passage de $58.6 \pm 0.6 \mu\text{m}$ à $67.7 \pm 0.7 \mu\text{m}$); puis il n'y a reprise de la croissance que lorsque la nourriture est apportée (tableau 11 et fig. 15). Les hauteurs moyennes des véligères alimentées les premier, second et troisième jours sont pratiquement identiques en fin d'observations ($221,1 \pm 8,7 \mu\text{m}$; $222,2 \pm 7,5$ et $223,2 \pm 8,5 \mu\text{m}$); le léger retard observé au départ chez les dernières est compensé dès le 13ème jour d'expériences. Par contre la croissance des véligères qui survient après un jeûne de 4 et 5 jours est fortement affectée jusqu'au 15ème jour; les hauteurs moyennes ne sont que de $180,3 \pm 11,0 \mu\text{m}$ et $160,0 \pm 7,0 \mu\text{m}$); néanmoins le stade umboné est encore très largement atteint.

Les croissances ont été comparées en fonction de la durée du jeûne, mais aussi en fonction de la durée des périodes d'alimentation (tableau 11).

Quand les larves ont été nourries 9 jours, l'adjonction

de la nourriture au bout de 48 heures permet un gain de taille compris entre 110,7 et 126,9 μm , alors qu'un jeûne de quatre jours ne permet de gagner que de 90 à 101,2 μm .

Quand les larves ont reçu les algues pendant 10 jours, l'absence de nourriture au départ pendant 72 heures permet encore une croissance comprise entre 121,7 et 140,9 μm ; si le jeûne est porté à 5 jours, elle n'est plus que de 87,1 à 101,3 μm .

Enfin onze jours d'alimentation permettent un gain compris entre 131,7 et 141,5 μm pour un jeûne de deux jours, contre 102,0 et 125,2 μm pour un jeûne de quatre jours, chez les larves qui ont survécu, dans ce dernier cas.

2.2. Sous des conditions moyennes de milieu (22°C et 25 p. mille).

2.2.1. Mortalité larvaire.

Les premières mortalités, peu importantes (7 à 12%) sont notées en fin d'observation (13ème et 15ème jour) chez les véligères qui ont jeûné 3 à 4 jours; elles sont encore relativement peu importantes (30%) quand le jeûne atteint 5 jours, se manifestent entre le 9ème et le 13ème jour et se stabilisent ultérieurement.

Par contre, bien que des véligères puissent survivre huit jours en absence de l'apport algal (80% de survie), des mortalités apparaissent à l'issue de 6 jours de jeûne et déciment progressivement les élevages, l'adjonction de nourriture ne permettant la survie que de 20% des individus, le 15ème jour.

Toutes les véligères ont été peu à peu éliminées quand l'apport de nourriture a été différé aux 7ème et 8ème jours.

2.2.2. Prise en charge et digestion des algues fourrage.

DATE DE LA PREMIERE ALIMENTATION EN JOURS	TEMPS EN HEURES											
	2				6				24			
	STADES DE DIGESTION (EN %)				STADES DE DIGESTION (EN %)				STADES DE DIGESTION (EN %)			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
N+ J1	2	0	0	98	16	0	0	84	3	45	40	12
N+J2	45	32	7	16	33	38	18	11	19	42	17	22
N+J3	79	21	0	0	10	78	12	0	24	64	11	1
N+J4	28	62	6	4	53	40	4	3	26	45	13	16
N+J5	55	26	2	17	43	32	6	19	41	11	2	46
N+J6	67	15	2	16	61	17	1	21	33	41	1	25
N+J7	43	12	0	45	27	28	5	40	32	17	1	50

Tableau 12 : Etat nutritionnel des larves de *C. gigas* alimentées 24 heures (N+J1), 2, 3, 4, 5, 6 et 7 jours (N+J2... N+J7) après les fécondations. Observations effectuées 2, 6 et 24 heures après l'adjonction de la nourriture. Les stades de la digestion sont ceux de Babinchak et Ukeles (1979). Température 22±1°C; salinité 25 p. mille.

	NOMBRE DE JOURS D'ALI- MENTATION	PREMIER JOUR D'ALIMENTATION					
		N+J1	N+J2	N+J3	N+J4	N+J5	N+J6
22°C 30‰	9	-	66,4 à 78,0	-	47,4 à 63,9	-	26,4 à 35,0
	10	82,4 à 91,8	-	68,9 à 87,7	-	44,2 à 53,0	-
	11	-	83,4 à 97,4	-	71,9 à 86,3	-	-

Tableau 13 : Comparaison des accroissements linéaires exprimés en microns, en fonction de la durée initiale du jeûne et de la durée de la période d'alimentation chez *C. gigas*. Température 22±1°C; salinité 25 p. mille.

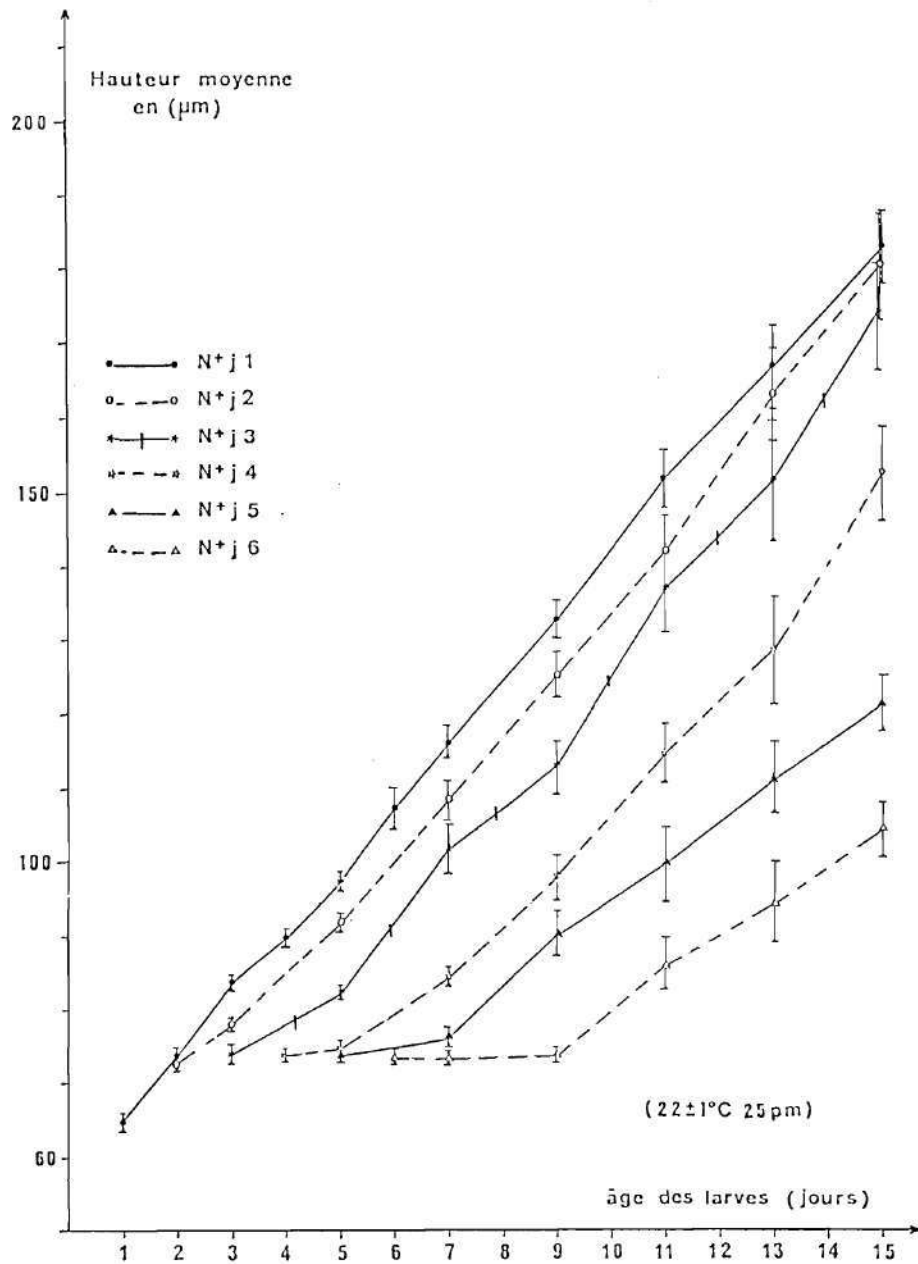


Figure 16 : hauteurs moyennes en μm exprimées au seuil de sécurité de 95% des larves de *C. gigas* alimentées 24 heures après les fécondations ($N^+ J_1$), 2, 3 ... 6 jours après les fécondations ($N^+ J_2$, $N^+ J_3$... $N^+ J_6$). Température d'élevage 22°C ; salinité 25‰.

Pour les élevages alimentés dès les premières 24 heures (tabl. 12), la prise en charge de la nourriture n'intervient (16% de stades I) qu'au bout de six heures, soit 30 heures après la fécondation ; la digestion est très lente (40% de stades III au bout de 24 heures, après l'apport de nourriture).

Dans tous les cas, le jeûne stimule la prise en charge de la nourriture qui intervient dans les deux heures après l'adjonction des algues; la digestion a même commencé (stade II bien représenté).

Lorsque le jeûne initial a été compris entre 2 et 4 jours, les processus de digestion sont bien engagés dès les premières 24 heures; moins de 25% des sujets présentent un tube digestif vide. Ce pourcentage est franchement dépassé puisqu'on peut noter jusqu'à 50% de véligères au stade IV, après des jeûnes de 5 à 7 jours; de la même façon les stades III sont eux aussi moins bien représentés.

2.2.3. Croissance larvaire

Là encore une croissance de 10 μm s'observe pendant les trois premiers jours de la vie pélagique, même en absence de nourriture (phase endotrophe) puisqu'on passe de $64,7 \pm 0,8 \mu\text{m}$ à $74,0 \pm 1,0 \mu\text{m}$ (figure 16); puis il faut attendre l'apport d'algues pour que la hauteur moyenne augmente de nouveau, dans le cas contraire elle reste pratiquement constante jusqu'au 9^{ème} jour.

Comme précédemment, il n'existe que peu de différences en ce qui concerne les hauteurs moyennes des véligères alimentées au bout de 1, 2 et 3 jours après les fécondations (valeurs respectives de $183,0 \pm 5,3 \mu\text{m}$; $181,0 \pm 7,2 \mu\text{m}$ et $174,0 \pm 7,5 \mu\text{m}$).

Un retard de croissance proportionnel à la durée du jeûne s'observe par contre quand celui-ci passe à 4 jours et au delà (fig. 16). On observe en particulier une période de latence de plus en

plus longue après l'adjonction des algues avant que la reprise de la croissance ne se manifeste :

- la hauteur moyenne passe de $74,2 \pm 0,9 \mu\text{m}$ à $84,7 \pm 1,4 \mu\text{m}$ en trois jours, à l'issue d'une absence de nourriture initiale de 4 jours.
- elle ne varie pratiquement pas pendant les premières 72 heures ($74,3 \pm 0,6 \mu\text{m}$ à $74,4 \pm 0,9 \mu\text{m}$) à l'issue d'un jeûne de six jours, avec rappelons-le, de faibles mortalités. Néanmoins, dans ce dernier cas, 20% des véligères atteignent encore le stade umboné en fin d'observations.

Au delà de la limite de six jours de jeûne, pendant la durée de survie des véligères, aucune croissance n'est observée, ce qui s'explique par la mauvaise prise en charge de la nourriture précédemment mentionnée.

Si l'on considère les élevages dans lesquels le taux de survie final a été égal ou supérieur à 20% (jeûne d'une durée inférieure ou égale à 6 jours) l'adjonction de nourriture permet donc une reprise de la croissance chez les larves qui ont survécu.

Les croissances ont été comparées en fonction de la durée des différentes périodes de jeûne ou d'alimentation (tabl. 13).

- pour 9 jours d'alimentation, la croissance larvaire diminue quand la durée du jeûne passe de 2 à 4 et 6 jours, avec des valeurs comprises entre $66,4$ et $78 \mu\text{m}$, $47,3$ et $63,9 \mu\text{m}$ et enfin $26,4$ et $35 \mu\text{m}$ respectivement.
- pour 10 jours d'alimentation les véligères

qui ont subi un jeûne de trois jours (gain compris entre 68,9 et 87,7 μm) compensent en partie la différence observée avec celles qui ont été alimentées dès les premières 24 heures (82,4 μm à 91,8 μm); par contre le jeûne de cinq jours diminue très sensiblement l'accroissement de la hauteur moyenne (gain de 44,2 à 53,0 μm).

Enfin quand le nombre de jours pendant lesquels les larves ont été alimentées passe de 9 à 11, l'incidence du jeûne initial de 4 jours tend à s'atténuer si l'on compare avec les larves qui ont eu les algues à leur disposition au bout de 24 heures (tabl.13).

3. Discussion.

Le facteur nutritionnel exerce donc une action prépondérante sur le développement larvaire dès le troisième jour après les fécondations puisqu'il explique à lui seul jusqu'à 70% de la dynamique de croissance.

La possibilité d'une absence momentanée ou d'une limitation de la nourriture pour les larves de Bivalves peut donc rapidement hypothéquer les chances de reproduction d'une espèce.

Il est généralement admis que les concentrations de nourriture nécessaires à une croissance optimum des véligères en laboratoire, sont supérieures aux concentrations rencontrées dans les eaux littorales; un développement rapide et des taux de survie élevés *in situ* dépendent donc de "patches" ou de concentrations anormales de nourriture (Paulay *et al.*, 1985).

Il existe, chez les véligères de bivalves, une phase lécithotrophe bien marquée, au delà de laquelle des mortalités interviennent si la nourriture fait défaut. Ainsi, chez *C. gigas*, pour les températures et les salinités les plus favorables à la croissance, des mortalités

importantes se manifestent à partir du quatrième jour de jeûne, alors que sous des conditions moyennes, elles interviennent le sixième jour; parallèlement la digestion des algues fourrage est fortement perturbée.

En ce qui concerne les croissances, l'adjonction d'algues au laboratoire (ou la rencontre de concentrations de nourriture par les larves dans le milieu naturel), peut n'intervenir que 2 à 3 jours après la ponte.

Aux températures élevées particulièrement favorables au développement larvaire, un jeûne égal et surtout supérieur à quatre jours affecte très nettement le développement; à l'inverse, sous des conditions moyennes de milieu, l'absence de nourriture particulière pendant les cinq premiers jours de la vie pélagique permet, à l'issue d'une période de latence plus ou moins longue, la reprise de la croissance.

Rappelons que lors des études des anomalies de la reproduction de *C. gigas* dans le Bassin d'Arcachon, les larves pêchées quatre jours après la ponte et mises en élevage, reprenaient leur croissance en présence de la nourriture algale; cette observation correspond bien aux données expérimentales présentées ici.

Une comparaison avec les véligères d'*O. edulis* (Robert *et al.*, 1988) de *M. galloprovincialis* et de *Pecten maximus* (Salaün, 1985), permet de constater que les véligères de l'huître creuse présentent des possibilités de survie au jeûne plus limitées que les précédentes; cette sensibilité se trouve renforcée par l'existence vraisemblable d'un spectre d'espèces relativement réduit au niveau des algues fourrage qui semblent pouvoir satisfaire les besoins alimentaires des jeunes véligères du genre *Crassostrea* (Davis, 1953).

ALGUE FOURRAGE	TYPE DE MOLLUSQUE (LARVES)	REFERENCE AUTEURS
<u>Amphora perpusilla</u>	<u>Mytilus edulis</u>	Leroux et coll., 1973
<u>Bellerophon polymorpha</u>	<u>Crassostrea gigas</u>	Sunderlin et coll., 1976
<u>Chaetoceros calcitrans</u>	<u>Ostrea edulis</u>	Helm, 1969 ; Takeda, 1974 ; Wilson, 1978
	<u>Crassostrea gigas</u>	Helm & Millican, 1977
	<u>Mytilus galloprovincialis</u>	Nascimento, 1980 Csernok, 1977
<u>Chlamydomonas sp.</u>	<u>Crassostrea virginica</u>	Davis & Guillard, 1958
	<u>Mercenaria mercenaria</u>	
	<u>Mytilus edulis</u>	Hirano & Oshima, 1963 ; Nie & Ji, 1980
<u>Chlorella ellipsoidea</u>	<u>Ostrea edulis</u>	Takeda, 1974
<u>Chlorella marina</u>	<u>Ostrea edulis</u>	Walne, 1963
<u>Chlorella stigmatophora</u>	<u>Ostrea edulis</u>	Walne, 1963
<u>Chlorella sp.</u>	<u>Crassostrea virginica</u>	Davis, 1953 ; Davis & Guillard, 1958
	<u>Mercenaria mercenaria</u>	Davis & Guillard, 1958
	<u>Mytilus edulis</u>	Bayne, 1965 ; Leroux, 1975 a ; Nie & Ji, 1980
	<u>Mytilus galloprovincialis</u>	Masson, 1977
<u>Chlorococcum sp.</u>	<u>Crassostrea virginica</u>	Davis & Guillard, 1958
	<u>Mercenaria mercenaria</u>	
	<u>Mytilus edulis</u>	Leroux, 1975 a
<u>Chromulina pleiades</u>	<u>Crassostrea virginica</u>	Davis, 1953
	<u>Ostrea edulis</u>	Walne, 1956
<u>Coccolithus sp.</u>	<u>Mytilus edulis</u>	Nie & Li, 1980
<u>Chrysothrix planktonicus</u>	<u>Crassostrea virginica</u>	Dupuy, 1975
<u>Cricosphaera aff. carturau</u>	<u>Mytilus edulis</u>	Leroux, 1975 b
<u>Cryptomonas acuta</u>	<u>Ostrea edulis</u>	Walne, 1956
<u>Cryptomonas sp.</u>	<u>Crassostrea virginica</u>	Loosanoff & Davis, 1963
<u>Cyclotella sp.</u>	<u>Crassostrea virginica</u>	Loosanoff & Davis, 1963
	<u>Mercenaria mercenaria</u>	
<u>Dicrateria laornata</u>	<u>Crassostrea virginica</u>	Davis, 1953
	<u>Ostrea edulis</u>	Walne, 1956
	<u>Crassostrea gigas</u>	Millican & Helm, 1973
<u>Dicrateria sp.</u>	<u>Mercenaria mercenaria</u>	Loosanoff & Davis, 1963
<u>Dunaliella euchlora</u>	<u>Mercenaria mercenaria</u>	Davis & Guillard, 1958
<u>Dunaliella tertiolecta</u>	<u>Ostrea edulis</u>	Walne, 1963
<u>Dunaliella primolecta</u>	<u>Mytilus edulis</u>	Leroux, 1975 a
<u>Dunaliella sp.</u>	<u>Crassostrea virginica</u>	Davis & Guillard, 1958
	<u>Mercenaria mercenaria</u>	
	<u>Mytilus edulis</u>	Nie & Ji, 1980
<u>Hemiselmis rufescens</u>	<u>Crassostrea virginica</u>	Davis, 1953
<u>Imantonia rotunda</u>	<u>Ostrea edulis</u>	Wilson, 1978
<u>Isochrysis galbana</u>	<u>Crassostrea virginica</u>	Davis, 1953 ; Davis & Guillard, 1958 ; Dupuy 1975
	<u>Crassostrea gigas</u>	Helm & Millican, 1977 ; Wilson, 1978 ; Nascimento, 1980 ; Cerdeira, 1983
	<u>Ostrea edulis</u>	Walne, 1963 ; Helm, 1977 Wilson, 1978
	<u>Mercenaria mercenaria</u>	Davis & Guillard, 1958
	<u>Mytilus edulis</u>	Bayne, 1965 ; Leroux, 1975 a, Newkirk & Kough 1980
<u>Isochrysis aff. galbana</u>	<u>Crassostrea virginica</u>	Ewart & Epifanio, 1981
<u>Micromonas pusilla</u>	<u>Ostrea edulis</u>	Walne, 1956
<u>Micromonas sp.</u>	<u>Mytilus edulis</u>	Leroux, 1975 a
<u>Monas sp.</u>	<u>Ostrea edulis</u>	Imai et coll., 1953
	<u>Ostrea lurida</u>	Imai et coll., 1954

Tableau 14 : (voir fin page suivante).

ALGUE FOURRAGE	TYPE DE MOLLUSQUE (LARVES)	REFERENCE AUTEURS
<u>Nannochloris atomus</u>	<u>Ostrea edulis</u> <u>Mytilus edulis</u> <u>Crassostrea gigas</u>	Walne, 1956 Bayne, 1965 Millican & Helm, 1973 His et coll., 1985
<u>Nannochloropsis oculata</u>	<u>Crassostrea virginica</u>	Dupuy, 1975
<u>Navicula sp.</u>	<u>Mytilus edulis</u>	Nie & Ji, 1980
<u>Olisthodiscus sp.</u>	<u>Mercenaria mercenaria</u>	Loosanoff & Davis, 1963
<u>Pavlova lutheri</u>	<u>Ostrea edulis</u> <u>Ostrea lurida</u> <u>Crassostrea virginica</u> <u>Crassostrea gigas</u> <u>Mercenaria mercenaria</u> <u>Mytilus edulis</u> <u>Mytilus galloprovincialis</u>	Imai et coll., 1953 ; Walne, 1963 ; Takeda, 1974 ; Wilson, 1978 Imai et coll., 1954 Davis & Guillard, 1958 Dupuy, 1975 Millican & Helm, 1973 Davis & Guillard, 1958 Bayne, 1965 ; Leroux, 1975 a ; Newkirk & Waugh 1980 Csernok, 1977 ; Masson, 1977
<u>Phaeodactylum tricorutum</u>	<u>Crassostrea virginica</u> <u>Crassostrea gigas</u> <u>Ostrea edulis</u> <u>Mercenaria mercenaria</u> <u>Mytilus edulis</u>	Davis & Guillard, 1958 Wilson, 1978 Walne, 1963 ; Wilson, 1978 Davis & Guillard, 1958 Bayne, 1965 ; Nie & Ji, 1980
<u>Prymnesium parvum</u>	<u>Ostrea edulis</u> <u>Crassostrea virginica</u> <u>Mercenaria mercenaria</u> <u>Mytilus edulis</u>	Walne, 1956 Davis & Guillard, 1958 Leroux, 1975 a
<u>Pseudoisochrysis paradoxa</u>	<u>Crassostrea virginica</u> <u>Crassostrea gigas</u> <u>Ostrea edulis</u>	Dupuy, 1975 Nascimento, 1980 Wilson, 1978
<u>Pyramimonas grossii</u>	<u>Crassostrea virginica</u> <u>Ostrea edulis</u>	Davis, 1953 Walne, 1956
<u>Pyramimonas obovata</u>	<u>Crassostrea gigas</u>	Nascimento, 1980 ; Millican & Helm, 1973
<u>Pyramimonas virginica</u>	<u>Crassostrea virginica</u> <u>Crassostrea gigas</u>	Dupuy, 1975 Nascimento, 1980
<u>Rhodomonas sp.</u>	<u>Crassostrea virginica</u>	Loosanoff & Davis, 1963
<u>Scenedesmus obliquus</u>	<u>Mercenaria mercenaria</u>	Hidu & Ukeles, 1962
<u>Skeletonema costatum</u>	<u>Mercenaria mercenaria</u> <u>Mytilus edulis</u>	Loosanoff & Davis, 1963 Leroux, 1975 b ; Nie & Ji, 1980
<u>Stichococcus sp.</u>	<u>Crassostrea virginica</u> <u>Mercenaria mercenaria</u>	Davis & Guillard, 1958
<u>Synechococcus elongatus</u>	<u>Ostrea edulis</u>	Walne, 1956
<u>Tetraselmis impellucida</u>	<u>Mytilus galloprovincialis</u>	Csernok, 1977
<u>Tetraselmis suecica</u>	<u>Crassostrea gigas</u> <u>Ostrea edulis</u>	Helm & Millican, 1977 Helm, 1977 ; Wilson, 1978
<u>Tetraselmis sp.</u>	<u>Mytilus galloprovincialis</u> <u>Crassostrea virginica</u> <u>Mercenaria mercenaria</u> <u>Mytilus edulis</u>	Masson, 1977 Davis & Guillard, 1958 Nie & Ji, 1980
<u>Thalassiosira pseudonana</u>	<u>Crassostrea gigas</u>	Sunderlin et coll., 1976

Tableau 14 (fin) : liste des algues monocellulaires testées pour
alimenter les larves de Bivalves par les différents
auteurs.

CHAPITRE VIII : LES ALGUES FOURRAGE UTILISEES EN MILIEU CONTROLE POUR L'ALIMENTATION DES LARVES DE BIVALVES

1 Les différentes espèces utilisées

La difficulté principale pour la mise au point de la reproduction des bivalves en milieu contrôlé a été l'obtention d'une nourriture satisfaisante pour les larves.

L'utilisation d'algues monocellulaires dont la culture a pu être obtenue de façon fiable, a permis de résoudre en grande partie les problèmes posés. En particulier les données acquises ont rendu possible la reproductibilité des élevages larvaires.

Une synthèse sur l'ensemble des algues utilisées à ce jour pour la reproduction des bivalves a donc été réalisée; les principales espèces ont été décrites (voir Chrétiennot-Dinet *et al.* 1986); les caractéristiques qui ont permis leur sélection sont présentées ici (tabl. 14).

Avec les algues qui ont été testées sur les juvéniles (nourriceries), une cinquantaine d'espèces appartenant à 37 genres ont été expérimentées sur neuf mollusques répartis en quatre genres.

La fréquence d'utilisation des principales algues fourrage a fait l'objet d'enquêtes dans les écloséries commerciales. La synthèse des données de Walne (*in* COST, 1978) et de Lucas (1980) montre qu'une dizaine d'espèces seulement sont employées en aquaculture (tabl. 15).

2. Les critères d'utilisation des algues fourrage

Trois critères sont nécessaires pour qu'une algue unicellulaire soit utilisée en éclosérie ou en nourricerie pour une espèce de

ALGUE-FOURRAGE	Fréquence d'utilisation (en pourcentage) d'après LUCAS, 1980	Fréquence d'utilisation (en pourcentage) d'après WALNE in COST, 1978
<i>Chaetoceros calcitrans</i> ***	37,5	40
<i>Dunaliella primolecta</i> *	25	0
<i>Isochrysis galbana</i> ***	75	80
<i>Isochrysis aff. galbana</i> "Tahiti" **	0	20
<i>Nannochloropsis oculata</i> *	25	0
<i>Pavlova lutheri</i> ***	62,5	70
<i>Phaeodactylum tricornutum</i> *	12,5	50
<i>Pseudoisochrysis paradoxa</i> **	62,5	50
<i>Pyramimonas virginica</i> *	37,5	0
<i>Skeletonema costatum</i> **	12,5	20
<i>Tetraselmis suecica</i> ***	25	60
<i>Thalassiosira pseudonana</i> ***	62,5	40

Valeur nutritive : *** très bonne; ** : bonne; * moyenne.

Tableau 15 : Pourcentages d'utilisation des principales "algues fourrage" dans les écloseries commerciales.

Bivalve donnée: une taille adéquate, une bonne qualité nutritionnelle et une relative facilité de culture.

En effet la taille des cellules algales est un facteur limitant. Le faible diamètre de la bouche et de l'oesophage des larves de bivalves empêche l'ingestion des particules de plus de 10 μm (Thorson, 1950; Fritz *et al.*, 1984), la taille précise des proies dépendant de l'espèce considérée et de l'âge des véligères.

La qualité nutritionnelle d'une algue est fonction à la fois du type de mollusque en élevage et de son stade de développement. Il existe différents degrés dans le comportement des larves de bivalves vis à vis de la nourriture (Loosanoff et Davis, 1963): les huîtres du genre *Crassostrea* sont particulièrement exigeantes et le nombre d'algues utilisables pour les nourrir est restreint; *Mytilus edulis* et *Mercenaria mercenaria* sont plus tolérantes et donc susceptibles de se développer à partir d'un nombre plus important d'organismes phytoplanctoniques; enfin les huîtres du genre *Ostrea* appartiennent à un groupe intermédiaire car elles sont plus tolérantes que les *Crassostrea* mais plus exigeantes que les *Mytilus* et les *Mercenaria*.

D'autre part, en dehors de la notion d'espèce, plus une larve est âgée, plus elle est tolérante. Ainsi des véligères de *Crassostrea virginica* sont-elles incapables d'utiliser des algues du genre *Chlorella* (4-7 μm) dans les premiers jours de leur vie (Babinchak et Ukeles, 1979) alors qu'elles s'en nourrissent après une semaine environ, lorsqu'elles atteignent la taille de 110 μm (Loosanoff et Davis, 1963).

Quant aux qualités intrinsèques des organismes phytoplanctoniques, plusieurs hypothèses ont été formulées pour tenter d'expliquer les résultats particulièrement bons obtenus avec certaines espèces. La présence ou l'absence de paroi cellulaire épaisse a ainsi été avancée par Cole (1937) et Walne (1956, 1963) qui

démontrent que la croissance des véligères d'*Ostrea edulis* est faible lorsqu'elles sont alimentées avec des algues à paroi épaisse. Cette hypothèse, par contre, n'est pas retenue par Loosanoff et Davis (1963).

La composition biochimique globale des algues (protéines, glucides, lipides, carbone, silice, phosphore et cendres) n'apporte pas d'explication complémentaire puisqu'elle est similaire chez onze espèces phytoplanctoniques alors que leur qualité nutritionnelle diffère (Parson *et al.*, 1961). La composition biochimique d'une algue varie en effet non seulement en fonction du milieu de culture choisi (Walne, 1970; Wikfors *et al.*, 1984) mais aussi en fonction de l'âge de la culture (Epifanio, 1979_a); cet auteur n'a pas pu relier la croissance des larves et des juvéniles à la composition biochimique des rations alimentaires. L'étude de la séquence des acides aminés n'apporte pas davantage de réponse à ce problème (Walne, 1970; Epifanio, 1979_b)

Par contre, il semblerait que la nature des lipides de la ration alimentaire intervienne dans la notion de qualité nutritionnelle. Certains acides gras insaturés, particulièrement ceux du groupe 6-w-3 favorisent la croissance des larves et des juvéniles d'huîtres (Langdon et Waldock, 1981; Webb et Chu, 1981).

A l'heure actuelle, aucune des caractéristiques avancées ne peut, à elle seule, expliquer la qualité nutritive d'une algue mais tous les auteurs reconnaissent la supériorité d'une nourriture de type pluri-algal.

Lorsque les véligères reçoivent un apport phytoplanctonique plurispécifique, elles ont un taux de filtration très supérieur (2 à 3 fois plus élevé) en comparaison de celles qui sont soumises à une alimentation quantitativement égale, mais de type monoalgal. La prise de nourriture est donc plus importante et se traduit par une croissance accélérée (Gerdes, 1983).

Le troisième paramètre, concernant la facilité de production

en culture, est particulièrement important dans les nourriceries de type industriel où les quantités d'algues produites peuvent atteindre 10 000 litres par jour (Le Borgne *et al.*, 1978). Dans ce contexte, les caractéristiques physiques de la culture tiennent une place prépondérante. Ainsi, *Tetraselmis suecica*, considérée comme une algue de très haute valeur nutritive pour les larves et le naissain d'*O.edulis* (Walne, 1970; Helm, 1977) et de *C.gigas* (Helm et Millican, 1977) est peu utilisée en France car sa forte tendance à la sédimentation la rend difficilement utilisable. D'une façon générale, on peut remarquer que les espèces de très bonne qualité nutritionnelle sont fragiles en culture. C'est le cas de *Pavlova lutheri*, *Isochrysis galbana* et *Chaetoceros calcitrans*. Aussi des espèces plus résistantes, telles *Isochrysis aff. galbana* (*Isochrysis* " Tahiti ") et *Chaetoceros gracile* leur sont-elles préférées dans les écloséries-nurseries industrielles, malgré une qualité nutritive moindre, comme nous avons pu le constater à plusieurs reprises, tout au moins en ce qui concerne *I. aff. galbana*, vis à vis des végétaux de *Crassostrea gigas*.

Diverses sources nutritionnelles ont été utilisées pour tenter d'alimenter larves et juvéniles de bivalves (levures et macrophytes broyés etc.), mais elles se sont révélées peu efficaces (Masson, 1977; Epifanio, 1979a). Seuls les travaux de Nie et Ji (1980) portant sur des larves de *Mytilus edulis* nourries avec du lait de soja font état de résultats intéressants et reproductibles. L'utilisation d'algues lyophilisées semble prometteuse (Hidu et Ukeles, 1962; Masson, 1977), ainsi que celle des microcapsules enrichies (Langdon, 1983); néanmoins, à l'heure actuelle, seules les algues unicellulaires vivantes produites en culture contiennent tous les éléments propres à satisfaire les besoins alimentaires des jeunes stades de bivalves élevés en éclosérie ou en nourricerie.

Il est souhaitable d'élargir l'éventail des espèces utilisées à ce jour, afin de mieux satisfaire les besoins des mollusques. Ceci

implique une meilleure connaissance du régime alimentaire des véligères du milieu naturel et la possibilité d'isoler et de mettre en culture les souches des zones conchylicoles où la reproduction des bivalves est satisfaisante.

L'ensemble de ces données en ce qui concerne l'alimentation des larves de Bivalves, a été obtenu à la suite de différentes expériences de laboratoire et en écloserie. Elles montrent que les algues nanoplanktoniques jouent un rôle prépondérant, mais il n'est pas certain que les espèces utilisées soient toujours présentes en abondance dans le milieu ; il faut rapeler la très bonne qualité de *Chaetoceros calcitrans* forma *pumilum* qui est une forme induite de culture.

Des observations sur le nanoplancton du Bassin d'Arcachon en période de reproduction étaient donc nécessaires, afin de mieux comprendre les mécanismes qui interviennent pour assurer le bon développement des larves de *C. gigas* dans le milieu naturel.

CHAPITRE IX : LE PHYTOPLANCTON DU BASSIN D'ARCACHON EN PERIODE ESTIVALE.
ROLE POTENTIEL DU NANOPLANCTON DANS LA NUTRITION DES
LARVES DE *C. GIGAS*

Les anomalies du développement larvaire pouvaient s'expliquer par une perturbation du nanoplancton (disparition d'éléments nutritionnels et remplacement éventuel par des espèces non utilisables par les véligères).

La poursuite des investigations impliquait des observations sur le phytoplancton de la baie en période de reproduction ; celui-ci avait été peu étudié jusqu'à ces dernières années (Borde, 1938; Lubet, 1955; Escande-Labrouche, 1964) ; il était donc très difficile de mettre en évidence les perturbations du régime trophique des véligères, suggérées par les données expérimentales, en comparaison des données antérieures.

Le retour à une situation normale dans la baie au cours de l'été 1982 a permis d'effectuer les premières observations sur le phytoplancton de ce centre ostréicole qui se caractérise par des conditions de milieu particulièrement favorables à la reproduction des bivalves ; une attention particulière a été portée au nanoplancton dont on sait qu'il constitue l'élément essentiel de la nutrition des véligères (Lucas, 1982).

Les observations, échelonnées du 20 avril à la mi-septembre 1982, ont été effectuées au microscope inversé d'Utermöhl et ont porté sur l'ensemble du microplancton (20 à 50 μm) et du nanoplancton (5 à 20 μm) végétal (tabl. 16 et fig. 17).

1. Le microplancton

Date	29/4	12/5	24/5	15/6	24/6	2/7	8/7	16/7	22/7	23/7	2/8	17/8	19/8	3/9	13/9
MICROPLANCTON															
<u>Diatomées pélagiques</u>															
Nitzschia seriata	100	0,1													0,6
Chaetoceros curvinctus	63	9,6	75,8												0,7
Rhizosolenia setigera		7,7	0,8	0,04	2,6	1	4,3	0,6	0,3	0,2	1,1	0,3		0,2	0,5
Thalassionema nitzschioides	9,6	1,5	1,5	1,2	0,4	0,2		1,4				0,6		0,6	0,4
<u>Diatomées benthiques</u>															
Cocconeis spp	2,7	3,1	2,7	2,6	33	16,5	0,6	1,4	1,7	4,1	2,6	8,7	3	0,9	7,5
Autres	4,6	17	6,9	5,2	7	1,7	0,1	2,6	0,6	1,2	0,3	2,3	2	1	0,9
<u>Dinoflagellés</u>															
	2,4	1,8	5	3,5	1	0,4	0,3	6,2	0,2	0,1			0,3		1
TOTAL MICROPLANCTON	195	49	220	22	46	22	7,5	19	9	7	14	19	12	7	38
NANOPLANCTON															
Cyclotella sp.	9	27	14	21	99	262	118	564	7	50	12	12	12	2	20
Cryptophycées				130	71	127	3	52	52	219	97	59	120		45
Cocconeis spp	15	4,3		16	12	94	3,5	5	7,1	16	16,5	40	45	1,2	26
Diatomées Pennées	4,5	27	23	16	45	35	3,5	12	2,4	14	7,1	21	16,5	1,2	
Tetraselmis sp		3		2,4				21	9	75	7,1	7	30		12
TOTAL NANOPLANCTON	16,5	66	44	316	342	545	137	715	87	420	165	139	292	5	150

Tableau 16 : Variations des effectifs cellulaires (10^3 cel.l^{-1}) des principales espèces micro et nanoplanctoniques au cours de l'été 1982.

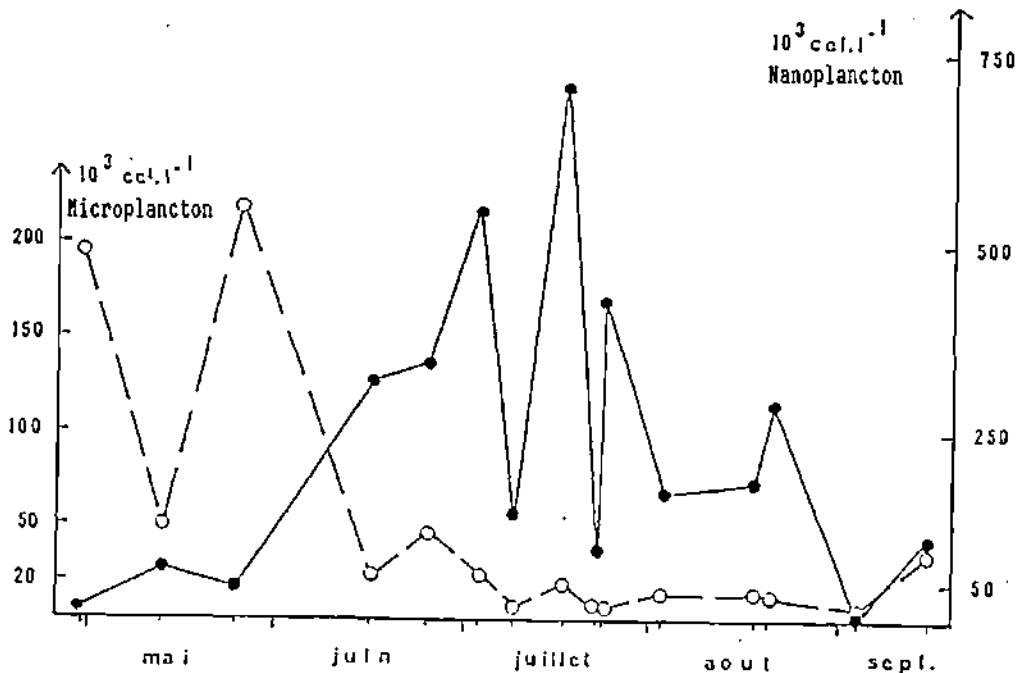


Figure 17 : Variations des effectifs cellulaires microplanctoniques (cercles clairs et tirets) et nanoplanctoniques (points noirs et trait) plein au cours de l'été 1982.

Le microplancton présente des effectifs cellulaires variant de $7 \cdot 10^3$ cellules.l⁻¹ à $2,2 \cdot 10^5$ cellules l⁻¹.

En mai, nous observons une certaine abondance planctonique ($1,95 \cdot 10^5$ cellules.l⁻¹ et $2,2 \cdot 10^5$ cellules . l⁻¹) correspondant à la fin de la floraison printanière et précédant la période de pauvreté estivale (effectifs rarement supérieurs à $2 \cdot 10^4$ cellules.l⁻¹).

Les espèces rencontrées sont mentionnées dans les études précédemment citées. Ce sont principalement des Diatomées pélagiques, *Nitzschia seriata* Cleve, *Chaetoceros curvisetus* Cleve, *Rhizosolenia setigera* Brightwell et *Thalassionema nitzschioides* Grunow.

Des Diatomées benthiques ou épiphytiques caractéristiques du plancton du bassin, dominant occasionnellement la population. Le genre *Cocconeis* est présent dans l'ensemble des récoltes en assez grande quantité le 24 juin ($3,3 \cdot 10^4$ cellules. l⁻¹).

Les Dinoflagellés ne sont jamais très abondants (tabl.16); ils sont surtout représentés en juin et juillet.

Signalons la présence d'Euglénophycées relativement nombreuses dans les prélèvements du 12 mai ($5 \cdot 10^{-3}$ cellules . l⁻¹).

2. Le nanoplancton

Les effectifs cellulaires du nanoplancton varient de quelques milliers de cellules par litre à $7,15 \cdot 10^5$ cellules . l⁻¹ (tableau 16).

A partir de la mi-juin, commence à se développer une population nanoplanctonique assez abondante ($3,16 \cdot 10^5$ cellules. l⁻¹) qui, au cours du mois de juillet, devient importante malgré des fluctuations ($9 \cdot 10^4$ à $7,15 \cdot 10^5$ cellules. l⁻¹).

En août, les effectifs commencent à diminuer puis atteignent un niveau peu élevé en septembre (fig. 17).

Les variations importantes observées dans ces numérations peuvent s'expliquer par les phénomènes de microdistribution spatiale et par le broutage effectué par le zooplancton. En particulier dans le prélèvement du 8 juillet, en plus de nombreux Tintinnides, Copépodes et larves diverses, 1060 . l⁻¹ véligères de *C. gigas* ont été dénombrées, ce qui peut expliquer les faibles effectifs nanoplanctoniques relevés.

Le nanoplancton observé est assez diversifié ; il est dominé par une Diatomée centrique *Cyclotella sp.*, des Cryptophycées, des Diatomées Pennées avec en particulier *Cocconeis* et des Flagellés dont *Tetraselmis sp.* ; *Chaetoceros sp* et des Dinoflagellés ont également été dénombrés mais en quantités moins importantes.

Cyclotella sp., d'un diamètre de 4 à 7,5 µm représente en moyenne 50% des effectifs dans les prélèvements du 15 juin au 16 juillet. Les Cryptophycées, à ces mêmes dates constituent en moyenne 20% de la population, puis à partir du 23 juillet, deviennent le groupe principal. Leur taille varie de 4 à 5 µm pour les plus petites à 7,5 à 12 µm pour les plus grandes, ces dernières étant surtout présentes à partir de la fin juillet (longueur de 9 à 12 µm). Les tailles des Diatomées Pennées varient de 2,5 à 6 µm pour les plus petites à 7 à 20 µm pour les plus grandes ; elles s'échelonnent de 6 à 9 µm à 17 à 30 µm pour *Cocconeis*. La longueur de *Tetraselmis sp.*, qui est de 5 à 6 µm, est moins variable ; cette algue représente respectivement 18% et 17% de la population les 23 juillet et 19 août.

Le microplancton et le nanoplancton végétal suivent des évolutions différentes: à une poussée de microplancton en mai, succède jusqu'à la fin août, une dominance de nanoplancton.

3. Rôle du nanoplancton dans la nutrition des larves de *C. gigas*

Au cours de l'été 1982, la reproduction de l'huitre japonaise

a été particulièrement abondante. Elle s'est caractérisée par une succession de frais d'intensités différentes, du 20 juin au 30 juillet, avec des concentrations en larves atteignant respectivement $1.25 \cdot 10^5$ larves D . m^{-3} , $1.75 \cdot 10^3$ larves D . m^{-3} et $2.6 \cdot 10^5$ larves D . m^{-3} le 21 juin et les 8 et 12 juillet. La croissance des véligères a été satisfaisante et le captage qui en a résulté particulièrement abondant.

On peut constater que les émissions larvaires se sont produites en période de floraison nanoplanctonique avec l'apparition des premières larves mi-juin, et intensification de la reproduction jusqu'à la mi-juillet, date des maximums algaux. Les caractéristiques de ce nanoplancton permettent de penser qu'il a constitué une nourriture potentielle pour les véligères de *Crassostrea gigas*:

- une très grande fraction de la population présente des tailles moyennes de 5 μm et maximales de 8 μm ; d'après les observations de laboratoire ces dimensions sont optimales pour assurer l'alimentation des véligères, particulièrement pendant les premiers jours de leur vie pélagique (Ukeles et Sweeney, 1969 ; Walne et Helm, 1974 ; Masson, 1975 ; Helm et Millican, 1977).

Cyclotella sp., Diatomée centrique, se rapproche par sa petite taille de *Chaetoceros calcitrans* qui est utilisée en laboratoire pour l'alimentation des larves de *C.gigas* (Laing, 1979) ; elle pourrait donc avoir joué au cours de l'été 1982, un rôle important du fait de sa relative abondance. De même les Cryptophycées, qui sont difficiles à cultiver sont peu utilisées expérimentalement mais pourraient occuper *in situ* une place non négligeable. Une partie importante des Diatomées Pennées est aussi susceptible d'être ingérée surtout si l'on considère que seule la dimension la plus faible (largeur) est limitante (Wal-

ne, 1964).

▪ la diversité de la population algale augmente la probabilité de la présence de souches de bonne qualité nutritive pour les larves de *C.gigas*. Elle offre de plus la possibilité d'une alimentation pluri-spécifique qui répond aux besoins nutritionnels des véligères de Bivalves tels qu'ils ont été définis expérimentalement (Davis et Guillard, 1958; Millican et Helm, 1973).

4. Discussion

Les études générales sur le phytoplancton du Bassin d'Arcachon ont été poursuivies d'avril à décembre 1984 (Chretiennot-Dinet (1984) et par Guillocheau (1988) dont une partie des observations recouvre pleinement la période de reproduction des huîtres, au cours de l'été de 1985. Lors de ces deux années, l'abondance du captage met en évidence des conditions de milieu particulièrement favorables à la phase larvaire des huîtres.

Les deux auteurs confirment les évolutions différentes du microplancton et du nanoplancton observées en 1982. L'inventaire des genres et des espèces rencontrées a montré que le plancton, bien diversifié, est largement dominé par les Diatomées (115 taxons sur 146 inventoriés) et le tiers des espèces appartient au nanoplancton (Chretiennot-Dinet, 1984). En période estivale l'ultraplancton (dimension inférieure à 10 μm) représente 94% de la biomasse totale ; les deux auteurs constatent que le nanoplancton et l'ultraplancton jouent un rôle prépondérant dans la production primaire puisqu'ils contribuent à 78% de celle-ci en période estivale. De même les phytoflagellés nanoplanctoniques et ultraplanctoniques sont plus abondants l'été, mais les floraisons sont généralement dues à des Diatomées de petite taille parmi lesquelles les Cyclotelles et les Navicules ; beaucoup d'entre elles sont d'origine benthique ; les mouvements importants des masses d'eau liés à la faible profon-

deur du bassin d'Arcachon permettent une remise en suspension des espèces de taille réduite qui peuvent participer ainsi à la ration alimentaire des jeunes larves.

Enfin, comme nous l'avions observé au cours de l'été de 1982, pour 1984 et 1985 les floraisons nanoplanctonique ou ultraplanctoniques se produisent de façon très opportune, puisque le développement de ces algues susceptibles, par leur taille, de servir de nourriture aux larves d'huîtres, coïncide avec la période de reproduction de *C.gigas*. Ainsi Chretiennot-Dinet (1984) tente de mettre en relation les populations nanoplanctoniques et les larves d'huîtres ; dans la partie continentale du Bassin, l'apparition d'un nombre élevé de larves dans le milieu entraîne, dans les jours qui suivent, une diminution sensible de la biomasse nanoplanctonique ; le phénomène suspecté en 1982, correspond donc vraisemblablement à la pression du broutage par les larves. De la même façon, Guillocheau (1988) fait état d'une chute brutale de la biomasse ultraplanctonique qui pourrait être consécutive, le 5 juillet 1985, à un frai massif de l'huître japonaise qui a eu lieu le 3 juillet.

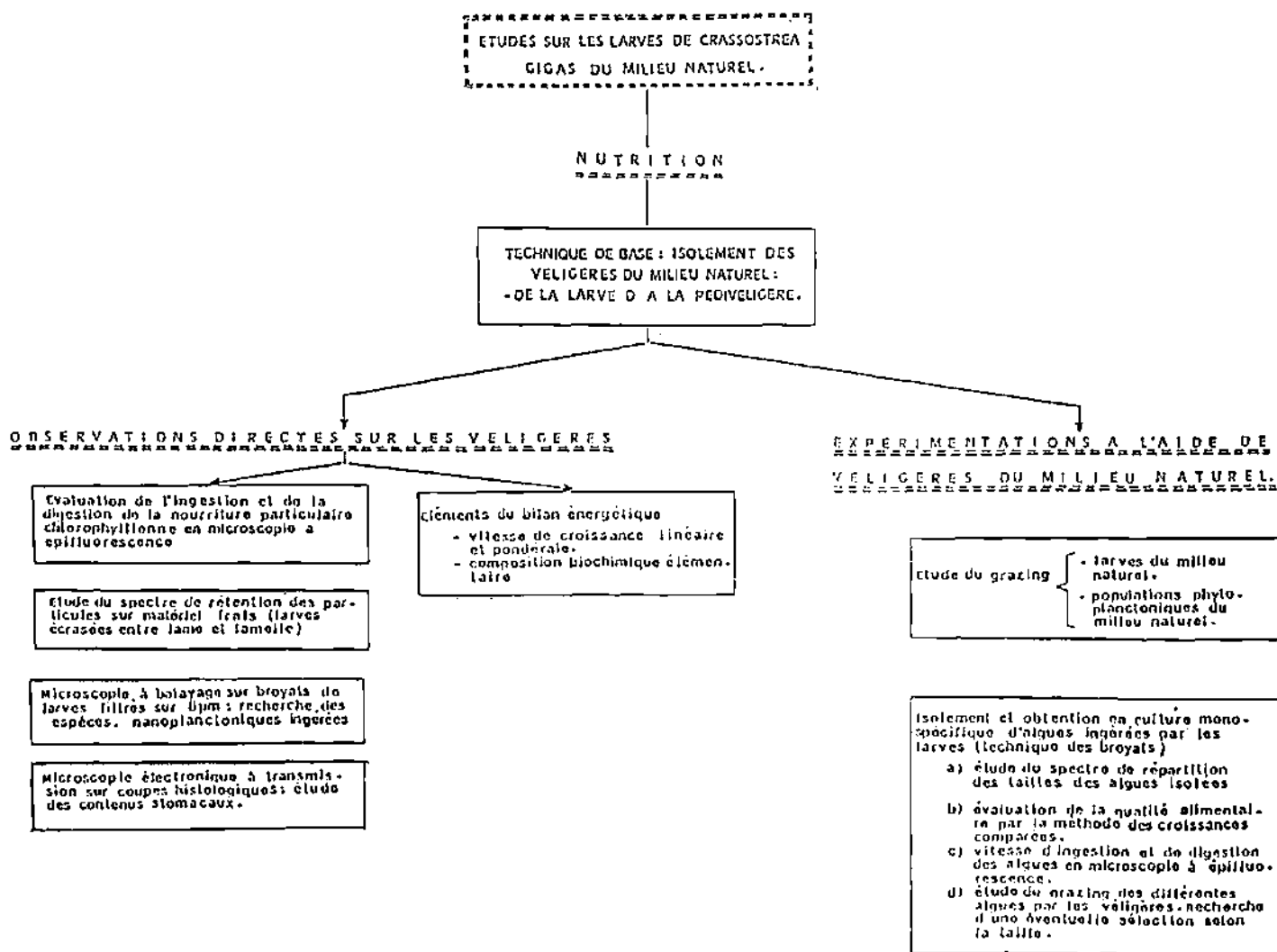


Figure 18 : Organigramme des études relatives à la biologie des larves de *C.gigas*, basées sur l'isolement des véligères du milieu naturel.

CHAPITRE V : NUTRITION DES VELIGERES DU BASSIN D'ARCACHON

Les observations relatives à la biologie des larves de bivalves du milieu naturel sont rares ou inexistantes (Walne, 1965 ; Bayne, 1983). Les caractéristiques physiques et hydrologiques du Bassin d'Arcachon en font une véritable éclosérie naturelle ; elles permettent, nous l'avons vu, lorsque les conditions météorologiques estivales sont particulièrement favorables, la récolte de grandes quantités de véligères qu'il est possible d'isoler des autres éléments du plancton. Ce matériel original a été utilisé pour différentes observations.

Rappelons que durant les années les plus favorables, on observe une ponte massive fin juin ou début juillet, qui se produit simultanément sur l'ensemble de la partie continentale de la baie au cours d'une même marée. Le frai suivant n'intervient généralement pas avant trois semaines ; il est donc possible de récolter et d'étudier les véligères d'une même cohorte, de la larve D à la pédivéligère, puisque la vie pélagique se déroule en une vingtaine de jours, lorsque les conditions météorologiques sont bonnes.

Ces différentes particularités ont permis d'aborder les différents aspects de la biologie des larves de *Crassostrea gigas* d'une façon très originale. La figure 18 présente les différents volets des études consacrées à la biologie des larves du milieu naturel ; d'une part des observations ont été réalisées sur les véligères elles-mêmes, d'autre part des expérimentations ont été conduites à l'aide de ce matériel biologique.

1. Observations directes sur les véligères prélevées "*in situ*".

1.1. Microscopie à épifluorescence et observations des contenus stomacaux sur coupe histologique.

Les observations intéressent des larves qui ont été isolées du milieu naturel au cours de la saison de reproduction de 1985, 1986 et 1987.

La première année, les prélèvements quotidiens ont été effectués du 2ème au 7ème jour, puis les 13ème et 20ème jours ; les observations sur des véligères d'un âge supérieur à 12 jours se sont révélées difficiles, des larves plus jeunes ont seules été étudiées les années ultérieures.

En 1986 des prélèvements quotidiens ont donc été effectués , en particulier deux en période nocturne, sur des individus âgés de 3 à 4 jours puis de 11 à 12 jours ; en 1987 des prélèvements ont été effectués à intervalles d'une heure, de jour et de nuit, à point fixe, six jours après une ponte .

La technique de Babinchack et Ukeles (1979) en microscopie à épifluorescence a été utilisée. Rappelons qu'elle permet de caractériser l'état nutritionnel des véligères, de la phase d'ingestion (stade I) à la phase de digestion totale (stade IV). L'ingestion est faible lorsque le nombre de cellules observé est inférieur à 10 par individu; elle est moyenne entre 10 et 20 et forte au delà de 20 cellules présentes par tube digestif (Lucas et Rangel, 1981).

Age des larves en jours	Etat de réplétion du tube digestif		
	faible	moyen	élevé
2	100	0	0
3 - 4*	29	68	3
4	87	0	13
6	57	29	14
8	50	12	38
11	100	0	0
11 - 12*	100	0	0

Tableau 17 : Les différents états de la phase 1 d'ingestion, des larves prélevées en juillet 1986 dans le Bassin d'Arcachon. (* : nuit).

Heure du prélèvement	Etat de réplétion du tube digestif		
	faible	moyen	élevé
13h00	81	13	6
14h00	66	18	16
15h00	71	19	10
16h00	92	6	2
02h00*	57	32	11
03h00*	71	21	8
04h00*	83	15	2
05h00*	65	22	13
06h00	60	22	18

Tableau 18 : Les différents états de la phase 1 d'ingestion le jour et la nuit, en juillet 1987, entre le 6ème et le 7ème jour chez les larves de *C. gigas*.

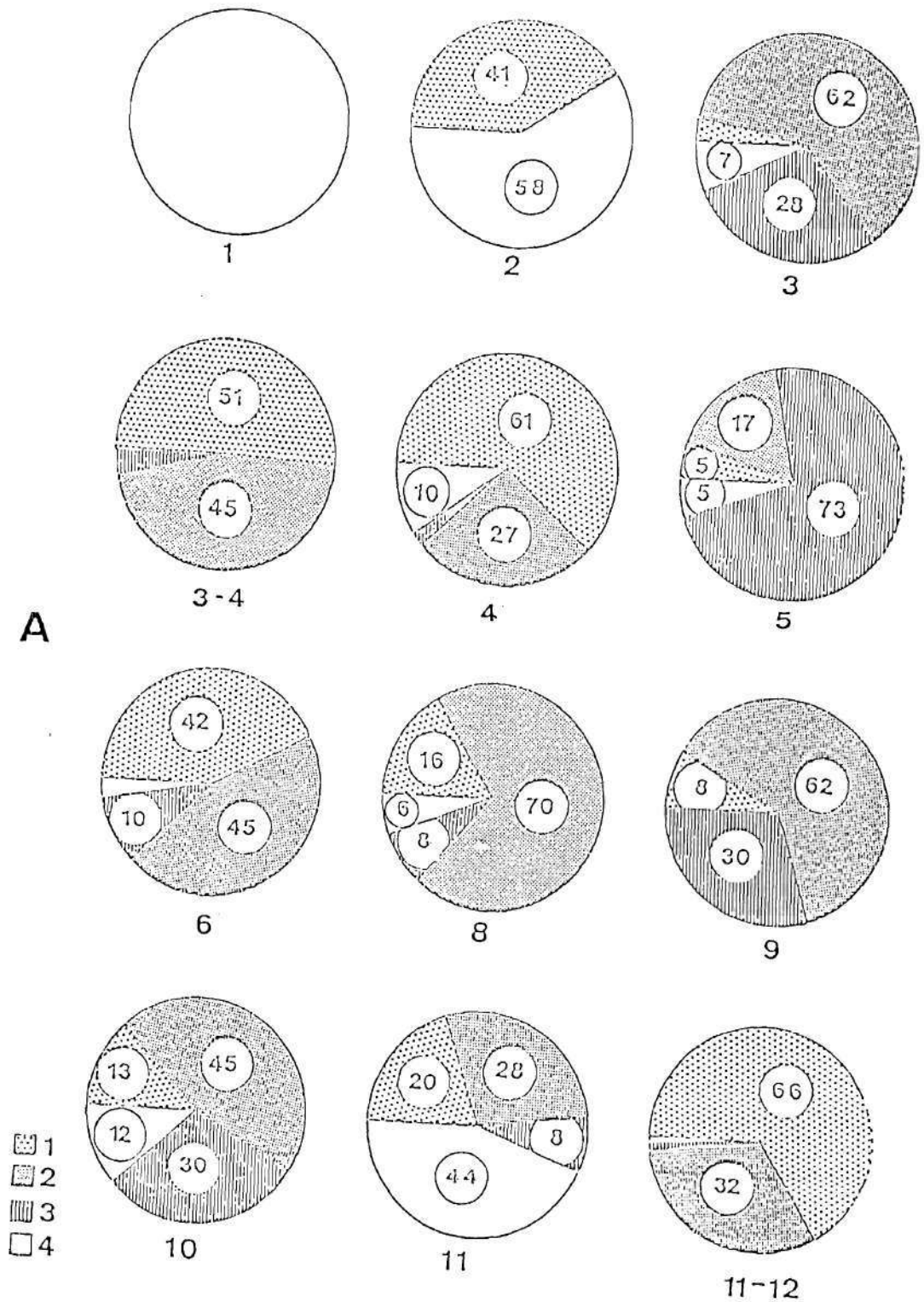


Figure 19 : Les différents stades de digestion des larves de *C. gigas* du bassin d'Arcachon :

- A : larves prélevées de jour (les 1er, 2ème, 3ème... 11ème jours après les fécondations) et de nuit (entre le 3ème et le 4ème, puis le 11ème et le 12ème jour). Juillet 1986. Dans les cartouches sont portés les différents symboles des quatre stades de la digestion.

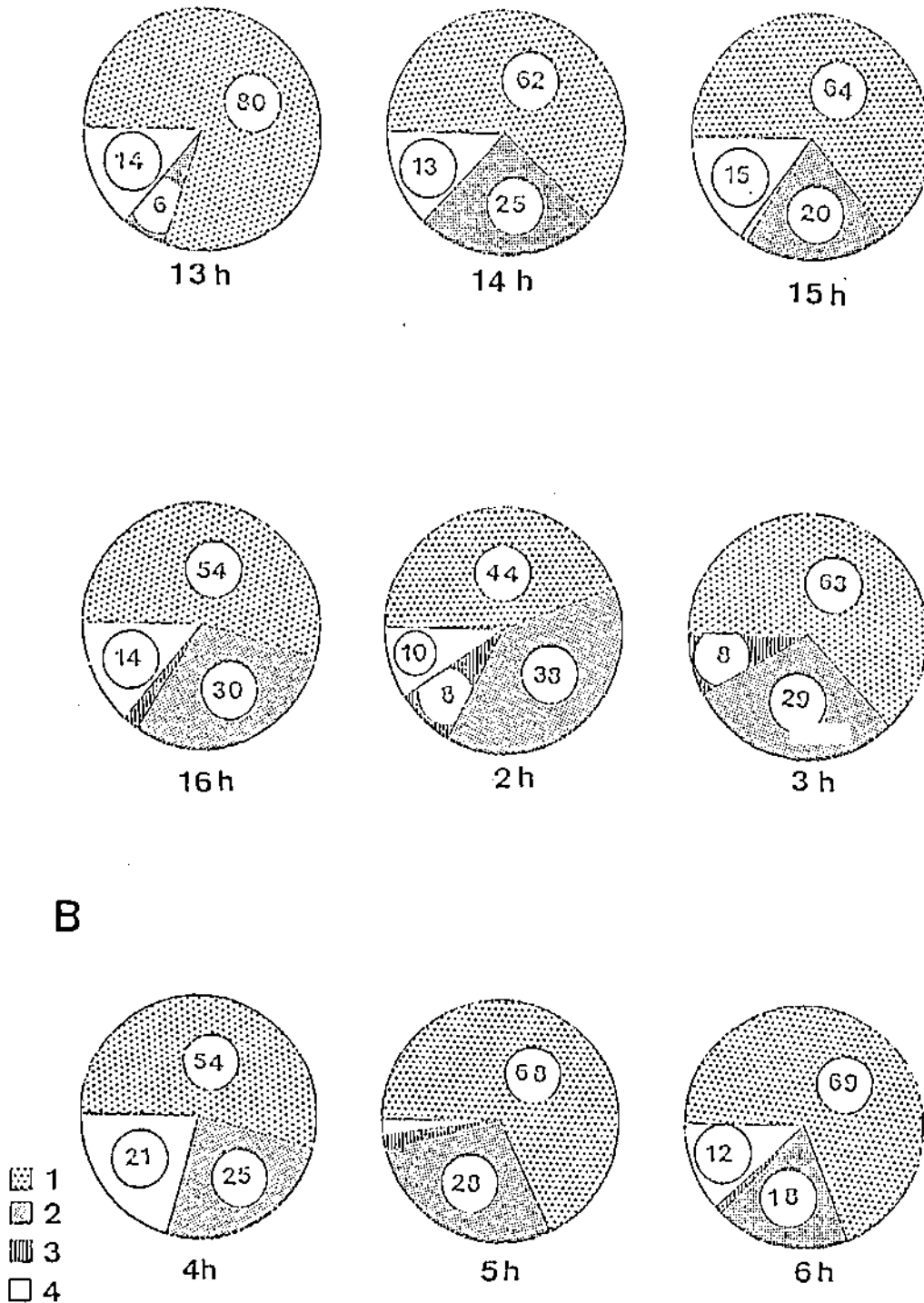


Figure 19 : Les différents stades de digestion des larves de *C.gigas* du Bassin d'Arcachon :

- B : Larves prélevées toutes les heures, le jour (13h à 16h) et la nuit (3h à 6h), entre les 6ème et 7ème jours après les fécondations. Eté 1987. Dans les cartouches sont portées les différents symboles des quatre stades de la digestion.

Enfin des données complémentaires ont été obtenues par étude du tractus digestif de véligères sur coupes fines.

Les prélèvements de l'été 1985 ont permis de constater que la première prise en charge de la nourriture (stade 1) intervient dans le milieu naturel le second jour après la ponte. Dès le quatrième jour, la plupart des véligères sont au stade 2, tandis que très peu d'individus sont au stade 4.

De même, en 1986, le tractus digestif des larves D de 24 heures est vide de toute particule alimentaire (figure 19 A) et si la première prise en charge de la nourriture intervient le second jour, 58% des sujets sont encore vides. Ultérieurement des véligères au stade 4 ne seront observées que très exceptionnellement (44% le 11ème jour). Le 3ème jour, tous les stades sont représentés, mais le stade 1 est particulièrement peu abondant (3%) ; le phénomène se reproduit les 5ème et 9ème jours avec 5% et 8% de stades 1 respectivement.

Aucune relation n'a pu être établie entre abondance des différents stades de digestion et d'ingestion et âge des larves. A partir du 3ème jour, le stade 2 est bien représenté (plus de 25% en général, la valeur de 70% étant atteinte) néanmoins une valeur de 17% seulement est notée le cinquième jour. A l'inverse, mis à part le 5ème jour (73%) la phase de digestion se situe au dessous des 30%.

L'indice d'alimentation (nombre de stades 1 et 2 divisé par le nombre de larves observées, Salaun, 1987) est élevé puisqu'il dépasse les 70%.

Les pourcentages de stade 1 ont toujours été supérieurs à 15% les 2ème, 4ème, 6ème et 8ème jours ainsi que lors des nuits du 3ème au 4ème jour et du 11ème au 12ème jour ; cette phase a donc été étudiée en détail (tableau 17). La réplétion du tube digestif est généralement faible, si l'on excepte le 3ème jour où elle at-

teint 68% de réplétion moyenne.

Ce résultat, ainsi que l'index d'alimentation élevé qui caractérise les larves prélevées la nuit (95% et 98%), nous ont conduits à comparer des larves âgées de 6 à 7 jours en période diurne et nocturne, au cours du mois de juillet 1987 (figure 19B). Il n'existe pratiquement pas de différence entre les deux catégories de véligères ; dans les deux cas l'indice d'alimentation est élevé (supérieur à 80%).

L'étude de la phase d'ingestion (tabl. 18) montre que plus de 60% des véligères ont ingéré moins de 10 algues ; ceci a pu être vérifié sur coupe histologique ; les cellules algales dénombrées par tractus digestif ne dépassent jamais trois.

On constate sur coupe semi-fine que les particules ingérées ont généralement de 2 à 4 μm de diamètre, ; néanmoins une particule de 8 μm dans sa plus grande dimension a été observée et une Diatomée de 14 μm de long a même été notée dans l'estomac d'une véligère âgée de 5 jours.

Les particules rondes ou ovoïdes non identifiables (absence ou perte des flagelles) représentent 80% du matériel ingéré mais des Diatomées pennées ont aussi été observées.

Ces différentes constatations seront confirmées ultérieurement (étude des broyats larvaires).

L'ingestion et la digestion du nanoplancton par les véligères du milieu naturel semblent continues puisque les stades 2 sont généralement très nombreux et que les stades 3 sont peu représentés. Le même phénomène a été signalé par Lucas et Rangel (1981) pour des véligères de *Mytilus edulis* en milieu contrôlé, mais il diffère de ceux de Salaün (1987) qui concernent les larves de bivalves du mi-

lieu naturel (Baie de Saint Brieuc).

L'intensité de l'ingestion des algues est faible puisqu'on observe généralement moins de 10 cellules par tube digestif ; à l'inverse, en éclosérie les valeurs supérieures à 50 sont fréquentes.

Cette différence de comportement pourrait s'expliquer par des concentrations algales dissemblables entre laboratoire et milieu naturel ; dans le premier cas on apporte généralement 10^5 cellules par millilitre de milieu d'élevage.

Si l'on prend par exemple *Isochrysis galbana* dont le volume moyen est de $40 \mu\text{m}^3$, et si $1 \mu\text{m}^3$ correspond à $5 \cdot 10^{-6} \mu\text{g}$ de poids sec (Travers, 1971), la nourriture journalière est de $4 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ en éclosérie. La biomasse de nanoplancton mesurée pour les mois de juillet depuis 1983 dans la baie d'Arcachon varie de 150 à $700 \text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$ avec des valeurs moyennes proches de $300 \text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$, soit $0.3 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$, ce qui représente environ 1/10 de la biomasse nanoplanctonique disponible en milieu contrôlé.

Lors des pontes massives on dénombre fréquemment de 0.5 à $1 \cdot \text{ml}^{-1}$ larves D dans le Bassin alors qu'en éclosérie les concentrations dix fois plus élevées de 5 à $10 \cdot \text{ml}^{-1}$ larves sont utilisées. La nourriture disponible par larve dans le milieu naturel serait donc du même ordre qu'en éclosérie, si l'on ne tient pas compte des compétiteurs présents, dans le premier cas.

On sait en effet que les floraisons nanoplanctoniques et le frai majeur de juillet coïncident généralement; lors des pontes massives, les véligères de *C. gigas* représentent nettement l'élément dominant de la fraction du zooplancton inférieure à $100 \mu\text{m}$. La différence entre les larves du milieu et celles d'élevage, en ce qui concerne l'état de réplétion du tube digestif, est donc difficilement explicable.

Enfin le rôle des Diatomées, qui représentent 20% du matériel ingéré, est en accord avec la qualité alimentaire de *Chaetoceros calcitrans* forma *pumilum* pour les véligères de *C. gigas* en éclosérie (Nascimiento, 1980; Helm et Millican, 1977); le fait a déjà été rapporté.

L'abondance des Diatomées de petites tailles, précédemment signalée en période estivale à Arcachon, renforce donc l'idée que celles-ci jouent un rôle de premier plan dans la nutrition des larves d'huîtres creuses dans cette baie.

1.2.Observations sur les particules captées par les larves dans le milieu naturel.

Des véligères ont été isolées du plancton de la baie au cours de l'été 1985 et abondamment lavées à l'eau de mer filtrée à 0.2 μm autoclavée (suppression des éléments qui auraient pu adhérer à la véliconche). Certaines ont été écrasées entre lame et lamelle stériles pour observation directe des particules qui s'échappaient du tube digestif dilacéré. D'autres ont été broyées au potter de Thomas et le broyat, filtré sur membrane de porosité 8 μm a été étudié en microscopie électronique à balayage.

Dans le premier cas, on constate que de nombreuses bactéries s'échappent du tube digestif lorsqu'il est dilacéré, ainsi que de nombreuses particules qui ont été classées en fonction de leur taille:

- 52% ont une taille inférieure à 2 μm
- 36% ont de 3 à 4 μm
- 9.5% ont de 5 à 6 μm
- 2.5% ont une taille supérieure à 7 μm .

Les Diatomées pennées (*Navicula sp.*, *Cocconeis sp.*) sont très souvent abondantes.

Dans le second cas, (observations en microscopie électronique à balayage de broyats filtrés), on constate une importante diversité des espèces nanoplanctoniques ingérées; outre de nombreux Phytoflagellés, parmi lesquels *Calycomonas sp.*, de nombreuses

Diatomées benthiques sont présentes: *Achnantes sp.*, *Navicula atomoides*, *Skeletonema sp.*, *Nitzschia frustulum var. subsalina*, *Thalassiosira sp.* (Chretiennot-Dinet et Guillocheau, 1987).

Là encore ces résultats sont en accord avec ceux qui ont été obtenus sur coupes histologiques, que ce soit sur le plan de la taille des particules ingérées par les larves ou sur celui du rôle des Diatomées benthiques; on se trouve dans les gammes de taille des algues unicellulaires utilisées en éclosérie et qui donnent les meilleurs résultats sur la croissance des véligères en milieu contrôlé.

1.3. Croissance linéaire et pondérale et composition biochimique élémentaire des larves du milieu naturel.

La vitesse de croissance des véligères a très souvent été utilisée pour caractériser les conditions d'élevage, que ce soit pour comparer le rôle des différents facteurs biotiques (régime alimentaire) ou abiotiques (température, salinité, ph) ou dans le cadre d'études de nuisances (toxicologie, caractérisation de la "qualité biologique" d'une zone littorale).

La composition biochimique élémentaire des larves de bivalves élevées en milieu contrôlé a donné lieu à de nombreuses études (voir synthèse de Gabbott, 1983); le régime alimentaire auquel sont soumises les véligères a généralement une action sur celles-ci.

Or, comme le soulignent Walne (1965) et Bayne (1983), les données concernant la croissance des larves du milieu naturel sont très rares; à notre connaissance la composition biochimique des véligères du milieu naturel n'a jamais été étudiée.

Jours de fécondation	1	2	3	6	7	9	14	16	21	23	25	27
Hauteur moyenne	67 \pm 1	71 \pm 1	76 \pm 1	95 \pm 2	102 \pm 3	124 \pm 3	183 \pm 6	200 \pm 10	269 \pm 10	274 \pm 9	320 \pm 5	324 \pm 6
Poids sec												
(ng.larve ⁻¹)	128	147	201	303	349	956	1497	1994	3745	5351	7000	-
Glucides												
(ng.larve ⁻¹)	0.2	0.1	0.2	0.3	0.7	1.9	3	4	7.5	21	-	-
% de la mat. organ.	0.7	0.4	0.7	0.9	1.5	1.4	1.2	1.1	1	1.7	-	-
Lipides												
(ng.larve ⁻¹)	10.1	7	6	6.3	8.7	26.8	37.4	65.8	142.3	208.7	-	-
% de la mat. organ.	37.7	31.1	21.8	18.9	19.1	18.9	15.7	10.7	18.6	17.3	-	-
Protides												
(ng.larve ⁻¹)	16.5	15.4	21.3	26.7	36.3	112.8	199.1	283.1	614.2	973.9	-	-
% de la mat. organ.	61.6	68.5	77.5	80.2	79.4	79.7	83.1	83.2	80.4	81	-	-
Somme des composants												
(ng.larve ⁻¹)	26.8	22.5	27.5	33.3	45.7	141.5	239.5	352.9	764	1203.6	-	-
% du poids sec	21	15.4	13.7	11	13.1	14.8	16	17.7	20.4	22.5	-	-
Matière organique (crémation)												
(ng.larve ⁻¹)	-	30.1	33.1	48.5	60.4	168.2	274	414.7	800	1557	-	-
% du poids sec	-	20.5	16.5	16	17.3	17.6	18.3	20.8	23.5	29.1	-	-

Tableau 19 : Croissance linéaire et pondérale et composition biochimique élémentaire des larves de *C. gigas* du Bassin d'Arcachon. Glucides, lipides et protides sont exprimés soit en ng.larve⁻¹ soit en pourcentage de la matière organique totale (somme des trois composants). La matière organique (obtenue par sommation ou par crémation) est exprimée en ng.larve⁻¹ et en pourcentage du poids sec total.

Le frai massif et bien individualisé qui s'est produit dans le Bassin d'Arcachon au mois de juillet 1985, a permis de récolter et d'isoler suffisamment de matériel biologique pour étudier la croissance linéaire et pondérale ainsi que la composition biochimique élémentaire de larves de *Crassostrea gigas* appartenant à une même cohorte, du stade D à la pédivéligère; ces données, acquises au cours d'une saison de reproduction particulièrement favorable, pourraient servir à la mise en évidence d'éventuelles anomalies de milieu.

Le plancton a été prélevé par pompage volumétrique dans le chenal principal du Teychan (pointe du Tés, fig.1). Les larves aux différentes tailles ont pu être isolées par tamisages fractionnés et par rinçages successifs à l'eau de mer filtrée à 0,2 μm .

La hauteur moyenne a été calculée en micromètres au seuil de sécurité de 95%. Le poids individuel a été mesuré, par pesée de larves retenues sur membrane, après comptage et séchage à 80°C jusqu'à poids constant.

Le dosage des lipides totaux (méthode de Marsh et Weinstein, 1986), des sucres (méthode de Dubois et al., 1956) et des protides (méthode de Lowry et al., 1951) a été effectué sur échantillons congelés.

La matière organique totale a été obtenue soit par sommation des différents constituants organiques, soit par pesée avant et après crémation des larves à 500°C.

L'abondance du matériel récolté a permis d'effectuer deux séries de mesures sur cette même cohorte. L'ensemble des résultats est présenté dans le tableau 19.

A l'issue d'une ponte massive qui a permis de dénombrer 3.10^6 larves D.m^{-3} , une cohorte de véligères de *Crassostrea gigas* a pu être étudiée du 3 au 29 juillet 1985, c'est à dire jusqu'à l'apparition des premières pédivéligères (2.10^3 m^{-3} pédivéligères).

La température moyenne de l'eau à 1 m de profondeur était de 23° et la salinité variait de 29 à 31 p.mille.

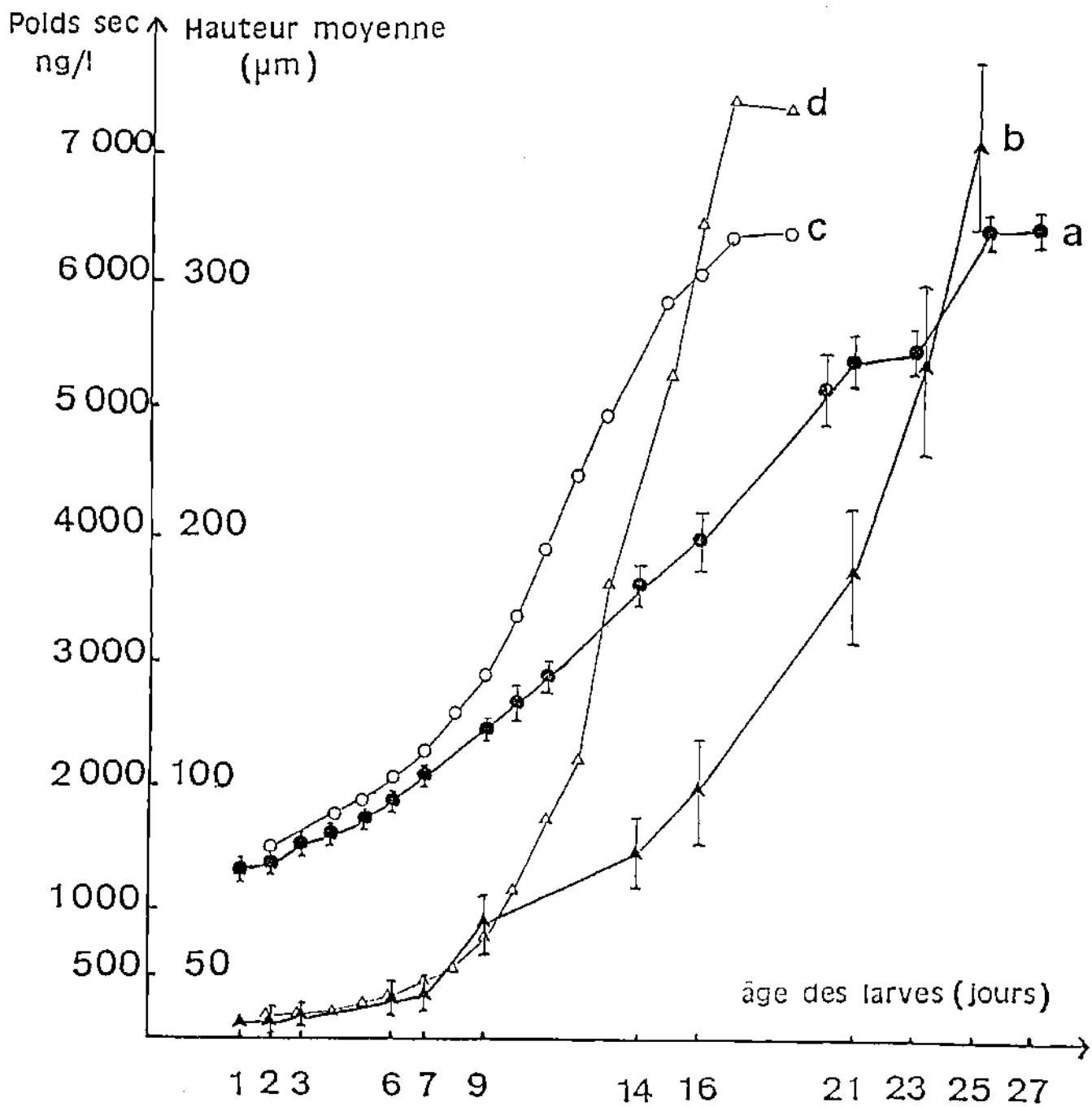


Figure 20 : Croissance linéaire (a) et pondérale (b) des velligères de *C. gigas* du Bassin d'Arcachon. Comparaison avec la croissance linéaire (c) et pondérale (d) des larves de *C. gigas* élevées au laboratoire par Gerdes (1983).

La croissance linéaire (figure 20) a été continue de la larve D (hauteur moyenne de $67 \pm 1 \mu\text{m}$) à la pédivéligère, avec cependant un léger ralentissement à la fin de la vie pélagique ($324 \pm 6 \mu\text{m}$ le 27ème jour).

Parallèlement le poids sec moyen individuel augmente lentement jusqu'au 7ème jour (passage de 128 ng à 349 ng); contrairement à la croissance linéaire, il augmente très sensiblement en fin de vie pélagique (passage de 1497 ng à 5351 ng et 7000 ng les 14ème, 23ème et 25ème jours respectivement).

La composition biochimique élémentaire a été étudiée du premier au 23ème jour de la vie pélagique (tableau 19).

Les sucres varient de 0,2 ng par larve (stade D) à 21 ng par larve (stade oeillé) et représentent de 0,7 à 1,7% de la matière organique totale.

Les lipides diminuent régulièrement de la larve D (10,1 ng par larve) aux premiers stades umbonés (6,3 ng par larve le sixième jour); puis une augmentation s'observe du 7ème au 23ème jour (passage de 8,7 ng à 208 ng par larve); si l'on exprime les lipides en pourcentage de la matière organique totale ils passent de 37,7% à 18,9% entre le premier et le sixième jour, puis les pourcentages restent pratiquement constants.

Mise à part la plus basse valeur de 15,4 ng par larve observée le second jour, les protides augmentent tout au long de la phase pélagique puisqu'ils passent de 16,5 ng à 973,9 ng par larve chez les véligères oeillées. Ils constituent l'élément le plus important de la matière organique : de 61,6% (larve D) à 80%, en fin de vie pélagique.

La matière organique totale, mesurée par crémation ou obtenue en faisant la somme des différents constituants, varie de la même façon, la première méthode donnant des valeurs plus élevées.

On observe une légère diminution du premier au second jour, puis une augmentation lente jusqu'au sixième jour; la matière organique totale augmente enfin fortement à l'approche de la métamorphose (passage de 45,7 ng par larve le 7ème jour à 1203,6 ng par larve le 23ème jour si l'on utilise la méthode d'addition des différents composants organiques et de 60,4 à 1557 ng par larve, si on utilise la méthode par crémation).

Si l'on considère les pourcentages de matière organique (somme des composants), il y a diminution de 21% du poids sec total le premier jour à 11% le sixième jour; ultérieurement il y a élévation jusqu'à 22,5% le 23ème jour, le pourcentage initial étant dépassé. La matière organique mesurée par crémation à 500°C représente 20,5% du poids sec total le second jour, 16% le 6ème jour et 29,1% le 23ème jour.

Les données obtenues avec les véligères du milieu naturel ont été comparées à celles de Gerdes (1983) pour les véligères d'écloserie (figure 20).

Les croissances linéaires et pondérales sont très voisines pendant les neuf premiers jours, puis on observe un léger retard dans le milieu naturel: les pédivéligères apparaissent en 19 jours en milieu contrôlé et ne sont abondantes que le 27ème jour dans le Bassin d'Arcachon au mois de juillet 1985.

La croissance linéaire peut se diviser en trois phases séparées par le premier stade umboné et le stade oillé. La première se caractérise par une importante croissance linéaire, une faible croissance pondérale associées à une diminution de la matière organique totale.

Croissances linéaire et pondérale augmentent fortement pendant la seconde.

Lors de la troisième phase la croissance linéaire se ralentit alors que se produit une augmentation sensible à la fois du poids sec et de la matière organique; pour cette dernière, la valeur finale obtenue dépasse celle de la larve D.

Ce schéma correspond à celui qui a été établi par Lucas *et al.* (1986 a et b) pour les larves de *Mytilus edulis*; la première phase correspond aux phases endotrophe et mixotrophe pendant lesquelles les réserves vitellines sont d'abord utilisées comme source d'énergie tandis que les aliments d'origine exogène interviennent progressivement; la seconde et la troisième correspondent à la phase exotrophe, l'accumulation de la matière organique prépare la métamorphose.

Ces données concernant les larves de *Crassostrea gigas* du Bassin d'Arcachon sont en accord avec celles de Gerdes (1983) pour les phases endotrophe et mixotrophe; les différences observées pendant la phase exotrophe s'expliquent probablement par des conditions de milieu suboptimales rencontrées par les véligères du milieu naturel alors que des températures constantes et la présence d'une nourriture abondante et de qualité favorisent les élevages en milieu contrôlé.

Les glucides sont les éléments de réserve (glycogène) chez les bivalves adultes et chez les juvéniles tandis que les lipides jouent un rôle important dans le développement larvaire et lors de la métamorphose. Ces résultats ont été acquis chez l'huître plate, *Ostrea edulis* (Holland et Spencer, 1973; Holland et Hannant, 1974) et chez la moule *Mytilus edulis* (Lucas, 1982); les larves de l'huître plate accumulent les lipides en vue de la métamorphose, des teneurs élevées correspondant à de meilleurs taux de survie et à une croissance plus rapide après la métamorphose (Laing et Milligan, 1986).

En ce qui concerne les véligères du Bassin d'Arcachon, les lipides représentent 37,7% de la matière organique totale chez les larves D et 17,3% seulement à l'approche de la métamorphose, ils ne sont donc pas accumulés en fin de vie pélagique; par contre les protides augmentent (passage de 61,6% à 81% de la matière organique) et pourraient jouer un rôle énergétique important lors du passage à la vie benthique.

Nos observations sont en accord avec celles de Bartlett (1979)

et montrent que les véligères de l'huître japonaise se caractérisent par une stratégie particulière en ce qui concerne les réserves énergétiques en vue de la métamorphose, si l'on compare avec les véligères d'*O. edulis* et de *M. edulis*.

Croissance et composition biochimique élémentaire des véligères traduisent les bonnes conditions de milieu qui ont prévalu sur le Bassin d'Arcachon au cours de la saison de reproduction de 1985.

Néanmoins la vitesse de croissance peu élevée en fin de vie pélagique, peut indiquer des conditions thermiques et nutritionnelles suboptimales, si l'on compare avec des conditions d'élevage.

On sait que les larves de *C. gigas* ont été proposées comme organisme sentinelle pour évaluer la qualité du milieu marin et que l'action des altéragènes se manifeste en premier lieu par une réduction de la croissance; la composition biochimique des véligères permet de caractériser leur état physiologique (Lucas *et al.*, 1986b), et par suite les conditions de milieu qui président à leur développement.

Les études de croissance et de composition biochimique des larves du milieu naturel peuvent donc permettre de renforcer les moyens qui sont à notre disposition pour déceler d'éventuelles anomalies de milieu.

2 Expérimentations à l'aide de véligères du milieu naturel.

2.1 Etudes du grazing.

Les données relatives aux algues unicellulaires présentes dans le Bassin d'Arcachon et susceptibles de servir de nourriture aux jeunes larves, les observations en microscopie à épifluorescence et la recherche des algues ingérées par les larves, ont été complétées par

des expérimentations sur la prédation des populations phytoplanctoniques naturelles par les véligères de cette zone.*

Eau de mer et larves D ont donc été prélevées simultanément sur le même site après la ponte massive de juillet 1985. Les véligères ont été mises en élevage dans des béciers à raison de 10000 par litre, l'eau de mer a été filtrée soit sur membrane millipore de 8 μm , soit sur une toile à bluter nytex de 10 μm .

Un bécier contenant de l'eau de mer filtrée mais dépourvue de larves servait de témoin. Des prélèvements ont été effectués au départ (T_0) au bout de 6h, de 12h et de 24h pour comptages au microscope inversé d'Utermöhl. Trois classes de tailles ont été choisies:

- 3 à 4 μm
- 5 à 7 μm
- 8 à 10 μm

et le dénombrement de trois formes reconnaissables en microscopie optique a été réalisé: *Navicula sp.* (Diatomée), *Calycomonas sp.* (Chlorophycée) et *Eutreptiella sp.* (Euglenophycée).

Les résultats globaux par classe de taille ne permettent pas de mettre en évidence une diminution du nombre de particules au cours des premières 24h par rapport au témoin, le développement de la fraction 8 à 10 μm semble même stimulé par la présence des larves.

L'examen espèce par espèce donne des résultats plus précis:

- le genre *Calycomonas* semble prélevé dès les six premières heures.

* en collaboration avec le C.R.E.M.A. , L'Houmeau

	Heure	L/T	L/T	L/T	L/T	L/T	L/T
		3-4µm	5-7µm	7-10µm	Navic.	Calyc.	Eutr.
N Y T R .	6h	92	103	122	120	66	74
	12h	74	94	133	109	75	58
	24h	80	79	90	55	29	100
N U C L .	6h	78	124	233	121	58	62
	12h	92	114	140	122	77	80
	24h	63	93	150	54	66	97

Tableau 20 : Pourcentages par rapport au témoin (T : eau filtrée sans larves), des particules présentes dans les élevages (L) au bout de 6h, 12h et 24h. NYTR. : eau de mer filtrée sur toile Nytrex 10µm. NUCL. : eau de mer filtrée sur toile Nucléopore 8µm. Navic : Navicula sp. ; Calyc. : Calycomonas sp. ; Eutr. : Eutreptiella sp. Noter les valeurs supérieures à 100 qui semblent indiquer une stimulation du développement de certaines fractions.

	Fritz et al.	Bassin d'Arcachon
Origine des larves.	Ecloserie	Milieu naturel
Espèce	<u>C. virginica</u>	<u>C. gigas</u>
Concentration des larves	1, 8 et 25.ml ⁻¹	10.ml ⁻¹
Filtration de l'eau de mer	Nytex 44 µm	Nytex 10 µm Nuclepore 8 µm
Température	25°C	24°C
Age des larves	2j. 8j. et 10j.	36h et 3j.
Groupes pour les comptages	-Dinoflagellés : grands ou petits -Diatomées : grandes ou petites (pennées et centriques). <u>Nitzschia spp.</u> Diatomées en chaî- nes -Flagellés (grands et petits) -Formes coccoïdes	3µm 5-6µm 8-10µm <u>Navicula sp.</u> <u>Calycomonas sp.</u> <u>Eutreptiella sp.</u>

Tableau 21 : Comparaison des conditions expérimentales utilisées par Fritz et al. (1984) et les conditions expérimentales utilisées à Arcachon au cours de l'été de 1985, en ce qui concerne les observations sur le broutage du phytoplancton naturel par les larves d'huîtres.

- Les Naviculacées diminuent de façon sensible au bout de 24h.
- L'Euglénophycée *Eutreptiella*, abondamment présente ($5 \cdot 10^4$ cellules $\cdot l^{-1}$) montre des variations irrégulières de concentration qui ne semblent pas significatives (tableau 20).

Ces observations mériteraient d'être reprises en particulier en utilisant des véligères plus âgées, dont le broutage serait vraisemblablement plus important; elles montrent néanmoins l'ingestion de cellules de petite taille par les larves et tendraient à confirmer l'hypothèse d'une sélection possible des proies par les larves (Mackie, 1969), contrairement aux conclusions de Fritz *et al.* (1984), ces derniers n'ayant pas fait de comptage par groupe de taille. Le tableau 21 établit la comparaison de nos données avec celles de Fritz *et al.*

La prise en charge de la nourriture par les larves de *C. gigas*, si elle peut présenter certains caractères de sélection, n'est en aucun cas liée à la présence d'une espèce définie, mais traduit l'adaptation aux conditions locales d'abondance des algues dont la taille permet l'ingestion.

2.2 Isolement et obtention en cultures monospécifiques d'algues ingérées par les larves.

Les algues unicellulaires destinées à l'alimentation des larves de bivalves en milieu contrôlé, sont relativement peu nombreuses, comme nous l'avons vu précédemment; la plupart d'entre elles ont été isolées de l'eau de mer en zone conchylicole

(Grande Bretagne, Etats-Unis, Japon et plus récemment Polynésie Française) sans que l'on sache si elles sont réellement utilisées par les véligères dans le milieu naturel.

Des connaissances précises ont été acquises en ce qui concerne la nutrition des Bivalves adultes par étude de leurs contenus stomacaux; cette technique n'est pas applicable aux larves, compte tenu de leur très faible taille.

Nous avons donc cherché à mettre au point une méthode qui permet néanmoins d'observer les algues prélevées par les larves dans le milieu naturel, une première difficulté ayant été résolue par la possibilité d'isoler les véligères de *C.gigas* des autres éléments du zooplancton par tamisages et rinçages successifs à l'eau de mer filtrée à $0,02 \mu\text{m}$ et autoclavée.

Des lots de 10000 larves sont ainsi préparés; chaque lot est broyé au potter de Thomas stérile; le broyat est remis en suspension dans 20 ml d'eau de mer stérile, puis il est filtré sur membrane nuclépore calibrée à $8 \mu\text{m}$; le filtrat sert à ensemercer des tubes de culture contenant pour moitié de l'eau de mer autoclavée et du milieu de Erd-Schreiber enrichi en métasilicate de sodium, pour permettre la croissance d'éventuelles Diatomées. Les tubes sont ensuite placés sous éclairage constant à la température de $20 \pm 1^\circ\text{C}$; parallèlement, des tubes sontensemencés de la même façon à l'aide d'eau de mer prélevée en même temps que les véligères et filtrée elle aussi sur membrane millipore de $8 \mu\text{m}$.

Les cultures unialgales sont obtenues par les techniques bactériologiques classiques des dilutions, après filtration différentielle si nécessaire (séparation des espèces selon leur taille).

Des essais préliminaires à l'aide de véligères alimentées au laboratoire soit avec *Isochrysis galbana* soit avec *Chaetoceros calcitrans* et traitées comme précédemment indiqué, avaient permis de constater qu'il était possible par la technique des broyats d'obtenir en culture les algues ingérées par les larves.

Ce procédé appliqué aux véligères du Bassin d'Arcachon a permis d'isoler neuf espèces d'algues qui ont pu être maintenues en culture, à l'exception de *Gomphonema sp.* Il s'agit des espèces suivantes:

- Chlorophycées: *Nannochloris atomus*, *Stichococcus bacillaris* et *Chlamydomonas bullosa*.
- Prasinophycées: *Tetraselmis tetraethale*.
- Diatomées: *Fragilaria construens* var. *subrotunda*, *Navicula atomoides*, *Gomphonema sp.*, *Nitzschia frustulum* var. *subsalina*.
- Cyanobactérie: *Microcystis sp.*

Les quatre premières ainsi que la Cyanobactérie sont produites en culture de masse par la technique des volumes croissants.

Enfin il faut ajouter que l'ensemencement avec de l'eau de mer prélevée en même temps que les larves a permis d'obtenir les mêmes espèces en culture, ce qui tendrait à démontrer que les véligères du milieu naturel ingèrent les particules d'une taille convenable qui sont à leur disposition.

Les premiers éléments concernant les caractéristiques de ces algues en culture de masse ont pu être acquis.

Nannochloris atomus (Butcher) est une Eustigmatophycée pour laquelle des concentrations cellulaires très élevées de 10^8 cellules . ml⁻¹ sont obtenues en ballon de 6 litres sur milieu de Conway en 15 jours; les cellules ont un diamètre compris entre 1,5 et 2,5 µm.

Stichococcus bacillaris (Nägelli) est une Chlorophycée

pour laquelle les mêmes concentrations que précédemment ont été obtenues en un mois; les cellules ont de 3 à 4 μm de diamètre.

Chlamydomonas bullosa (Butcher) est une Chlorophycée dont la croissance est lente; les concentrations cellulaires n'atteignent que $5 \cdot 10^6$ cellules $\cdot \text{ml}^{-1}$ en un mois sur milieu de Sueoka (1960) modifié (adjonction d'extrait de terre et préparation à l'aide d'eau de mer à la salinité de 25 p.mille). Les cellules ont de 6 à 20 μm de diamètre; les formes mobiles ont une taille comprise entre 6 et 14 μm et les kystes, plus volumineux, peuvent atteindre 20 μm .

Tetraselmis tetrahele (Butcher) est une Prasinophycée de 10 à 16 μm de long sur 8 à 11 μm de large; elle est légèrement plus volumineuse que *T.suecica*; des concentrations de $6 \cdot 10^6$ cellules $\cdot \text{ml}^{-1}$ sont obtenues en quinze jours.

Microcystis sp. est une Cyanophycée de très petite taille (voisine du micron) ; c'est un élément du picoplancton qui pourrait jouer un rôle important dans l'alimentation des véligères. Des concentrations de 10^7 cellules $\cdot \text{ml}^{-1}$ ont été atteintes en quinze jours.

2.3 Evaluation de la qualité alimentaire des algues isolées du tractus digestif des véligères.

La valeur alimentaire de quatre algues isolées du tractus digestif des véligères a été testée par la méthode des croisances comparées sur les larves de l'huître japonaise, mais aussi sur celles de la moule méditerranéenne, *Mytilus galloprovincialis*; il s'agit de *Nannochloris atomus*, *Stichococcus bacillaris*, *Chlamydomonas bullosa* et *Tetraselmis tetrahele*.

ALIMENTATION TEMPS APRES FECONDATION (en jours)	A JEUN	NANNO				STICHO			
		50	100	200	500	50	100	200	500
J1					59,53		0,46		
J3	60,25 ±0,59	70,51 ±0,53	71,41 ±0,80	70,85 ±0,67	71,75 ±0,60	73,78 ±0,87	74,26 ±0,63	72,93 ±0,60	70,20 ±0,70
J5	71,05 ±0,63	69,24 ±0,66	69,49 ±0,73	69,21 ±0,46	67,62 ±0,48	73,29 ±0,71	72,09 ±0,79	72,42 ±0,59	69,90 ±0,40
J7		70,85 ±0,83	70,12 ±0,53	70,57 ±0,60	70,74 ±0,59	74,31 ±0,93	74,51 ±0,72	74,00 ±0,69	73,16 ±0,48

Tableau 22 : hauteurs moyennes (μm au seuil de sécurité de 95%) des larves de *C.gigas* sous différents régimes alimentaires. NANNO 50, 100, 200 et 500 : élevages recevant respectivement 50, 100, 200 et 500 cellules. μl^{-1} d'élevage de *N.atomus*. STICHO 50,100, 200 et 500 : élevages recevant respectivement 50, 100, 200 et 500 cellules. μl^{-1} de *S.bacillaris*.

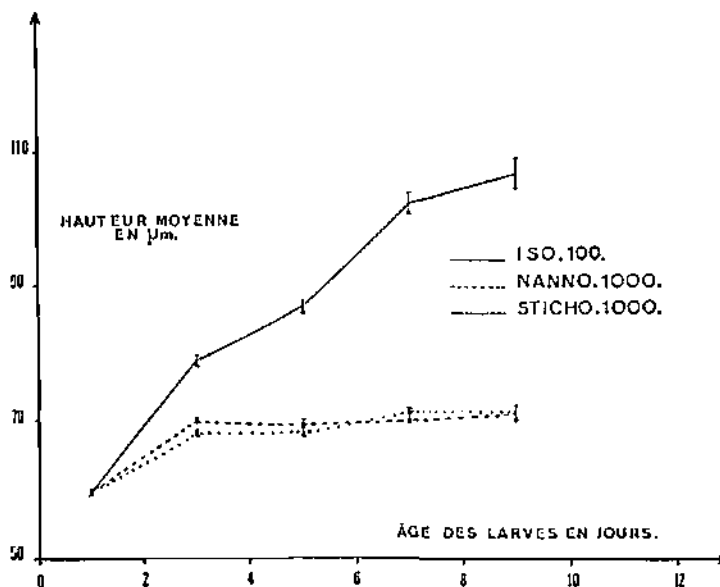


Figure 21 : Croissance de jeunes véligères de *C.gigas* alimentées à l'aide d'*Isochrysis galbana* (100 cellules. μl^{-1}), *N.atomus* (1 000 cellules. μl^{-1}) et *S.bacillaris* (1 000 cellules. μl^{-1}).

Toutes ces algues ont été produites en masse dans des ballons de six litres et ont été étudiées en fin de phase exponentielle de croissance.

Quatre séries d'expériences ont été effectuées : les trois premières avec des larves d'huître et la dernière avec des larves de moules.

Dans tous les cas, les élevages, en double exemplaire ont été réalisés dans des béciers stériles de deux litres d'eau de mer filtrée à 0.2 μm ; les véligères utilisées au départ étaient âgées de 24 heures et étaient réparties à raison de 8000 par litre.

La vitesse de croissance pour les différentes algues testées est comparée à celle d'élevages larvaires témoins qui sont nourris à l'aide de cultures d'*Isochrysis galbana* et de *Chaetoceros calcitrans forma pumilum*.

2.3.1. Expérience n°1. (alimentation monospécifique).

Les larves D de *C. gigas* reçoivent soit *Nannochloris atomus* soit *Stichococcus bacillaris* à raison de 50, 100, 200, 500 et 1000 cellules. μl^{-1} d'élevage.

Les témoins sont alimentés à l'aide de 100 cellules. μl^{-1} d'*I. galbana*. Les observations sont poursuivies pendant neuf jours.

Mis à part les élevages témoins (0%) les mortalités varient de 10% le deuxième jour (100 cellules. μl^{-1}) à 50%; puis le 9ème jour, toutes les véligères sont mortes.

Les larves, qu'elles reçoivent l'une des algues testées ou qu'elles soient maintenues à jeun, présentent une croissance d'environ 10 μm seulement (tableau 22 et figure 21).

Pourtant l'ingestion de la nourriture a pu être observée en microscopie à épifluorescence.

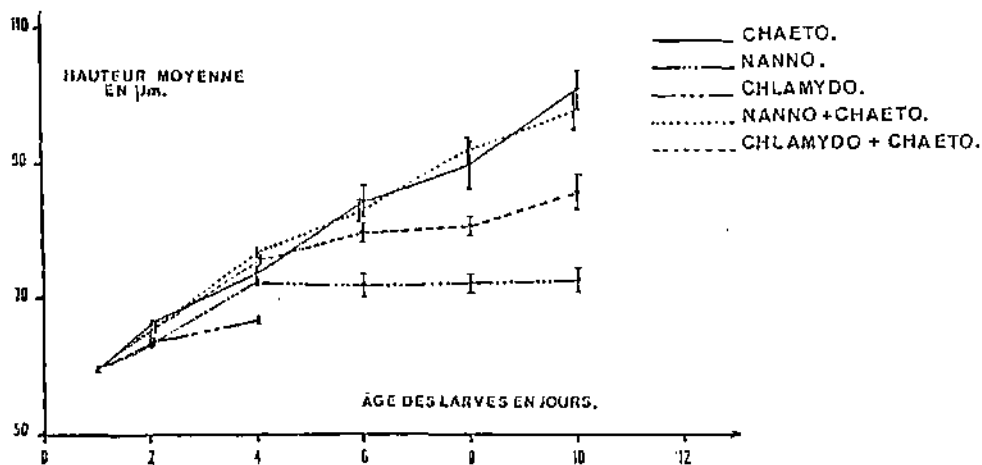


Figure 22 : Croissance des larves de C.gigas alimentées à l'aide de 100 cellules.µl⁻¹ de C.calcitrans, de N.atomus ou de C.bullosa et à l'aide de mélanges des précédentes (50 cellules de N.atomus et 50 cellules de C.calcitrans par µl.⁻¹ d'élevage: NANNO + CHAETO ; 50 cellules de C.bullosa et 50 cellules de C.bullosa.µl⁻¹ d'élevage :CHLAMYDO + CHAETO.

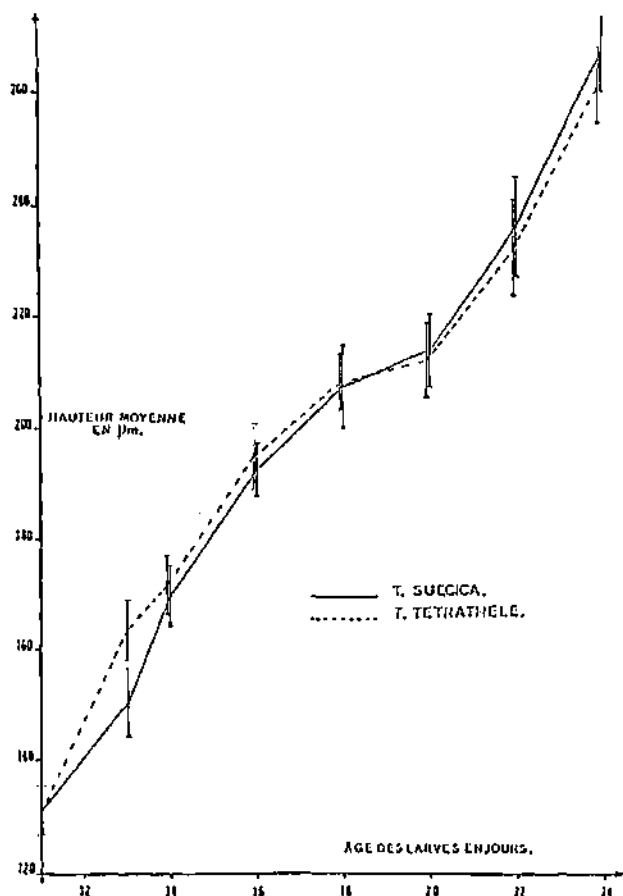


Figure 23 : Croissance de véligères umbonées de C.gigas alimentées à l'aide d'I.galbana(33 cellules.µl⁻¹, de C.calcitrans (33 cellules ; µl⁻¹) et soit T.suecica soit T.tetrathele (3.3 cellules. µl).

2.3.2. Expérience n°2. (alimentation monospécifique et plurispécifique).

Elle comporte cinq types d'élevages différents: les témoins (100 cellules $\cdot \mu\text{l}^{-1}$ de *Chaetoceros calcitrans*) ceux qui reçoivent *Nannochloris atomus* et *Chlamydomonas bullosa* soit seules (100 cellules $\cdot \mu\text{l}^{-1}$) soit associées à *C. calcitrans* (50 cellules $\cdot \mu\text{l}^{-1}$ de chaque algue).

Toutes les véligères sont décimées en six jours avec *C. bullosa* tandis que 85% d'entre elles survivent quand *C. calcitrans* lui est adjointe. De même 25% des larves sont mortes en dix jours quand elles ne reçoivent que *N. atomus*, mais comme dans les élevages témoins, toutes survivent quand la Diatomée figure pour moitié dans le régime alimentaire.

La croissance est médiocre avec *C. bullosa*, même en présence de *C. calcitrans* (fig.22), nettement inférieure à celle que permet la Diatomée seule.

La hauteur moyenne augmente légèrement en présence de *N. atomus*, mais uniquement pendant les quatre premiers jours de la vie pélagique, puis elle se ralentit sensiblement; par contre, en association avec la Diatomée, la hauteur finale atteinte en fin d'expériences est pratiquement la même que dans les témoins.

2.3.3. Expérience n°3.

Des larves umbonées de *C. gigas* sont nourries selon la ration alimentaire de Helm et Millican (1977): 33 cellules $\cdot \mu\text{l}^{-1}$ de *C. calcitrans*, 33 cellules $\cdot \mu\text{l}^{-1}$ d'*I. galbana* et 3.3 cellules $\cdot \mu\text{l}^{-1}$ de *Tetraselmis suecica* (élevages témoins); comparativement l'algue testée, *Tetraselmis tetrahele* est substituée à *Tetraselmis suecica*. Les larves sont âgées de 22 jours en fin d'expériences.

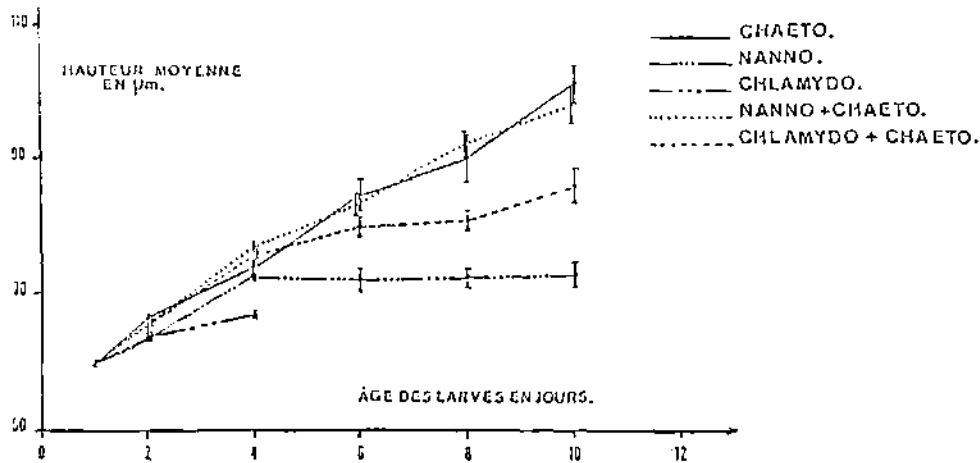


Figure 22 : Croissance des larves de C.gigas alimentées à l'aide de 100 cellules.µl⁻¹ de C.calcitrans, de N.atomus ou de C.bullosa et à l'aide de mélanges des précédentes (50 cellules de N.atomus et 50 cellules de C.calcitrans par µl.⁻¹ d'élevage: NANNO + CHAETO ; 50 cellules de C.bullosa et 50 cellules de C.bullosa.µl⁻¹ d'élevage :CHLAMYDO + CHAETO.

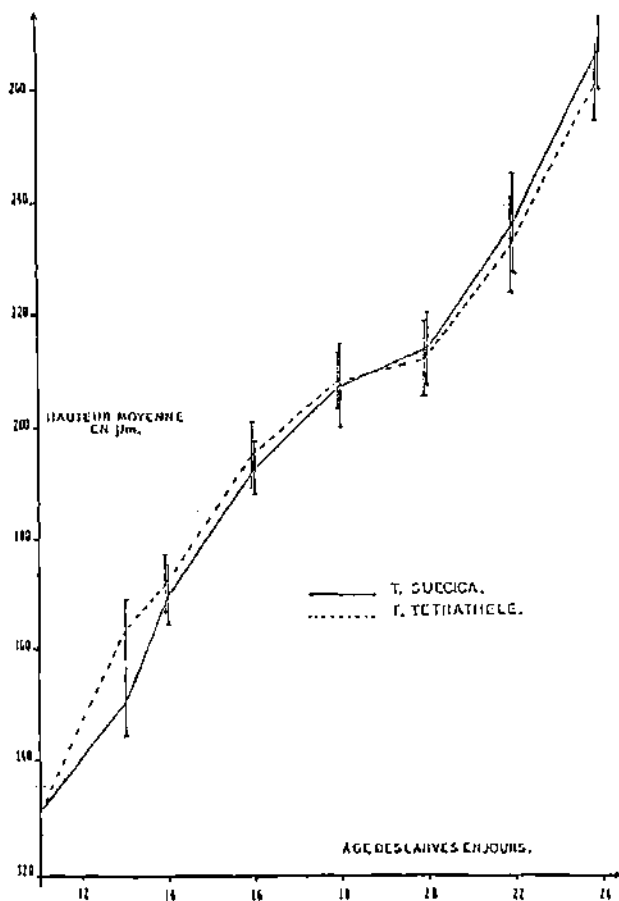


Figure 23 : Croissance de véligères umbonées de C.gigas alimentées à l'aide d'I.galbana(33 cellules.µl⁻¹, de C.calcitrans (33 cellules ; µl⁻¹) et soit T.suecica soit T.tetrathele (3.3 cellules. µl).

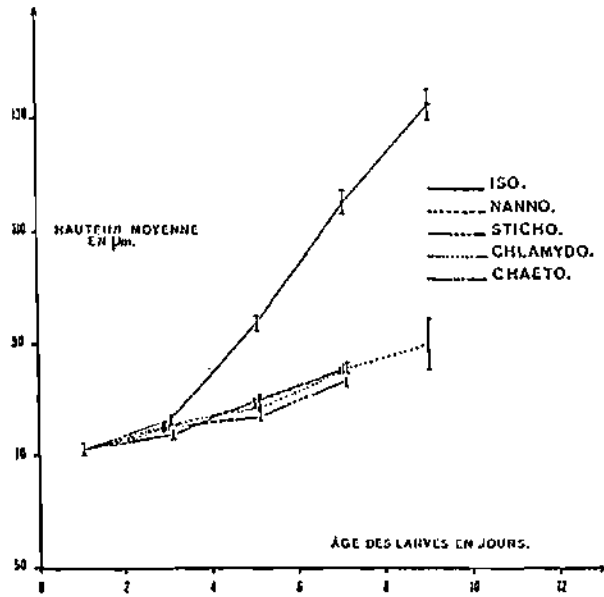


Figure 24 : Croissance des jeunes véligères de *Mytilus galloprovincialis* alimentées à l'aide d'*I. galbana* (ISO), *N. atomus* (NANNO), de *S. bacillaris* (STICHO), de *C. bullosa* (CHLAMYDO) et de *C. calcitrans* (CHAETO). Alimentation monospécifique (100 cellules. μl^{-1}).

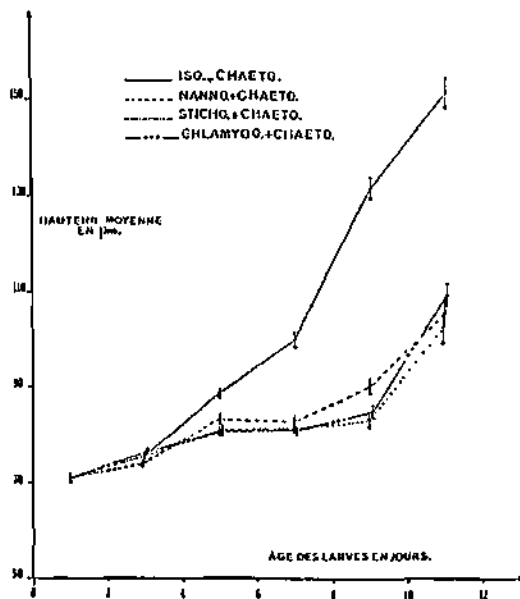


Figure 25 : Croissance des véligères de *M. galloprovincialis* alimentées à l'aide des mélanges suivants (100 cellules. μl^{-1}): *I. galbana* + *C. calcitrans* (ISO + CHAETO), *N. atomus* + *C. calcitrans* (NANNO + CHAETO), *S. bacillaris* + *C. calcitrans* (STICO + CHAETO), *C. bullosa* + *C. calcitrans* (CHLAMYDO + CHAETO).

Les élevages se sont déroulés normalement (0% de mortalités).

T.tetrathele permet même d'observer une meilleure croissance au 13ème jour, ou une croissance identique à celle des témoins (figure 23).

Expérience n°4.

Des larves de *Mytilus galloprovincialis* ont été utilisées.

Dans un premier cas, elles ont reçu pendant 9 jours une nourriture monospécifique afin de comparer la valeur alimentaire d'*I. galbana*, de *C.calcitrans*, de *N.atomus*, de *S.bacillaris* et de *C.bullosa* (100 cellules . μl^{-1} d'élevage pour chacune d'entre elles).

Une légère croissance s'observe la première semaine avec les algues testées (figure 24), mais les stades umbonés ne sont pas atteints; la hauteur moyenne augmente encore légèrement jusqu'au 9ème jour avec *C.bullosa* avant que les mortalités n'interviennent. Il faut noter que *C. calcitrans* utilisée seule ne donne pas de meilleurs résultats que les algues testées.

Dans un second cas, une nourriture plurispécifique a été apportée aux larves pendant 11 jours; en présence de 50 cellules . μl^{-1} de *C.calcitrans*, elles recevaient la même quantité de l'algue testée (soit *N.atomus*, soit *S.bacillaris* soit *C.bullosa*); les témoins recevaient *I.galbana* en plus de la Diatomée.

Les mortalités ont été inférieures ou égales à 5%; la croissance en présence de *C. calcitrans* n'est pas négligeable, environ 45% de celle des témoins dans tous les cas (figure 25), mais seulement 20% des véligères sont umbonées en fin d'observations.

L'utilisation des seules *N. atomus*, *C. bullosa* et *S. bacillaris* ne permet d'observer qu'une faible croissance des véligères de *C. gigas* pendant les trois premiers jours de la vie pélagique; or cette même croissance s'observe chez les larves maintenues à jeun: elle s'effectue donc vraisemblablement aux dépens des réserves vitellines (phase endotrophe); ultérieurement des mortalités sévères interviennent en une semaine.

Avec ces mêmes algues, une légère croissance s'observe pendant sept jours chez *M. galloprovincialis*, puis les larves sont décimées.

Chez ces deux bivalves, l'adjonction de la Diatomée *C. calcitrans* améliore la croissance larvaire, mais chez *C. gigas* les performances ne sont pas supérieures à celles que donne la seule Diatomée; chez la moule par contre la croissance est améliorée, sans atteindre cependant les performances obtenues avec le mélange *I. galbana* et *C. calcitrans*.

Par contre *T. tetrathele* peut remplacer *T. suecica* pour l'alimentation des larves umbonées de *C. gigas*: elle présente une bonne qualité alimentaire.

De nombreux travaux ont été consacrés à l'étude de la qualité des algues monocellulaires utilisées pour alimenter les véligères des bivalves d'intérêt commercial.

Des concentrations relativement élevées de *N. atomus* donnent de bons résultats avec les larves d'*Ostrea edulis* (80 à 100 cellules . μl^{-1}) et avec le naissain (500 cellules . μl^{-1}); par contre cette dernière concentration ne permet pas la croissance des juvéniles de *Merccenaria mercenaria* (Walne, 1956, 1970).

Les croissances obtenues chez les larves âgées de *C. gigas* avec *N. atomus* et *T. suecica* sont du même ordre (Millican et Helm,

1973) et un bon développement est observé chez *M. edulis* quand ces algues sont en phase exponentielle de croissance (Bayne, 1965). Nos résultats ne sont pas en accord avec les précédents puisque la croissance chez *M. galloprovincialis* est peu importante avec les cultures en phase exponentielle.

Stichococcus bacillaris ne semble jamais avoir été utilisée pour les élevages larvaires; *Stichococcus sp.* donne de très mauvais résultats chez *Crassostrea virginica* et *Mercenaria mercenaria*; l'espèce serait toxique (Davis et Guillard, 1958).

Des croissances médiocres ont été obtenues au cours de nos essais sans que l'on puisse attribuer une toxicité à cette algue; des mortalités de 60% sont observées chez la moule, mais elles tombent à 5% en présence de *C. calcitrans*. De plus les véligères de *C. gigas* recevant 1 000 cellules . μl^{-1} survivent pendant plusieurs jours, ce qui à priori permet d'exclure toute toxicité de cette algue.

Il ne semble pas exister de données en ce qui concerne *Chlamydomonas bullosa*; la croissance de véligères de *C. virginica* alimentées à l'aide de *Chlamydomonas sp.* est inférieure à celle des larves maintenues à jeun alors qu'un développement est obtenu chez *M. mercenaria*; cependant 50% seulement des larves semblent utiliser l'algue (Davis et Guillard, 1958).

Un mélange d'algues dans lequel *Chlamydomonas sp.* domine fortement permet un bon développement larvaire chez *M. edulis* (Hirano et Oshima, 1963). Dans le milieu naturel, ce genre est abondamment brouté de la larve D à la pédivéligère (Mackie, 1969) et semble intervenir dans le bon déroulement de la vie pélagique de *C. gigas* (Seliger et al., 1982).

Les bons résultats obtenus avec *T. tetrathele* confirment les données de Cole (1937) et de Walne (1970).

Des observations préliminaires en microscopie à

épifluorescence concernant l'ingestion et la digestion de *N. atomus* et *S. bacillaris* par les larves de *C. gigas*, ont été effectuées.

Les larves D âgées de 24 heures ingèrent ces deux algues dans les deux heures qui suivent leur adjonction, contre 4 heures avec *I. galbana*. Lorsque l'alimentation est différée au second jour, les trois algues sont ingérées dès les trois premières heures mais seule *I. galbana* est digérée dans ce laps de temps tandis que *S. bacillaris* est en cours de digestion en fin de journée et qu'à l'inverse *N. atomus* est toujours intacte.

La mauvaise qualité nutritionnelle de ces deux dernières en ce qui concerne la croissance et le faible taux de survie qu'elles permettent s'explique probablement par leur mauvaise digestibilité par les véligères.

Enfin les expériences mériteraient d'être reprises en ce qui concerne *C. bullosa*; outre les données précédemment citées de Mackie (1959) et de Seliger *et al.* (1982), cette algue a été systématiquement présente dans les broyats de larves effectués pendant plusieurs années en période de reproduction de *C. gigas*; à titre d'exemple, en 1985, sur 132 tubesensemencés, elle était présente dans 80% des cas.

4EME PARTIE : LES EXPERIENCES D ' ECOTOXICOLOGIE

CHAPITRE XI : ACTION DES ORGANOSTANNIQUES SUR LA REPRODUCTION DE *CRASSOSTREA GIGAS*

1. Action sur la maturation des géniteurs
2. Action directe sur les oeufs, les embryons et les larves
3. Action des organostanniques sur les algues fourrage
4. Action des peintures à base d'organostanniques sur le captage
5. Discussion

CHAPITRE XII : ACTION DE DIVERS MICROPOLLUANTS

1. Action des sels de cuivre
 - 1.1. Action d'une peinture à base d'oxyde cuivreux sur les géniteurs
 - 1.2. Action directe du sulfate de cuivre sur les oeufs, les embryons et les larves
 - 1.3. Action du chlorure cuivreux sur les oeufs, les embryons et les larves
2. Action de deux désherbants
 - 2.1. Action de l'atrazine-simazine

2.1.1. Action sur les oeufs, les embryons et les larves

2.1.2. Action sur les algues fourrage

2.2. Action du vernolate sur les oeufs, les embryons et les larves

CONCLUSIONS

4EME PARTIE.

LES EXPERIENCES D ECOTOXICOLOGIE.

Les expériences d'écotoxicologie basées sur l'utilisation des larves de *C.gigas* ont été conduites parallèlement aux recherches qui concernaient les anomalies de la reproduction, toutes deux ont utilisé les méthodes d'élevage larvaire en milieu contrôlé. Il s'agissait de préciser le seuil d'action des différents micropolluants susceptibles de perturber le milieu d'élevage des huîtres dans le bassin d'Arcachon, compte tenu des différentes activités anthropiques qui se développent sur la baie et sur son pourtour.

CHAPITRE XI : ACTION DES ORGANOSTANNIQUES SUR LA REPRODUCTION DE
CRASSOSTREA GIGAS

1. Action sur la maturation des géniteurs

Des observations de laboratoire ont montré que la fécondité des huîtres et la viabilité des gamètes peuvent être affectées par les stress subis par les adultes, lors de la maturation (Bayne, 1972 ; Zaarogian et Morisson, 1981).

Des *C.gigas* âgées de 18 mois au départ ont donc été cultivées pendant un an dans des caisses ostréophiles dont les parois avaient été revêtues à deux reprises de peinture antisalissure à base d'organostanniques (TBT0).

Une comparaison a été établie avec des huîtres élevées en absence de peinture, sur le même parc, en ce qui concerne les mortalités, la croissance, l'engraissement et le chambrage des huîtres.

Les organostanniques exercent une action très nettement défavorable sur la croissance pondérale des huîtres, ainsi que sur la croissance en longueur et en largeur de la coquille, la hauteur n'étant pas affectée ; les phénomènes habituels de chambrage et l'aspect typique en boule des sujets ont été obtenus (Alzieu *et al.*, 1982). Par ailleurs, l'index de condition, qui traduit l'état d'engraissement des mollusques, a été très fortement réduit par rapport à celui des huîtres témoins.

Enfin, la qualité des gamètes de géniteurs contaminés ou non, a été comparée à l'aide d'élevages larvaires (méthode des croissances comparées).

L'embryogénèse et le développement des larves issues de géniteurs contaminés ou non ne présentent aucune différence.

Les larves D normales sont obtenues en 24 heures ; pendant les onze jours d'observations aucune mortalité particulière ne se manifeste.

La seule action notée se situe au niveau de la croissance larvaire; malgré une hauteur moyenne légèrement supérieure au départ ($58,65 \pm 0,32\mu\text{m}$ contre $54,27 \pm 0,78\mu\text{m}$), les véligères issues de géniteurs contaminés se caractérisent par une croissance légèrement plus lente, avec une hauteur finale de $149,07 \pm 2,6\mu\text{m}$ pour les véligères issues de géniteurs contaminés par les organostanniques contre $155,04 \pm 2,74\mu\text{m}$ pour les véligères issues des géniteurs non contaminés; cette différence entre les deux moyennes est significative au seuil de probabilité de 1%).

Si les sels organométalliques de l'étain n'affectent pas d'une façon marquée la qualité des gamètes chez les huîtres qui ont mûri leurs produits sexuels à proximité d'une source de peinture antirouille, ils sont cependant loin d'inhiber totalement la croissance larvaire et la formation des stades umbonés chez *C. gigas*.

2. Action directe sur les oeufs, les embryons et les larves

L'action de concentrations en TBT comprises entre $100\mu\text{g.l}^{-1}$ et $0,02\mu\text{g.l}^{-1}$ sur les gamètes, l'embryogénèse et la croissance des larves de *C. gigas* a été étudiée.

-Au dessus de $1\mu\text{g.l}^{-1}$, les larves D ne sont jamais obtenues. Les trochophores sont toutes aberrantes pour 3 et $5\mu\text{g.l}^{-1}$; à $10\mu\text{g.l}^{-1}$ 80% seulement des oeufs se segmentent, on n'observe que de rares trochophores monstrueuses.

Age des larves exprimé en jours	CONCENTRATIONS EXPRIMEES EN µg/l.							Eau du Bassin (1981)	
	0	1	0,5	0,2	0,1	0,05	0,02	Teychan	Port Arc.
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	1	2	2	2	1	7	1	0	1
4	3	25	3	3	1	8	4	4	11
6	4	38	14	7	7	8	6	7	11,5
8	8	—	30	15	13	14	6	7	12
10	8	—	—	42	40	60	8	7	14
12	8	—	—	99	82	78	8	7	40

Tableau 23: Pourcentages de mortalités des véligères de C. gigas élevées à différentes concentrations en TBT et en eau du Bassin prélevée en 1981 dans le chenal du Teychan ou dans le port d'Arcachon.

Age des larves exprimé en jours	CONCENTRATIONS en µg/l.							1981		1982			
	0	1	0,5	0,2	0,1	0,05	0,02	A	B	C	D	E	F
1	66,90 ±0,73	61,19 ±0,98	60,85 ±1,15	64,04 ±0,66	64,28 ±0,94	65,62 ±0,76	66,12 ±0,63	68,70 ±0,88	62,65 ±0,69	67,46 ±0,69	67,48 ±0,59	65,89 ±0,62	67,54 ±0,62
2	77,07 ±0,71	61,08 ±0,83	65,04 ±0,73	71,65 ±0,65	73,79 ±0,75	73,97 ±0,83	74,92 ±0,82	67,39 ±1,15	71,88 ±0,80	78,35 ±0,71	78,00 ±0,62	77,07 ±0,79	77,76 ±0,94
4	94,77 ±1,18	68,41 ±0,7	—	—	—	—	83,14 ±1,29	86,45 ±1,91	85,21 ±1,74	87,67 ±1,03	88,33 ±1,15	88,70 ±1,04	85,99 ±1,00
6	102,37 ±2,70	—	67,01 ±0,87	75,79 ±1,48	79,79 ±1,93	78,82 ±2,04	91,92 ±2,81	105,79 ±2,49	88,31 ±3,74	105,31 ±2,51	108,38 ±2,84	103,84 ±2,38	100,03 ±2,53
8	109 ±2,7	—	—	70,49 ±1,46	73,62 ±2,82	77,98 ±4,31	113,42 ±3,6	132,16 ±5,16	116,71 ±3,25	134,20 ±3,31	133,49 ±4,13	126,05 ±4,32	120,39
10	130,14 ±4,00	—	—	—	—	—	133,31 ±4,49	142,18 ±4,14	132,58 ±4,70	151,45 ±4,25	154,54 ±4,10	145,31 ±4,67	144,07 ±4,45
12	150,95 ±4,75	—	—	—	—	—	151,73 ±7,14	177,21 ±6,21	169,13 ±2,57	167,98 ±5,48	170,90 ±4,35	176,14 ±5,23	161,79 ±5,31

Tableau 24: Hauteurs moyennes (µm avec intervalle de confiance au seuil de sécurité de 95%), des véligères de C. gigas élevées à différentes concentrations de TBT et en eau du bassin (1981). A : chenal du Teychan et B : port de plaisance, le 15/07/81. -Eaux prélevées en avril 1982. C : chenal du Teychan à basse mer. D, E et F : dans le port de plaisance respectivement à pleine mer, par trois heures de descendant et à basse mer.

Le nombre d'oeufs segmentés diminue ensuite de 60% ($25\mu\text{g.l}^{-1}$) à 1% ($50\mu\text{g.l}^{-1}$).

Enfin à $100\mu\text{g.l}^{-1}$, les fécondations sont inhibées. L'immersion d'ovules pendant une demi-heure seulement dans une solution de $50\mu\text{g.l}^{-1}$ de TBT empêche leur développement ultérieur après fécondation.

-A $1\mu\text{g.l}^{-1}$, les larves D sont obtenues dès les premières 24 heures, mais elles sont toutes anormales ; les mortalités sont totales entre quatre et six jours d'élevage.

-Pour les concentrations inférieures à $1\mu\text{g.l}^{-1}$, les véligères sont obtenues en 24 heures.

Les valeurs suivantes ont été testées: $0,5\mu\text{g.l}^{-1}$, $0,2\mu\text{g.l}^{-1}$, $0,1\mu\text{g.l}^{-1}$, $0,05\mu\text{g.l}^{-1}$ et $0,02\mu\text{g.l}^{-1}$. Excepté pour cette dernière valeur, les véligères présentent des anomalies de la masse viscérale (excroissances débordant des valves fermées) identiques à celles que décrivent Calabrese *et al.* (1977); elles affectent surtout les élevages à 1 et $0,5\mu\text{g.l}^{-1}$ et disparaissent le second jour ; ne persistent que les anomalies qui affectent la coquille larvaire (maximum de 18% à $0,5\mu\text{g.l}^{-1}$ et minimum de 5% à $0,05\mu\text{g.l}^{-1}$, contre 4% dans les élevages témoins).

De même le régime trophique des véligères est perturbé dès la concentration de $1\mu\text{g.l}^{-1}$, le tractus digestif est peu ou pas coloré malgré l'adjonction de nourriture le second jour après les fécondations ; l'absence de coloration se manifeste plus tardivement aux autres concentrations (4ème jour à $0,5$ et $0,2\mu\text{g.l}^{-1}$ et sixième jour à $0,1$ et $0,05\mu\text{g.l}^{-1}$), certaines larves échappant au phénomène. Seuls les élevages conduits à la plus faible concentration ne sont que très faiblement affectés le sixième jour.

Les mortalités (tableau 23) se stabilisent au-dessous de 10% dans les élevages témoins et à la plus faible concentration ; dans tous les autres cas, elles sont totales ou subtotaales entre le

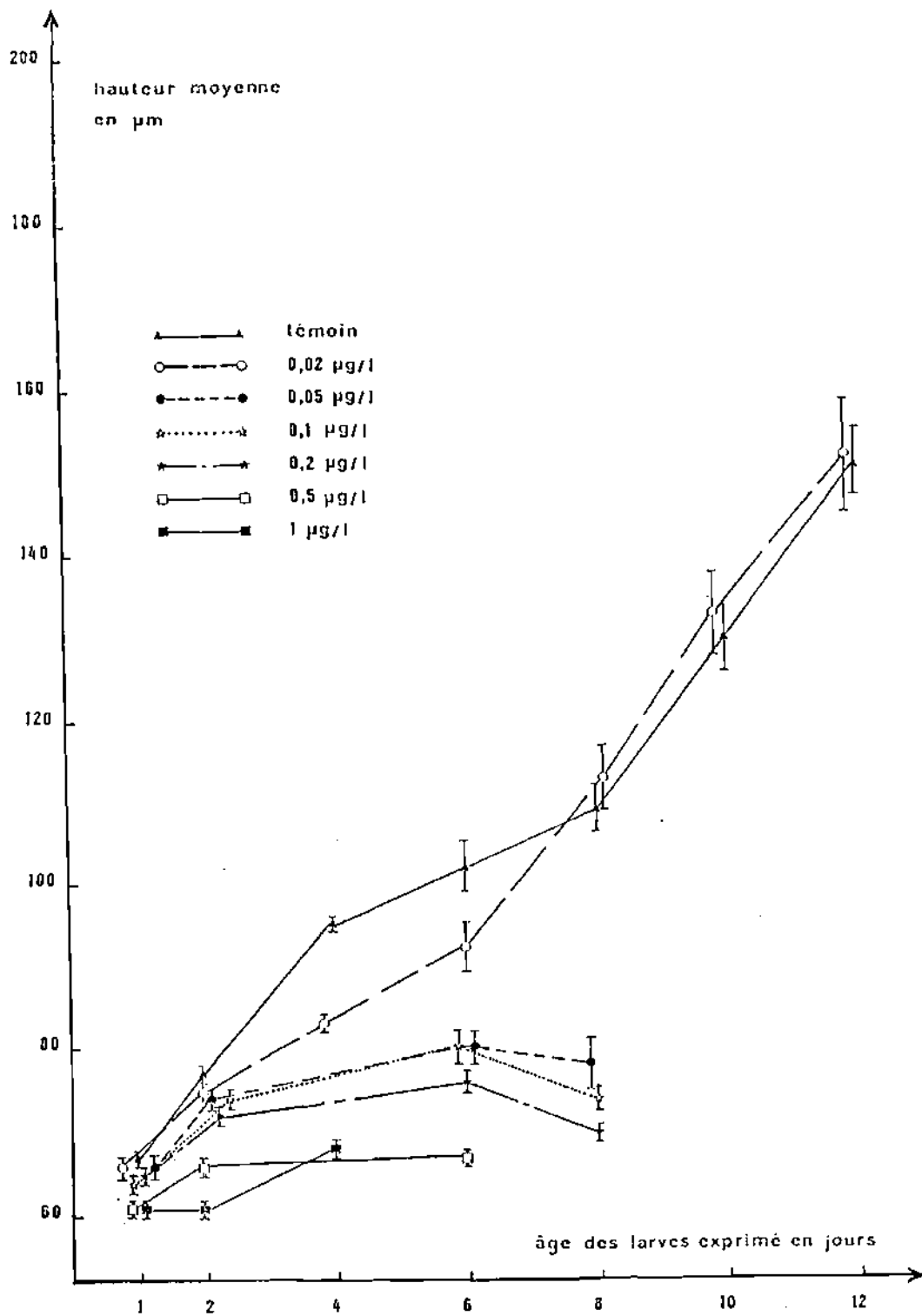


Figure 26: Croissance des larves de Crassostrea gigas formées et maintenues à des teneurs croissantes en acétate de tributylétain comprises entre 0 (témoins) et 1 $\mu\text{g.l}^{-1}$.

Concentrations ($\mu\text{g.l}^{-1}$)	Action sur la reproduction de <i>Crassostrea gigas</i> .
100	Inhibition de la fécondation.
50	Inhibition de la segmentation.
25	Inhibition partielle de la segmentation (40 %).
10	Absence de formation des trochophores.
3 et 5	Pas de véligères - Trochophores monstrueuses.
1	Véligères anormales - Mortalité totale en 6 jours.
0,5	Nombreuses larves anormales - Mortalité totale en 8 jours. Perturbation du régime trophique, s'accroissant du 4 ^e au 8 ^e jour. Croissance très réduite.
0,2	Pourcentage des larves D anormales moins élevé. Perturbation du régime trophique dès le 4 ^e jour. Mortalités progressives ; totales le 12 ^e jour. Croissance faible.
0,1	Larves D en majorité normales. Perturbation marquée du régime trophique dès le 6 ^e jour. Croissance faible jusqu'au 6 ^e jour. Mortalité subtotale le 12 ^e jour.
0,05	Larves D normales. Perturbation du régime trophique marquée le 8 ^e jour. Mortalités importantes à partir du 10 ^e jour. Croissance réduite.
0,02	Larves D normales. Mortalités réduites. Bonne croissance. Pas d'action du produit.

Tableau 25 : Echelle d'action de l'acétate de tributylétain sur la reproduction de C.gigas.

6ème et le 8ème jour (1 et $0,5\mu\text{g.l}^{-1}$) et le 12ème jour (0,2 à $0,05\mu\text{g.l}^{-1}$).

La croissance larvaire à $0,02\mu\text{g.l}^{-1}$ est comparable à celle des élevages témoins (tableau 24, figure 26), malgré un léger ralentissement entre le quatrième et le sixième jour, qui correspond à la perturbation des régimes trophiques précédemment mentionnée. Pour les teneurs supérieures à $0,02\mu\text{g.l}^{-1}$, la croissance est ralentie, le phénomène augmentant avec la concentration en TBT ; il est très marqué à 0,5 et $1\mu\text{g.l}^{-1}$ et se manifeste bien avant que les mortalités n'interviennent. La faible croissance observée entre 0,2 et $0,05\mu\text{g.l}^{-1}$ s'explique par l'existence de quelques véligères dont le régime trophique ne semble pas perturbé et qui se développent avant d'être décimées par les mortalités: leur nombre augmente dans les élevages lorsque la concentration en TBT diminue.

L'action de l'acétate de tributylétain se manifeste donc de façon progressive, des faibles aux fortes concentrations.

Ceci a permis d'établir une échelle d'action (tableau 25) qui résume l'essentiel de nos observations, depuis le blocage des fécondations, jusqu'à l'absence d'effet sur la reproduction de *C. gigas*.

A l'époque où les anomalies de la reproduction se manifestaient dans le bassin d'Arcachon, "la recherche de très faibles quantités d'organostanniques (inférieures au $\mu\text{g.l}^{-1}$) dans les eaux, se heurtait à de nombreuses difficultés analytiques et l'on ne disposait pas de données sur leur niveau de présence dans les eaux conchylicoles" (Alzieu, 1981).

L'échelle d'action mise au point (tableau 25) a permis, nous l'avons vu, d'évaluer le degré de contamination des eaux du Bassin d'Arcachon au cours de l'été 1981 et de montrer que l'on se situait à des teneurs inférieures ou égales à $0,02\mu\text{g.l}^{-1}$; de même il a été démontré que les mesures restrictives prises en début de l'année 1982 vis à

vis de l'utilisation des peintures antisalissure à base de TBT ont eu pour conséquence la diminution effective de la teneur en organostanniques des eaux du port de plaisance d'Arcachon.

2. Action des organostanniques sur les algues fourrage.

L'action des peintures antisalissure sur les multiplications des algues fourrage utilisées pour alimenter les larves de bivalves a été étudiée.

Les observations ont été réalisées à l'aide de cultures monospécifiques d'*Isochrysis galbana*, *Tetraselmis suecica*, *Chaetoceros calcitrans* et *Phaeodactylum tricornutum*, sur milieu de Conway, à la salinité de 27 p.mille.

Les cultures ont été effectuées en erlenmeyer de 2 litres contenant un litre de milieu, maintenues sous éclairage artificiel permanent, à la température de $20^{\circ} \pm 1^{\circ}C$, et ont été agitées manuellement trois fois par jour.

L'influence du toxique a été étudiée soit à l'aide d'acétate de tributylétain chimiquement pur (TBT), soit à l'aide de plaquettes de verre stériles recouvertes de surfaces de peinture du commerce comprises entre 1cm^2 et $1/100\text{cm}^2$ ("International TBT antifouling").

Les densités cellulaires des cultures ont été mesurées au compteur de particules.

Chez *I.galbana* deux séries d'observations ont été réalisées, d'une part avec le produit chimiquement pur, d'autre part avec des surfaces actives de peinture de 1cm^2 , $1/4\text{cm}^2$ et $1/8\text{cm}^2$.

On constate que le produit pur n'a aucune action sur les multiplications cellulaires aux concentrations testées; par contre, la peinture inhibe totalement la croissance, le phénomène étant net dès le second jour d'observation. Des surfaces moins importantes ont donc été utilisées. Avec $1/16$ et $1/32\text{cm}^2$, l'inhibition de la pousse des algues a aussi été constatée à deux reprises. Enfin les valeurs de $1/50$ et

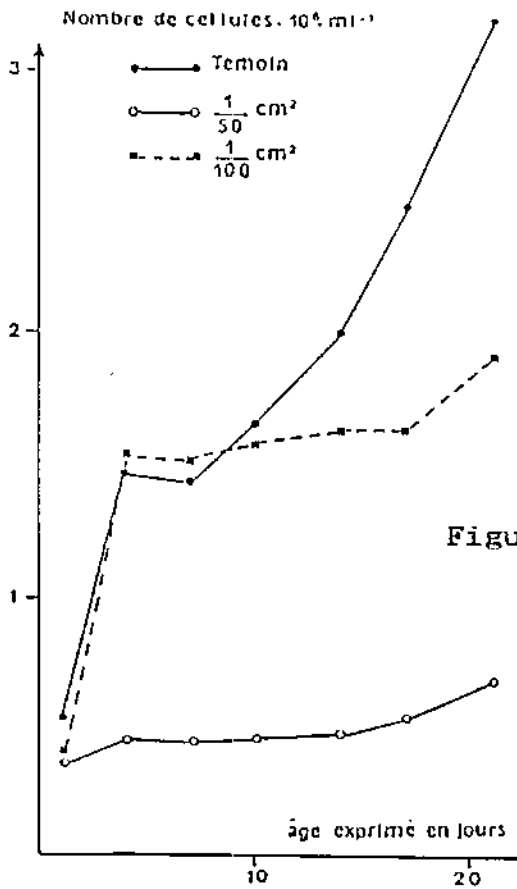


Figure 27 : Action d'une peinture antisalissure à base de TBTO sur la croissance d'Isochrysis galbana. Surfaces actives testées : 0 (témoins) 1/50 et 1/100 cm².

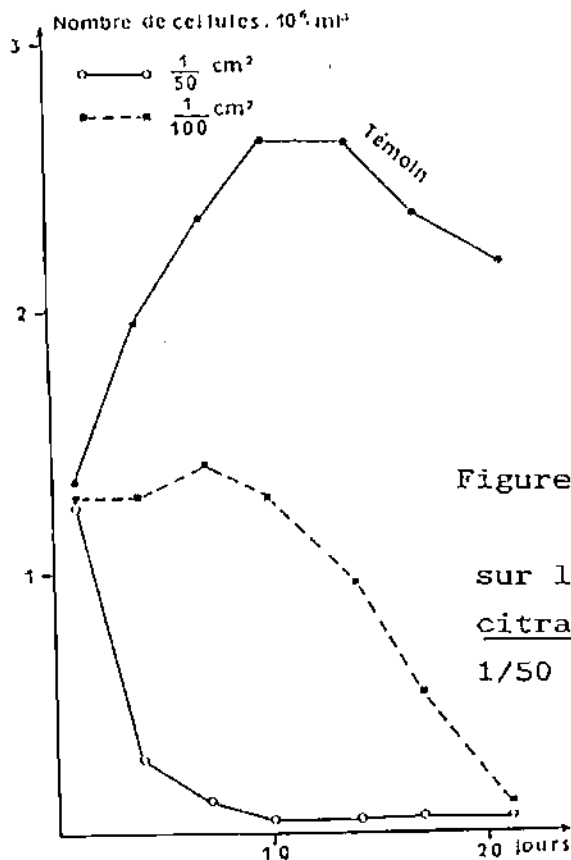


Figure 28 : Action d'une peinture anti salissure à base de TBTO sur la croissance de Chaetoceros calcitrans. Surfaces actives testées: 1/50 et 1/100 cm².

1/100 cm² ont aussi été testées (figure 27); pour la première, l'action du produit est néfaste dès les premiers jours, aucune pousse n'étant observée dans les erlenmeyers ; pour la seconde, la croissance de l'algue est très légèrement supérieure à celle des témoins pendant la première semaine , puis un blocage se manifeste et les densités cellulaires, le 21^e jour ne sont que de 1,8.10⁶ contre 3,21.10⁶ dans les témoins.

Chez *Chaetoceros calcitrans* l'acétate de tributylétain n'a pas d'action à la concentration de 1µg.l⁻¹ .

Deux séries d'observations ont été réalisées avec des surfaces peintes comprises entre 1 cm² et 1/32 cm² puis avec 1/50 et 1/100 cm² (figure 28).

Il y a inhibition totale du développement de l'algue au cours des quatre premiers jours.

Chez *Tetraselmis suecica*, comme dans les cas précédents, le produit chimiquement pur n'a pas d'action (figure 29) et la peinture agit en fonction de la surface utilisée.

Dans les témoins, la valeur de 2,05 .10⁶ cel.ml⁻¹ s'observe en fin d'expériences ; on n'obtient que 1,32. 10⁶ cell.ml⁻¹ avec 1 cm², soit près de deux fois moins; les concentrations cellulaires obtenues avec 1/2 cm² et 1/4 cm² (1,92 et 1,02 cell. ml⁻¹) sont voisines de celles des témoins et celles qui sont notées avec 1/8 cm² sont même supérieures (2,15. 10⁶ cell.ml⁻¹)

Chez la Diatomée *Phaeodactylum tricornutum* (figure 30), l'acétate de tributylétain chimiquement pur (1 µg. l⁻¹) n'a aucune action.

Les surfaces peintes de 1 cm² et 1/2 cm² provoquent une inhibition des multiplications cellulaires dans les cultures.

Les surfaces de 1/4 et 1/8 cm² entraînent une réduction de près de la moitié des multiplications cellulaires de la Bacillariophycée, avec des concentrations finales de 4,37 et 4,70. 10⁶ cell. ml⁻¹ contre 8,1. 10⁶ cell. ml⁻¹ dans les témoins.

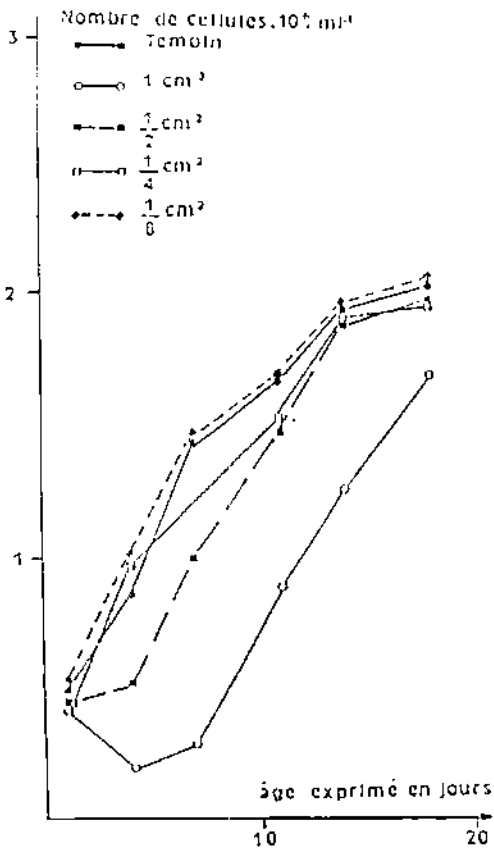


Figure 29 : Action d'une peinture anti-salissure à base de TBT sur la croissance de Tetraselmis suecica. Surfaces actives testées: 1, 1/2, 1/4 et 1/8 cm^2 .

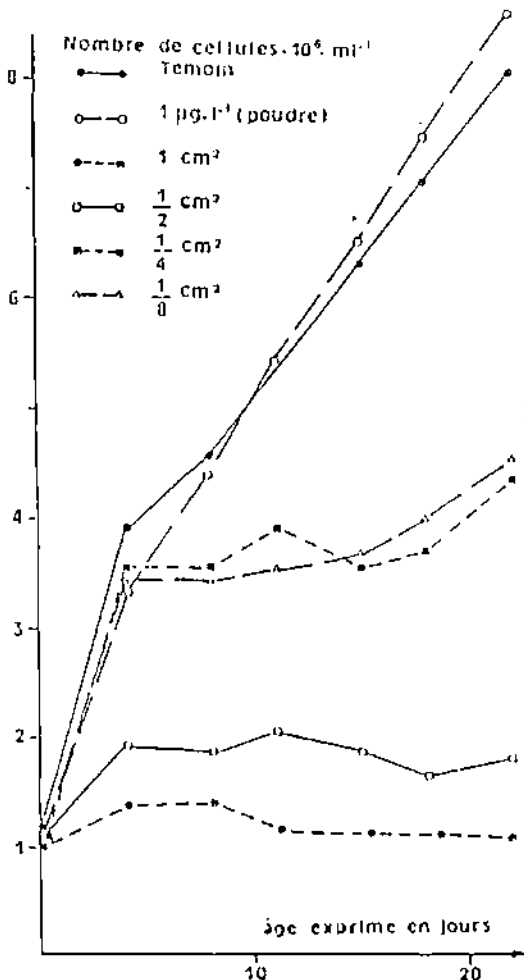


Figure 30 : Action de l'acétate de tributylétain à la concentration de $1 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ (poudre) et d'une peinture antisalissure à base de TBT sur la croissance de Phaeodactylum tricornutum. Surfaces actives testées : 1, 1/2, 1/4, 1/8 cm^2 .

Ces expériences démontrent que les peintures antisalissure à base de TBT peuvent inhiber les multiplications cellulaires de certaines algues fourrage.

La sensibilité varie énormément d'une espèce à l'autre ; aucune des algues n'a été perturbée lorsqu'un sel organométallique chimiquement pur (acétate de tributylétain) a été utilisé à la concentration de $1\mu\text{g l}^{-1}$, valeur pour laquelle l'embryogénèse est fortement perturbée chez *C.gigas*. Par contre une inhibition des multiplications cellulaires est provoquée chez certaines espèces par des surfaces actives de peinture aussi faibles que $1/100\text{ cm}^2$, dès les premiers jours d'observation.

La quantité de toxique relarguée par ce type de peinture est de $1.2\mu\text{g.cm}^2$ par jour (Smith, 1981), soit pour $1/100\text{ cm}^2$ seulement $1,2.10^{-2}\mu\text{g}$; les peintures antisalissures à base de TBT sont donc plus toxiques que le produit chimiquement pur; cet accroissement de la toxicité est lié soit à la seule action des solvants, soit à une action de synergie entre ces derniers et le TBT ; ainsi la toxicité des solvants des peintures antisalissure à base d'organostanniques sur les huîtres adultes a pu être mise en évidence (Gendron, 1985).

Enfin les différentes espèces n'ont pas la même sensibilité. *T.suecica* s'est révélée la moins sensible, puis *P.tricornutum*, pour laquelle une croissance est encore observée avec $1/8\text{ cm}^2$, puis *I.galbana* (multiplications cellulaires réduites de moitié avec $1/100\text{ cm}^2$) tandis que *C.calcitrans* n'a pu être cultivée en présence de peinture. Or il s'avère que ces deux dernières algues se caractérisent, en milieu expérimental, par leur excellente qualité nutritionnelle pour les larves de *C.gigas*. La sensibilité des algues unicellulaires aux herbicides, par exemple, varie énormément en fonction de l'espèce (Hollister et Walsh, 1973); il en est de même en ce qui concerne les peintures antisalissure à base d'organostanniques qui peuvent exercer une action défavorable sur certaines algues fourrage et par suite perturber, par voie indirecte, la reproduction de l'huître japonaise.

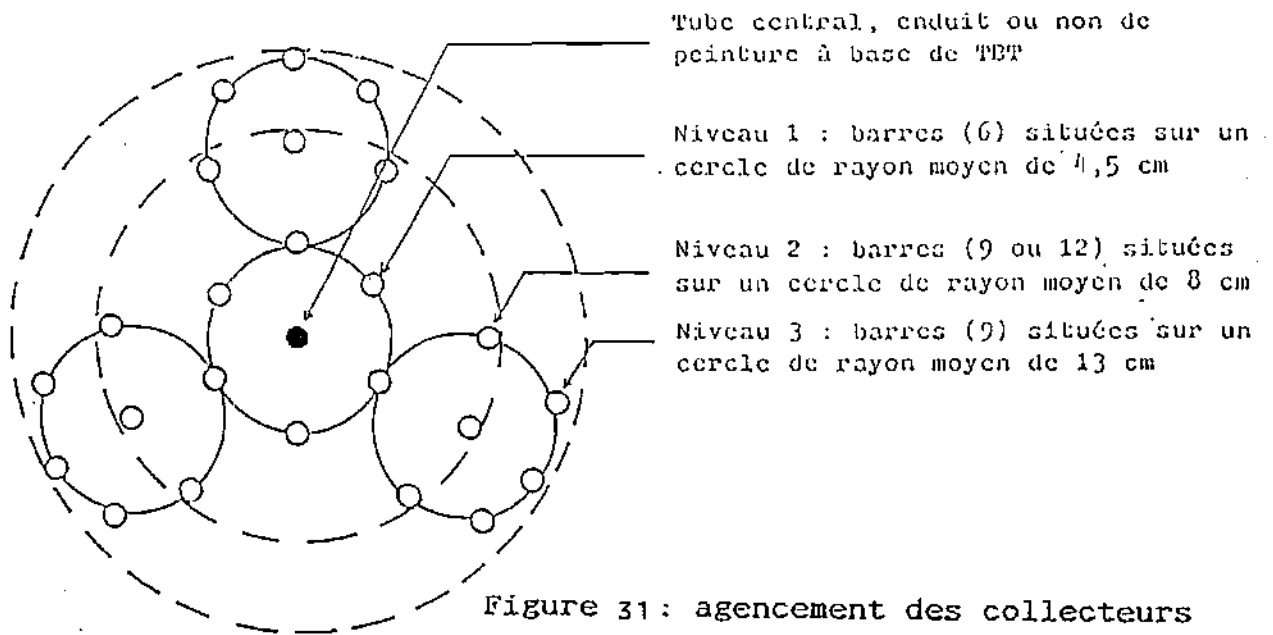


Figure 31 : agencement des collecteurs utilisés à Arcachon.

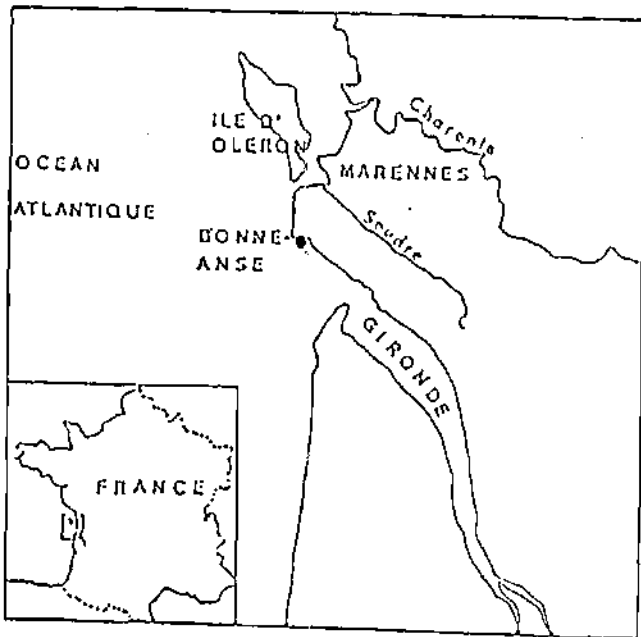


Figure 32

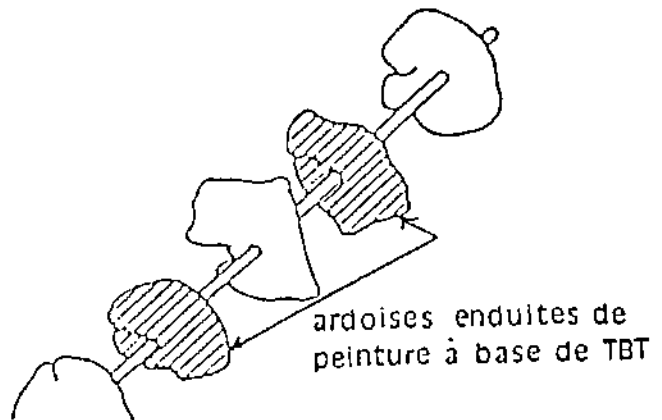
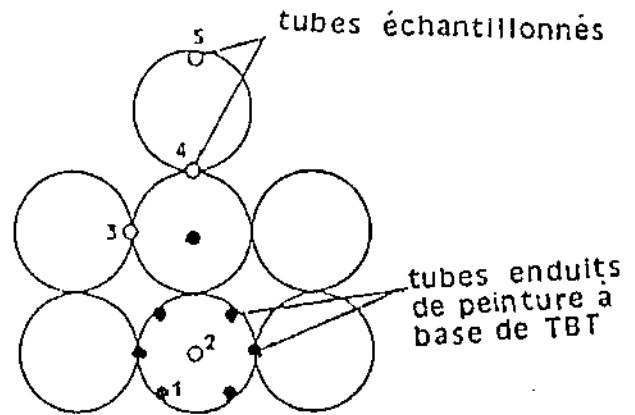


Figure 33

Figures 32 et 33 : Lieu d'immersion (Fig32) et agencement (Fig.33) des collecteurs dans l'estuaire de la Gironde.

3. Action des peintures à base d'organostanniques sur le captage.

Le passage de la phase pélagique à la phase benthique et la métamorphose chez les bivalves constituent une période critique pendant laquelle il existe une grande sensibilité aux facteurs d'agression.

L'influence d'une peinture antisalissure à base de TBT sur le captage de *C. gigas* a donc été étudiée dans le Bassin d'Arcachon (Villa Algérienne et Comprian, figure 1) et dans l'estuaire de la Gironde (Bonne Anse, figure 32).

Dans le bassin d'Arcachon, les collecteurs expérimentaux sont constitués par des "fagots" (figure 31) de tubes agencés autour d'un tube central (8dm²) revêtu de 6.4g de peinture (fagot traité) ou non (fagot témoin). Chaque tube d'environ 2,2cm de diamètre, a 1,2m de long. L'immersion du matériel expérimental a eu lieu début juillet 1982 et les observations ont été effectuées à l'issue de la saison de reproduction, début septembre (Villa Algérienne) et à la mi-novembre (Comprian), soit dans ce dernier cas après plusieurs mois de croissance pour le naissain fixé.

Les pédivéligères ont été présentes dans le plancton de la mi-juin à la fin août, avec des valeurs très élevées à la fin juin dans le secteur continental (9 520.m⁻³); en zone océanique, les larves en fixation ont aussi été abondantes des premiers jours de juillet à la fin août. Le captage a été intense et ininterrompu sur l'ensemble du Bassin pendant toute la saison estivale.

Dans l'estuaire de la Gironde (Bonne Anse) deux types de collecteurs ont été utilisés (figure 33): des ardoises espacées de

10cm², une sur deux étant recouverte de peinture (21gr/26 dm²) et des fagots de tubes collecteurs ; les fagots traités comportent 7 tubes recouverts de peinture (45gr/56dm²). L'immersion des collecteurs a eu lieu le 24 août 1982 et les observations ont été réalisées le 10 novembre. Le captage a été particulièrement intense du 22 août au 5 septembre, non étalé sur plusieurs semaines comme dans le Bassin d'Arcachon.

L'action de la peinture antisalissure s'est manifestée différemment dans les deux sites.

A Arcachon elle a eu tout d'abord un effet répulsif; les pédivéligères possèdent la possibilité de choisir leur support grâce aux propriétés sensorielles du pied (Prytherch, 1924; Yonge, 1960; Medcof, 1961) ; en effet des substances chimiques sont à l'origine de comportements grégaires lors de la fixation. La peinture a empêché la fixation des larves non seulement là où elle a été appliquée, mais aussi à proximité, et ce jusqu'à une distance d'au moins 13 cm; le collecteur n'a été colonisé qu'après une perte importante de l'efficacité de son revêtement; on assiste alors au captage tardif d'un naissain dont la croissance est ralentie (intensité réduite de 60 à 70%) surtout à faible distance de la source de TBT (longueur du naissain réduite de 40 à 60%).

Dans l'estuaire de la Gironde, l'intensité du captage reste inchangée jusqu'à proximité de la peinture; celle-ci provoque cependant des mortalités massives chez les jeunes huîtres jusqu'à environ 25 cm de la source, la croissance des survivants est gravement altérée (réduction comprise entre 80 et 90% par rapport aux témoins), avec un développement en épaisseur caractéristique, comme cela a été démontré chez l'adulte (Alzieu *et al.*, 1982).

La différence notée entre les deux sites s'explique tout d'abord par l'échelonnement des émissions tout au long de l'été à Arcachon et par la brièveté et l'intensité particulière de la

période de captage dans l'estuaire de la Gironde.

La compétition pour un support et les conditions de milieu particulières telles que forte turbidité et teneurs en cuivre élevées de l'eau de mer, dont on sait qu'elles provoquent la fixation des pédivé-ligères (Prytherch, 1924), font que l'effet répulsif de la peinture ne s'est pas manifesté à Bonne-Anse.

A l'inverse, dans le Bassin d'Arcachon, les larves peuvent différer leur fixation jusqu'à ce qu'elles trouvent des conditions de milieu favorables (Yonge, 1960 ; Medcof, 1961 ; Galtsoff, 1964).

De plus, la quantité de TBT utilisée en Gironde est très supérieure et le captage a lieu juste après la mise à l'eau, c'est à dire au moment où la peinture est la plus toxique, ce qui explique les mortalités observées sur les jeunes huîtres.

Par contre, à Arcachon, du captage a pu se produire après une période de lixiviation de plusieurs semaines, la peinture ayant perdu une partie de sa toxicité.

Quoiqu'il en soit, dans les deux sites, la peinture antisalis-sure à base de TBT réduit donc pratiquement à néant le rendement du cap-tage.

5. Discussion

Les huîtres se caractérisent par l'existence d'une phase péla-gique qui permet la propagation de l'espèce.

Le succès de la reproduction dépend en premier lieu de la qua-lité des gamètes; la sensibilité aux altéragènes des différents stades chez les invertébrés, varie en fonction de l'âge; il existe générale-ment un facteur de 30 entre le stade le plus vulnérable (gamètes) et le stade adulte, le plus résistant (Amiard-Triquet, 1983)

Enfin les chances de propagation d'une espèce dépendent de la possibilité offerte aux larves de trouver qualitativement et quantitati-vement dans leur biotope, les aliments qui leur conviennent.

<u>Espèce</u>	<u>Stade</u>	<u>Resultat</u>	<u>Source</u>
<i>Crassostrea</i>			
<i>virginica</i>	embryon	LC50-48h : 1.30µg.l ⁻¹	Roberts 1987
	larve D	LC50-48h : 3.96µg.l ⁻¹	idem
<i>Crassostrea</i>			
<i>gigas</i>	embryon	LC50-24h : < 5µg.l ⁻¹	His et Robert 1980
	embryon	formation incomplète de larves D à 1µg.l ⁻¹ en 24h ;mortalité en 48h	Robert et His 1981
	larve D	LC50-48h < (µg.l ⁻¹	His et Robert 1980
	larve D	≈ 50% de mortalités : à 5µg.l ⁻¹ en 192 à 240h à 3µg.l ⁻¹ en 123à 144h à 1µg.l ⁻¹ en 96 à 120h	Robert et His 1981
	larve D(?)	LC50-48h : 1.61µg.l ⁻¹	Thain 1983
<i>Merceneria</i>	embryon	LC50-48h à 1.13µg.l ⁻¹	Roberts 1987
<i>merceneria</i>			
	larve D	LC50-48h à 1.65µg.l ⁻¹	idem
	larves plus âgées	LC50-96h à 0.015µg.l ⁻¹ *	Becerra- Huencho 1984
<i>Mytilus</i>	larve D(?)	LC50-48h à 2.3µg.l ⁻¹	Thain 1983
<i>edulis</i>			
	larve de 7j	LC50-360h à ≈ 0.1µg.l ⁻¹ LC50-240h entre 0.1 et 1.0 µg.l ⁻¹ LC50-120h entre 1.0 et 10.0µg.l ⁻¹	Beaumont et Budd 1984
<i>Mytilus</i>	embryon	LC50-48h entre 1.0 et 3.0µg.l ⁻¹	Robert et His 1981
<i>gallopro- vincialis</i>	larve D	LC50-120H à 5µg.l ⁻¹	idem

* exprimé en TBT0. La donnée d'origine est de 0.006µg.l⁻¹ de Sn.

Tableau 26 : toxicité du TBT pour les embryons et les larves de bivalves (Roberts, 1987).

Les différents volets de l'étude relative à l'action des peintures antisalissure sur la reproduction de *C. gigas* ont permis de répondre à ces différents points.

Malgré l'action défavorable exercée sur la croissance, l'engraissement et la calcification, la qualité des gamètes et la croissance des larves issues de géniteurs contaminés sont peu affectées.

La sensibilité des oeufs et des larves à l'action du TBT est très grande puisqu'il faut descendre à des valeurs inférieures à $0,02\mu\text{g.l}^{-1}$ pour qu'aucune action ne soit observée.

Les peintures antisalissure à base de TBT réduisent très fortement le captage, la survie et la croissance du naissain.

Enfin ces peintures inhibent les multiplications cellulaires de certaines algues fourrage et peuvent ainsi hypothéquer la propagation des huîtres creuses.

Le protocole expérimental mis au point pourrait être adopté pour la recherche des effets des *antifouling* en zone littorale, les huîtres et les stades larvaires étant particulièrement sensibles à tout facteur d'agression.

Dés 1980, nous pouvions préconiser l'interdiction des peintures antisalissure à base d'organostanniques en zone conchylicole, compte-tenu de la toxicité particulière de ces produits, en comparaison des autres micropolluants étudiés à cette époque.

Très rapidement les travaux de nombreux auteurs ont pu confirmer nos données.

En ce qui concerne l'action sur les larves de bivalves Roberts (1987) fait la synthèse des données actuelles (tableau 26). La plupart de nos observations sur ces problèmes ont pu être vérifiées par les auteurs anglo-saxons (travaux de Thain, Waldock et Thain en 1983; Roberts, 1987).

Enfin la très grande diversité de réponse des algues nanoplanctoniques aux effets délétères du TBT a aussi été signalée

(Thain, 1983); ces toxiques diminuent de moitié la production primaire des populations naturelles du phytoplancton à des concentrations variant de 6 à 10 nmol.l⁻¹ d'étain (Wong *et al.*, 1982).

TOXIQUE	LIMITES D ACTION
CuCl ₂	50µg.l ⁻¹ :-perturbation de l'embryogénèse. -action sur la croissance de larves D formées en absence du produit. 10µg.l ⁻¹ :-action sur la croissance larvaire.
CuSO ₄	100µg.l ⁻¹ :-action marquée sur la croissance. 50µg.l ⁻¹ :-perturbation de l'embryogénèse. 25µg.l ⁻¹ :-retard de croissance.
ATRAZINE-SIMAZINE	1mg.l ⁻¹ :-action sur l'embryogénèse et la survie larvaire. 0.5mg.l ⁻¹ :-action sur la croissance larvaire. 0.1mg.l ⁻¹ :-action sur le phytoplancton
VERNOLATE	0.25mg.l ⁻¹ :-action sur la croissance larvaire.

Tableau 27 : Action de différents micropolluants sur la formation et la croissance des larves de *C.gigas*.

CHAPITRE XII : ACTION DE DIVERS MICROPOLLUANTS

Il s'agissait de définir le seuil d'action des différents micropolluants autre que les organostanniques, susceptibles de perturber les activités aquacoles, en fonction des différentes activités exercées sur le plan d'eau lui-même ou sur son pourtour (tableau 27).

1. Action des sels de cuivre

1.1. Action d'une peinture à base d'oxyde cuivreux sur les géniteurs

L'oxyde cuivreux entre dans la composition des peintures antisalissure traditionnelles; il convenait donc de tester son action sur les embryons et les larves de *C.gigas* à titre de comparaison avec le précédent *antifouling* (TBT).

En ce qui concerne l'action sur les géniteurs, le même protocole que précédemment a été adopté (élevage des huîtres en caisse ostréophile aux parois peintes).

Les peintures contenant des sels de cuivre n'ont pratiquement pas d'action sur la croissance mais ils provoquent un amaigrissement des huîtres (abaissement de l'index de condition).

Ni la viabilité des embryons ni la croissance des larves issues de géniteurs contaminés ne sont affectées; à l'issue de onze jours d'élevage, les hauteurs moyennes des véligères sont même légèrement supérieures à celles des témoins ($161.8 \pm 3.0\mu\text{m}$ contre $155.0 \pm 2.8\mu\text{m}$); la comparaison des deux moyennes permet de constater que la différence observée est significative au seuil de probabilité de 5% .

Il s'agit ici d'un phénomène d'hormèse, tel que le décrit Stebbing (1982) et qui se caractérise par l'effet stimulant qu'exercent parfois certains toxiques à de très faibles concentrations.

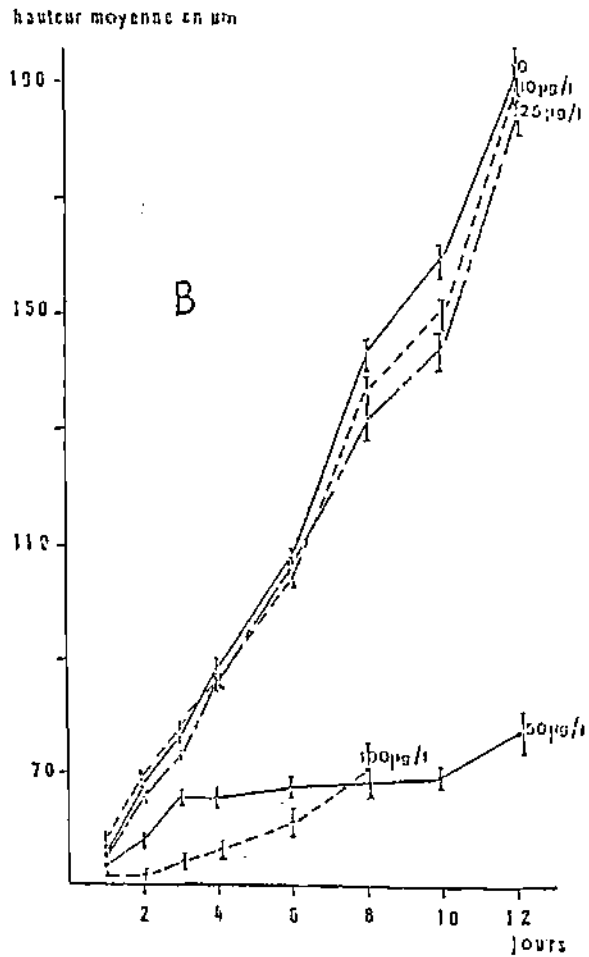
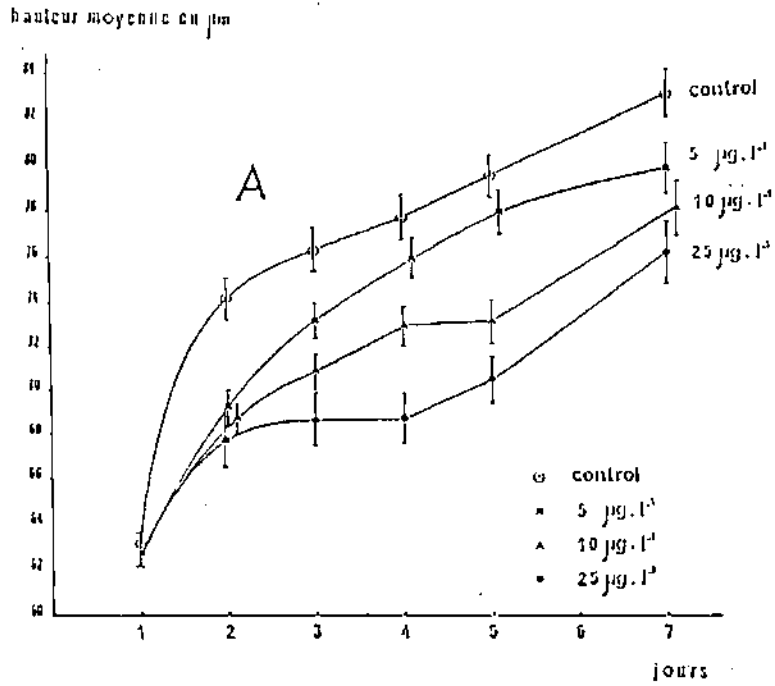


Figure 34 : Action du chlorure de cuivre (A) et du sulfate de cuivre (B) sur la croissance des larves de Crassostrea gigas.

1.2. Action directe du chlorure cuivreux sur les oeufs, les embryons et les larves

Le chlorure cuivreux entre lui- aussi dans la composition de certaines peintures antisalissures.

Son action sur les oeufs, les embryons et les larves de *C. gigas* a donc été étudiée.

Le chlorure cuivreux provoque une inhibition du développement larvaire à la concentration de $50\mu\text{g.l}^{-1}$ et au dessus ; 31% des larves D sont encore anormales lorsque fécondation et embryogénèse se produisent à cette concentration en présence du toxique.

La croissance larvaire est encore nettement retardée jusqu'à la concentration de $10\mu\text{g.l}^{-1}$ (tableau 27 et figure 34).

1.3. Action directe du sulfate de cuivre sur les oeufs, les embryons et les larves

Ces dernières années, pour lutter contre les salissures qui constituaient une gêne importante, les ostréiculteurs traitaient leurs installations à l'aide de solutions de sulfate de cuivre à 7 p.mille, déversant à l'approche de la saison de reproduction, plusieurs tonnes de ce produit dans les eaux du Bassin.

L'action de ce sel métallique sur l'embryogénèse et la croissance des véligères a donc été étudiée.

Il faut descendre au-dessous de $50\mu\text{g.l}^{-1}$ pour pouvoir obtenir des larves D normales, avec des pourcentages d'anomalies proches de ceux des témoins.

De même le comportement (prise en charge de la nourriture disponible) et la croissance larvaire sont fortement affectés à la valeur de $50\mu\text{g.l}^{-1}$ (17% de la croissance des élevages témoins en 12 jours).

La concentration de $25\mu\text{g.l}^{-1}$ constitue donc un seuil au-dessus duquel la croissance larvaire est fortement ralentie; on observe de

plus une grande hétérogénéité des populations larvaires, en ce qui concerne la répartition en taille : certaines véligères sont peu affectées, d'autres au contraire voient leur croissance fortement retardée et sont peu à peu décimées par les mortalités.

Si l'on compare les teneurs respectives en ions cuivreux du chlorure et du sulfate cuivreux, le sulfate est le moins toxique ($16\mu\text{g.l}^{-1}$ contre $10\mu\text{g.l}^{-1}$ respectivement). Néanmoins, l'utilisation du sulfate de cuivre dans une baie semi-fermée comme le Bassin d'Arcachon est à déconseiller.

2. Action de deux désherbants.

Depuis la dernière décennie, la maïssiculture s'est fortement développée sur le pourtour du Bassin d'Arcachon où elle est pratiquée sur une superficie de 36 000 hectares.

Parmi les pesticides et les herbicides, l'atrazine-simazine est le plus utilisé, l'usage du vernolate ayant aussi été constaté à proximité de la baie.

La toxicité de ces deux désherbants sur les embryons et les larves de l'huître japonaise a donc été étudiée, celle de l'atrazine-simazine, le plus usité, a aussi été recherchée sur les algues fourrage, *Isochrysis aff. galnana* et *Chaetoceros calcitrans*.

2.1. Action de l'atrazine-simazine

2.1.1. Action sur les oeufs, les embryons et les larves

L'atrazine et la simazine sont deux composés appartenant au groupe des triazines, la formulation utilisée en maïssiculture contenant 250g.l^{-1} de chacun des deux produits, soit 500g.l^{-1} au total.

Huit concentrations ont été testées sur les embryons et les

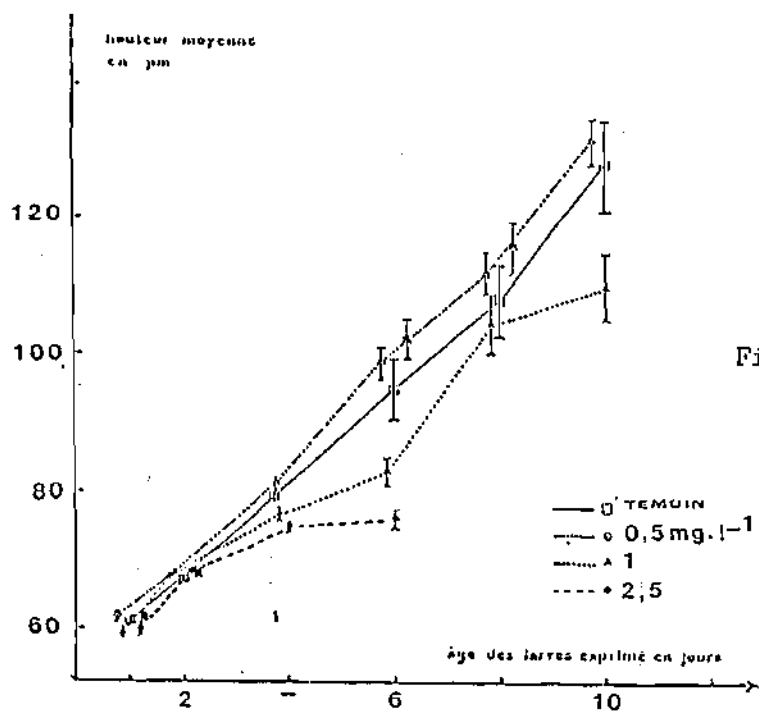


Figure 35 : Croissance des larves de *Crassostrea gigas* à différentes concentrations d'atrazine-simazine

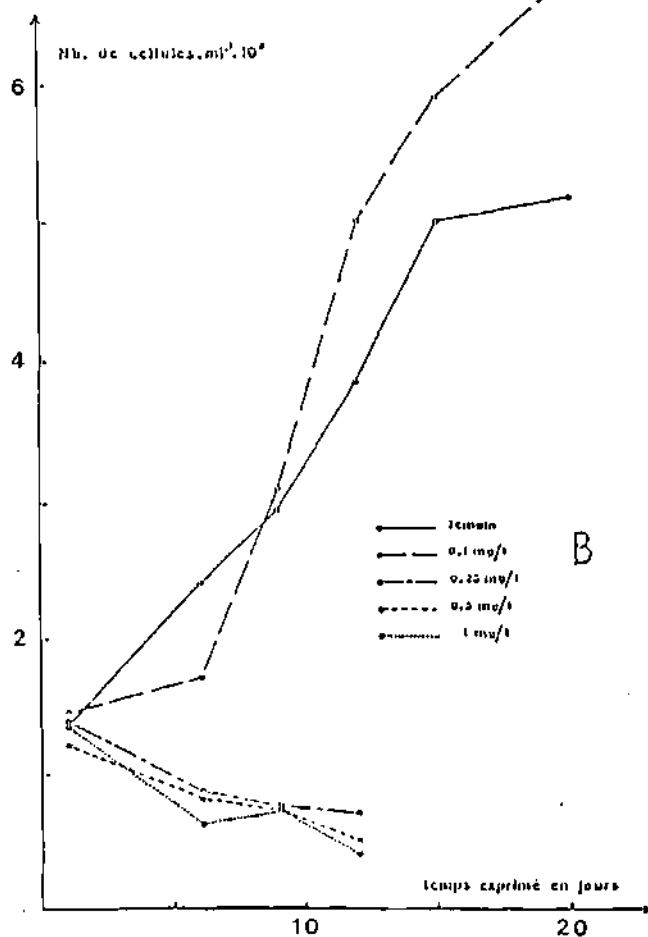
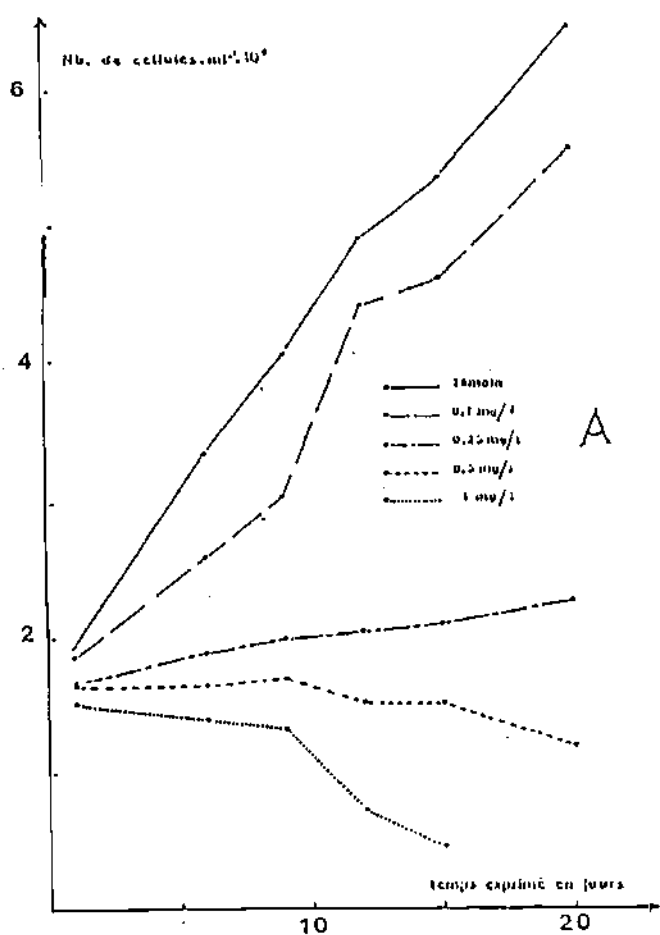


Figure 36 : Croissance d'*Isochrysis aff. galbana* (A) et *Chaetoceros calcitrans* (B) à différentes concentrations en atrazine-simazine.

larves: 0,1; 0,25; 0,5; 1; 2,5; 7 et 10 mg.l⁻¹ ; les quatre concentrations inférieures à 1mg.l⁻¹ l'ont été sur les algues (figures 35 et 36).

La valeur de 1mg.l⁻¹ constitue un seuil au-dessus duquel les pourcentages de larves D anormales obtenues augmentent avec la concentration (passage de 15% à 2,5mg.l⁻¹ à 75% dès les premières 24 heures à 10mg.l⁻¹).

De même, les mortalités augmentent à partir de cette même valeur seuil (mortalités totales en huit jours aux teneurs égales ou supérieures à 2,5mg.l⁻¹).

Pour les concentrations inférieures à cette dernière, on observe un ralentissement de la croissance à partir de 1mg.l⁻¹, dès le quatrième jour d'observation. Par contre, à 0,50 mg.l⁻¹ et au-dessous, la croissance n'est pas affectée.

2.1.2. Action sur les algues fourrage

En ce qui concerne l'action du toxique sur le phytoplancton, la teneur de 0,1 mg.l⁻¹ représente un seuil pour les deux espèces.

Cette concentration s'accompagne d'une diminution peu marquée des multiplications cellulaires chez *I.aff.galbana* tandis qu'une légère stimulation semble se manifester chez *C.calciatrans* (phénomène d'hormèse).

A 0,25mg. l⁻¹ et au-dessus, la pousse des algues est franchement perturbée (figure 36).

Si les véligères de *C.gigas* peuvent résister jusqu'à la concentration de 0,5 mg.l⁻¹ (seuil de toxicité directe), il peut y avoir perturbation de la reproduction par action sur le régime trophique des véligères à 0,25mg . l⁻¹ (toxicité indirecte).

2.2. Action du vernolate sur les oeufs, les embryons et les larves

Le vernolate appartient au groupe des carbamates.

Seule l'action sur l'embryogénèse et la croissance larvaire a été étudiée.

Ce désherbant est légèrement plus toxique que le précédent puisqu'il faut descendre à la concentration de $0,25\text{mg.l}^{-1}$ pour qu'aucune action ne soit observée sur la croissance des véligères, 20% d'entre elles étant encore décimées par les mortalités en dix jours d'observations à la concentration de $0,5\text{mg.l}^{-1}$.

CONCLUSIONS

La mise au point du test "larves d'huîtres" a été motivée par les études relatives aux anomalies de la reproduction de *C.gigas* dans le Bassin d'Arcachon.

La très grande sensibilité des gamètes, des embryons et des larves de ce bivalve a pu être constatée. Ces faits ont amené les chercheurs à préconiser l'utilisation de ce matériel biologique pour les études d'écotoxicologie marine (voir Stebbing et al., 1980).

En effet, comme le fait remarquer Woelke (1967), bien qu'on ne sache pas dans l'absolu si les résultats obtenus sur les embryons d'huîtres sont applicables aux autres espèces, là où les huîtres peuvent se reproduire, la plupart des organismes marins littoraux le peuvent aussi.

D'autres arguments plaident en faveur de la larve d'huître comme organisme sentinelle en écotoxicologie marine.

La maturation et l'émission des gamètes peuvent être obtenues toute l'année; il est ainsi possible d'obtenir des larves parfaitement viables en toute saison. Cette pratique est d'ailleurs mise à profit dans les écloseries de type industriel.

Il est facile de réaliser les fécondations sous des conditions expérimentales et le nombre d'ovocytes émis par une seule femelle (plusieurs milliers) permet de mener en même temps un nombre

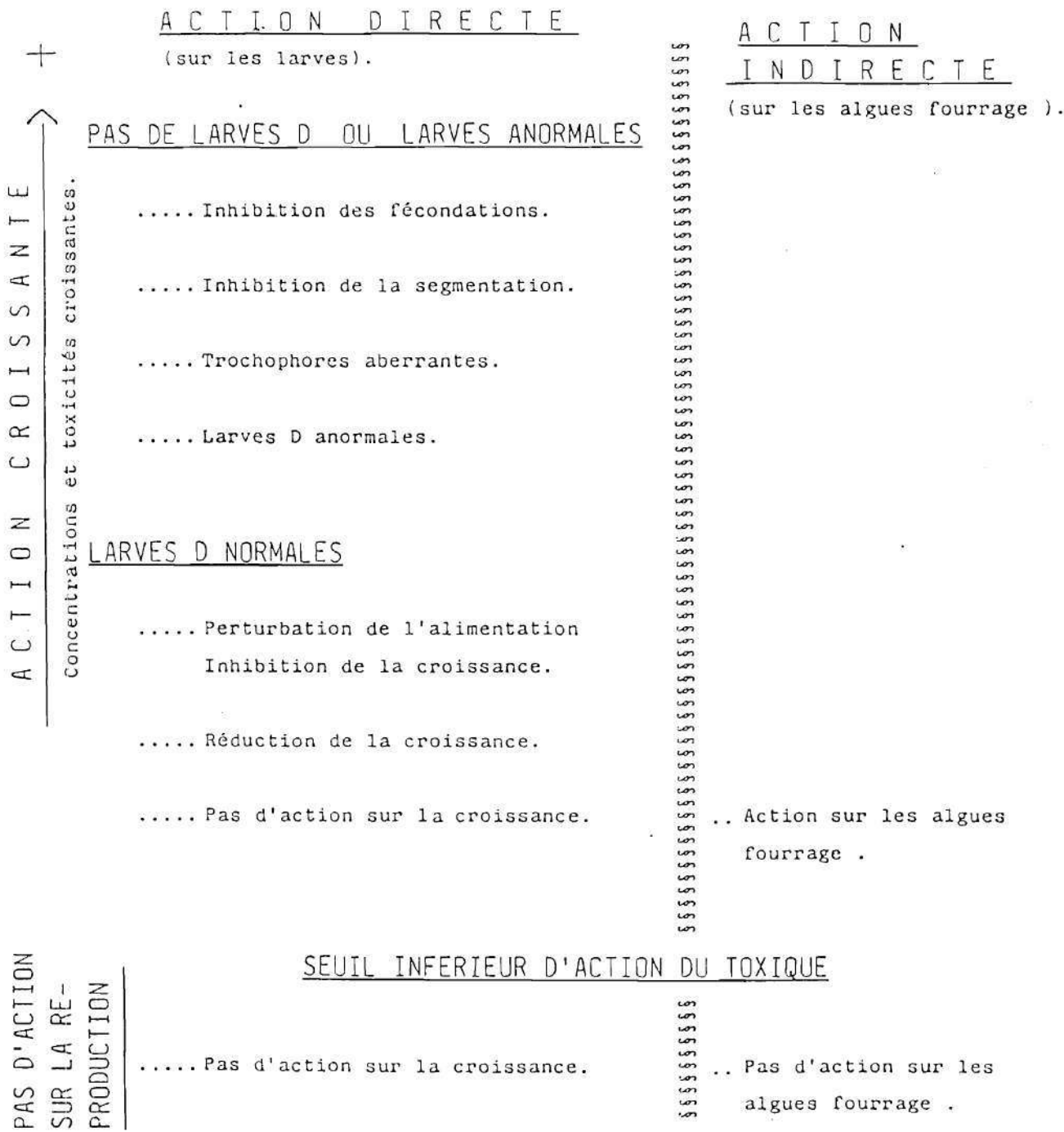


Tableau 28 : Progression de l'action des altéragènes sur les oeufs, les embryons et les larves de C.gigas en fonction de leur toxicité croissante.

important d'élevages en faible volume.

De nombreux animaux utilisés en écotoxicologie ne trouvent pas en laboratoire des conditions optimales; il peut en résulter une "aggravation de l'action néfaste des polluants" (Amiard-Triquet, 1983).

Les véligères, à l'inverse, croissent et se métamorphosent normalement même en faible volume, ce qui traduit un bon déroulement de la vie larvaire.

Enfin, malgré l'intérêt que présentent les larves de moule en écotoxicologie marine, les véligères des huîtres creuses sont généralement deux fois plus sensibles aux facteurs d'agression (Martin et al., 1981).

Les résultats obtenus mettent en évidence la progression de l'action des altéragènes, en fonction de leur toxicité croissante (tableau 28). Devra être considérée comme seuil la concentration en dessous de laquelle on n'observe:

- aucun ralentissement de la croissance larvaire pendant la période minimum de 9 jours après les fécondations.
- aucune action sur les multiplications cellulaires des algues fourrage utilisées, pendant 21 jours d'observations.

Outre les études concernant l'action directe des altéragènes, les larves de *C.gigas* peuvent être utilisées pour la surveillance des zones littorales.

On peut estimer avec Chapman et Long (1983) que la surveillance des pollutions marines par voie chimique et par étude des communautés benthiques, doit être complétée par des "essais biologiques" sur des échantillons d'eau prélevés dans le milieu.

Woelke (1967, 1972) propose l'utilisation des embryons de *C.gigas*.

Cette méthode a permis de mieux appréhender, nous l'avons vu, les causes des anomalies de la reproduction à Arcachon et de mettre en évidence la décontamination de cette zone conchylicole perturbée par les sels organométalliques de l'étain, les méthodes chimiques n'étant pas suffisamment sensibles.

Peuvent être recherchées par la technique des bioessais, l'incidence des eaux de ruissellement sur le potentiel reproducteur des zones conchylicoles ainsi que l'incidence des rejets de dragage des zones portuaires (Nelson *et al.*, 1983); dans ce dernier cas, les auteurs démontrent l'existence d'une toxicité résiduelle un mois après le déversement dans la zone de rejet.

Enfin les élevages permettent d'évaluer le degré de contamination des sédiments eux-mêmes (Chapman et Morgan, 1983).

Néanmoins les auteurs basent généralement leurs observations d'une durée de 48 heures, sur le seul développement larvaire.

Des données plus précises doivent être obtenues par l'établissement des courbes de croissance et par les observations sur les multiplications cellulaires des algues fourrage.

CONCLUSIONS GENERALES

L'importance du recrutement chez *Crassostrea gigas* pour le maintien de l'ostréiculture arcachonnaise, mais aussi l'intérêt qu'il présente pour la conchyliculture française en général, ont justifié la mise en place de recherches relatives aux anomalies de la reproduction de *C. gigas* dans la baie.

Les résultats obtenus ont montré que les véligères constituent un matériel biologique de choix pour aborder le problème de la nutrition de la phase pélagique chez les Bivalves, et que le Bassin d'Arcachon, véritable éclosérie naturelle, est un site privilégié pour ce type d'étude.

L'implication de facteurs anthropiques dans les perturbations du recrutement, a justifié le développement de recherches en écotoxicologie marine; les résultats acquis ont mis en évidence le rôle d'organisme sentinelle joué par les véligères de *C. gigas*.

Perturbations du recrutement chez *Crassostrea gigas*

La conduite d'élevages larvaires sous diverses conditions expérimentales de milieu a permis de comprendre les causes des anomalies observées de 1976 à 1981, qui se sont traduites par une réduction et un arrêt de la croissance des larves et par la dépigmentation de leur tractus digestif.

Les phénomènes observés n'ont pu être imputés ni à l'action de facteurs thermiques défavorables, ni à la qualité des gamètes maturés par les géniteurs de la baie; la qualité biologique de l'eau de mer du Bassin était suffisante pour permettre le bon déroulement de la vie pélagique des véligères, le passage à la vie benthique et la métamorphose.

Par contre, une perturbation du régime trophique des larves,

dont la phase endotrophe est de faible durée et dont les exigences nutritionnelles sont particulièrement marquées, a été mise en évidence.

Aucune observation directe sur le nanoplancton du Bassin d'Arcachon n'a été effectuée pendant les saisons estivales où ont sévi les anomalies du recrutement.

Néanmoins, le fait que les véligères prélevées dans le milieu naturel, élevées en eau de la baie et alimentées à l'aide de cultures d'algues monocellulaires, ont pu croître et atteindre la phase benthique, amène à penser qu'il a existé à ce moment là, une perturbation du nanoplancton dont se nourrissent les véligères dans le milieu naturel.

Quelques mois après les mesures restrictives concernant l'utilisation des peintures antisalissure à base d'organostanniques, le recrutement est redevenu abondant et régulier; ceci conforte l'hypothèse selon laquelle ces micropolluants ont été responsable des perturbations du biotope observées dans le Bassin.

Postérieurement à ces mesures restrictives et malgré des saisons estivales relativement peu favorables (1988, par exemple), les jeunes recrues ont toujours été très abondantes; on a pu dénombrer de 300 individus (1988) à 7 000 individus (1985 et 1989) par collecteur, en fin de saison de reproduction.

Ceci confirme bien le caractère de véritable éclosérie naturelle du Bassin d'Arcachon pour l'huître japonaise, *C. gigas* et laisse supposer l'existence de perturbations d'origine anthropique, lorsque le recrutement devient irrégulier, voire inexistant pendant plusieurs années consécutives.

Le facteur nutritionnel

Le succès du recrutement est assuré dans le milieu naturel, lorsque la présence des véligères coïncide avec celle d'une nourriture suffisante sur le plan qualitatif et quantitatif

(Persoone et al.)

L'importance de ce facteur nutritionnel, par rapport au facteur thermique, a été précisée expérimentalement.

Le facteur thermique joue un rôle nettement prépondérant par rapport aux autres facteurs pour assurer le bon développement des larves chez *C. gigas*.

Chez cette espèce, la survie à une absence momentanée de nourriture en début de phase pélagique, peut varier de quatre à six jours selon les conditions de milieu. Ceci correspond bien aux observations réalisées sur la survie des cohortes du milieu naturel pendant qu'ont sévi les anomalies de la reproduction.

S'il n'existe qu'un nombre restreint d'algues monocellulaires utilisées pour les élevages larvaires de Bivalves en milieu contrôlé, l'alimentation des véligères au laboratoire ou en écloserie, ne pose pas de problème majeur à l'heure actuelle.

Par contre, les connaissances relatives à la nourriture utilisée par les véligères de *C. gigas* dans leur biotope sont très limitées ; elles sont dues aux seules études de Mackie (1969), de Fritz *et al.* (1984) et récemment à celles de Baldwin *et al.* (1989) et ne concernent que *C. virginica*.

Comme le constate Mann (1988), les résultats acquis pendant des années de recherches au laboratoire, amènent à penser qu'il faut de nouveau étudier les larves dans le milieu naturel, pour mieux comprendre leur biologie et leur recrutement au benthos. C'est cette démarche qui a guidé nos travaux dès 1981.

Différentes approches originales, basées sur l'isolement des véligères du Bassin d'Arcachon, ont été tentées pour aborder le problème de la nutrition des larves dans le milieu naturel.

Les premiers éléments, à notre connaissance, concernant le nanoplancton du Bassin d'Arcachon, ont permis de constater la coïncidence entre les floraisons nanoplanctoniques et la période de reproduction de *C. gigas*; l'apparition d'un nombre important de larves D à la suite de frais massifs, a été suivie d'une diminution sensible des biomasses nanoplanctoniques; enfin l'abondance des Diatomées de petite taille, *Cyclotella sp.* et *Navicula sp.* a été mise en évidence.

Des observations en microscopie à épifluorescence ont montré qu'il n'existe pas de rythme diurne dans la prise en charge de la nourriture par les véligères et que le nombre de particules ingérées individuellement par les larves du Bassin, est faible, en comparaison du nombre de cellules apportées en milieu contrôlé.

L'études du "grazing", à l'aide de populations phytoplanctoniques naturelles par les véligères du milieu naturel, a permis de constater que la prise en charge de la nourriture n'est en aucune façon liée à la présence d'une espèce définie, mais qu'elle dépend en premier lieu de la taille des proies; en particulier 90% de celles-ci ont une taille inférieure à 4 μm . Ces résultats ont été confirmés par les études récentes de Baldwin *et al.* (1989), chez *C. virginica*.

Des observations originales, concernant les cultures d'algues extraites des broyats de larves et les cultures à partir de simples inoculums d'eau de mer filtrée, ont renforcé l'idée d'une absence de sélection des particules ingérées par les véligères du milieu naturel, puisque dans les deux cas, les mêmes espèces ont été obtenues.

Les microalgues autochtones isolées du tractus digestif des larves ont été produites en culture et leur qualité alimentaire a pu être testée sur les larves en milieu contrôlé. *Tetraselmis tetrahele* s'est révélée particulièrement efficace en ce qui concerne la croissance des véligères umbonées.

Par contre, pour les Diatomées, qui ont été ubiquistes dans les récoltes, il n'a pas été possible d'obtenir une croissance en "bloom"; des agrégats, adhérant fortement aux parois des récipients de culture, ont été obtenus. Dans ces conditions, la qualité alimentaire des Diatomées n'a pu être testée. Or des cellules isolées de ces mêmes espèces sont très fréquemment observées dans le nanoplancton et ont été reconnues dans le tractus des véligères.

Leur mise en culture s'accompagne probablement de modifications de leurs caractéristiques, et peut-être même d'une modification de leur qualité alimentaire pour les véligères.

Elles doivent cependant jouer un rôle très important dans la nutrition des larves de *C. gigas* du Bassin d'Arcachon.

L'état physiologique des larves et en particulier leur compétence à la métamorphose, dépendent des réserves accumulées au cours de leur vie pélagique (Gallager et Mann, 1981; Lucas et al., 1986b).

C'est pour caractériser l'état physiologique des véligères, au cours d'une saison estivale favorable au recrutement, que les études sur la composition biochimique des larves du milieu naturel ont été conduites.

Des données originales ont été acquises sur la croissance linéaire et pondérale ainsi que sur la composition biochimique élémentaire des larves d'une même cohorte, du stade D à la pédivéligère.

Les véligères de *C. gigas* présentent une stratégie particulière en ce qui concerne les réserves énergétiques constituées en vue de la métamorphose; ce sont les protides qui sont accumulés et non les lipides comme chez *Mytilus edulis* (Lucas, 1982) et chez *Ostrea edulis* (Holland et Hannant, 1974; Holland et Spencer, 1973).

Les résultats acquis au cours d'une saison favorable au recrutement constituent un élément de référence supplémentaire pour caractériser d'éventuelles anomalies de la reproduction.

Ecotoxicologie

Les tests de toxicité basés sur l'utilisation des embryons et des larves de *C. gigas* ont permis de dénoncer, pour la première fois dès 1980, le danger que constitue l'utilisation des peintures antisalissure à base d'organostanniques pour les écosystèmes littoraux.

Outre une action marquée sur les véligères à de très faibles teneurs, elles peuvent inhiber les multiplications cellulaires chez certaines algues fourrage.

Ultérieurement de nombreux auteurs ont mis en évidence les perturbations imputables à l'action de ces toxiques en milieu marin (synthèses de Thompson *et al.*, 1985 et de Alzieu, 1989).

En ce qui concerne plus particulièrement le Bassin d'Arcachon, Féral (1982) a pu attribuer les anomalies du tractus génital chez les femelles de *Mucella lapillus*, *Nassarius reticulatus*, et *Ocenebra erinacea* (imposex), à l'action de ces polluants; Alzieu *et al.* (1982) ont montré qu'ils étaient responsables des anomalies de la calcification chez *C. gigas*.

Parmi les altéragènes, les pesticides sont toxiques à des concentrations de l'ordre de plusieurs centaines de $\mu\text{g.l}^{-1}$; les sels métalliques les plus dangereux pour les embryons et les larves de Bivalves marins (les sels de cuivre et de mercure notamment) exercent une action défavorable à des valeurs de l'ordre de quelques $\mu\text{g.l}^{-1}$.

Il a été démontré dès 1983, alors que les méthodes analytiques n'étaient pas assez sensibles pour doser les organostanniques dans l'eau de mer, que leur seuil d'action est de l'ordre de quelques ng.l^{-1} . Le fait a été confirmé ultérieurement : le seuil d'apparition de l'imposex chez *M. lapillus* se situe au niveau du ng.l^{-1} (Gibbs et Bryan, 1987) et le seuil sans effet sur les anomalies de la calcification chez *C. gigas* est inférieur à 2 ng.l^{-1} (Alzieu, 1989).

Les organostanniques sont donc très nettement plus toxiques que les autres micropolluants qui sont susceptibles de perturber le biotope, compte tenu des différentes activités anthropiques qui s'exercent sur le pourtour du Bassin d'Arcachon ou sur le plan d'eau lui-même. En particulier ils sont mille fois plus toxiques que les sels de cuivre dont le seuil d'action se situe à $25 \mu\text{g. l}^{-1}$.

Les travaux réalisés à Arcachon mettent en évidence le danger que peuvent constituer les activités anthropiques pour les écosystèmes littoraux. Certes les nuisances sont généralement de nature polygénique, mais deux phénomènes caractéristiques ont pu être mis en évidence:

- les larves de *C. gigas* sont particulièrement sensibles aux facteurs d'agression et constituent un matériel marin qui permet l'élaboration de tests relativement simples pour déterminer le seuil d'action des micropolluants, mais aussi pour estimer la qualité de différents échantillons d'eau de mer.

Les tests basés sur l'utilisation des larves de *C. gigas*, en particulier sur leur vitesse de croissance, permettent de déceler la présence de micropolluants dans l'eau de mer lorsque les méthodes de la chimie analytique ne sont pas assez sensibles.

Les véligères de *C. gigas* doivent donc être retenues comme "organisme sentinelle".

- Les altéragènes peuvent exercer leur action par voie indirecte en agissant sur la chaîne trophique; des concentrations sublétales de micropolluants sont susceptibles de détruire certains éléments essentiels de la chaîne trophique qui sont remplacés par des éléments inadaptés à satisfaire les besoins alimentaires des

organismes marins les plus exigeants.
Les expériences d'écotoxicologie doivent donc
comporter des observations sur l'action des mi-
cropolluants sur les algues fourrage.

Le protocole expérimental, mis au point pour rechercher les
causes des anomalies de la reproduction de *C. gigas* dans le Bassin d'Ar-
cachon et comportant à la fois des observations sur la qualité biologi-
que de l'eau de mer vis à vis des larves de *C. gigas* et des algues four-
rage, pourrait donc être retenu pour mettre en évidence d'éventuelles
nuisances affectant les écosystèmes littoraux.

R E F E R E N C E S B I B L O G R A P H I Q U E S

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Alzieu, C., 1981. Evaluation des risques dus à l'emploi des peintures anti-salissures dans les zones conchylicoles. *Rapport I.S.T.P.M., Nantes, 15 juin 1981, 84p.*
- Alzieu, C., 1989. L'étain et les organoétains en milieu marin. Biogéochimie et écotoxicologie. *Rapports scientifiques et techniques de l'IFREMER, N°17 : 1-93.*
- Alzieu, C., Héral M., Thibaud Y., Dardignac M.J. et Feuillet M., 1982. Influence des peintures antisalissures à base d'organostanniques sur la calcification de la coquille de l'huître *Crassostrea gigas*. *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, 45 (2), 101-116.
- Amiard-Triquet, C., 1983. Les tests de toxicité aiguë en milieu aquatique: méthodologie, standardisation, interprétation, limites d'application. *Océanis*, 9 (6), 451-463.
9, 252-268.
- Babinchack, J. et R. Ukeles, 1979. Epifluorescence microscopy, a technique for the study of feeding in *Crassostrea virginica* veliger larvae. *Mar. Biol.*, 51, 69-76.
- Baldwin, B.S., R.I.E. Newell et T.W. Jones, 1989. Omnivorous feeding in *Crassostrea virginica* larvae: consumption of naturally occurring phytoplankton, protozoa and bacteria. *Proc. natn. Shellfish. Assoc.*, 8(2), p 473.
- Bartlett, B.R., 1979. Biochemical changes in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg) during larval development and metamorphosis. *Proc. natn. Shellfish Assoc.*, 69, 202.
- Bayne, B. L., 1965. Growth and the delay of metamorphosis of the larvae of *Mytilus edulis* (L.). *Ophelia* 2, 1-47.
- Bayne, B.L., 1972. Some effects of stress in the adult on the larval development of *Mytilus edulis* (L.). *Nature*, (London), 237, 459.
- Bayne, B. L., 1976. Aspects of reproduction in bivalve

- molluscs. *Estuarine Processes*, Martin Wiley Edit., 1 432-448.
- Bayne, B. L., 1983. Physiological ecology of marine molluscan larvae. In K.M. Wilbur (Ed), *The Mollusca*, 3. Development. Academic Press, New York, NY, 299-343.
- Beaumont, A.R., et Budd M.D., 1984. High mortality of the larvae of the common mussel at low concentrations of tributyltin. *Mar. Pollut. Bull.* 15, 402-405.
- Becerra-Huencho, R. M., 1984. The effect of organotin and copper sulfate on the late development and presettlement behavior of the hard clam *Mercenaria mercenaria*. MS Thesis, Chesapeake Biol. Lab., Univ. Maryland, Solomons Island, Maryland, 83p.
- Berg, C.J., 1971. Review of possible causes of mortality of oyster larvae of the genus *Crassostrea* in Tomales Bay, California *Fish and Game*, 57, 69-75.
- Bompayre, J., 1955. Observations sur la production du nais-sain dans le bassin d'Arcachon. *La Pêche Maritime*, 233, 670.
- Borde, J., 1938. Etude du plancton du Bassin d'Arcachon et des rivières du Morbihan. *Rev. Trav. Off. Pêches marit.*, 11 (4), 523-541.
- Bouchet, J.M., 1968. Etude océanographique des chenaux du Bassin d'Arcachon. Thèse de Doctorat d'Etat, Bordeaux, 306p.
- Boury M., 1928. Etude de la reproduction des huîtres. *Rev. Trav. Off. Pêches marit.*, 1 (2), 87-98.
- Calabrese, A. et Davis H.C., 1967. Effects of "soft" detergents on embryos and larvae of the American oyster (*Crassostrea virginica*). *Proc. natn. Shellfish. Ass.*, 57, 11-16.
- Calabrese, A. et Davis H. C., 1970. Tolerances and requirements of embryos and larvae of bivalve molluscs. *Helgoländer Meeresunters*, 20, 553-564.
- Calabrese, A., Collier R.S., Nelson D.A. et J.R. Mac Ines, 1973. The toxicity of heavy metals to embryos of the American oyster *Crassostrea virginica*. *Mar. Biol.*, 18, 162-166.

- Calabrese, A. Mac Innes J. R., Nelson D. A. et J.E. Miller, 1977. Survival and growth of bivalve larvae under heavy mental stress. *Mar. Biol.* 41, 179-183.
- Carriker, M. R., 1961. Interrelation of functional morphology, behavior, and autecology in early stages of the bivalve *Mercenaria mercenaria*. *J. Elisha Mitchell scient. Soc.*, 77, 168-241.
- Chapman, P.M. et E.R. Long, 1983. The use of bioassays as part of a comprehensive approach to marine pollution assessment. *Mar. Pollut. Bull.*, 14 (3), 81-84.
- Chapman, P.M. et J.D. Morgan, 1983. Sediment bioassays with oyster larvae. *Bull. environ. Contamin. Toxicol.*, 31, 438-444.
- Chretiennot-Dinet, M.J., 1984. Rapport sur l'étude qualitative et quantitative du phytoplancton dans le Bassin d'Arcachon. Rapport interne I.S.T.P.M., 20p.
- Chretiennot-Dinet, M.J. et N. Guillocheau, 1987. Etude de diatomées d'écosystèmes marins côtiers. Observations nouvelles en microscopie électronique. *Cah. Biol. mar.*, 28, 271-279.
- Chretiennot-Dinet, M.J., Robert R. et E. His, 1986. Utilisation des "algues fourrage" en aquaculture. *Année. biol.* 25 (2), 97-119.
- Cole, H. A., 1937. Experiments in the breeding of oysters (*Ostrea edulis*) in tanks with special reference to the food of the larva and spat. *Fish. Invest. London*, Ser. II, 15, 1-24.
- COST, 1978. Proposal for a coordination of research activities in the field of mariculture. Report from the secretariat to the Cost Senior Officials Committee, European Cooperation in the field of scientific and technical Research, COST/58/78, 13p.
- Csernok, E., 1977. *Chaetoceros simplex* var. *calcitrans* et *Platymonans impellucida* dans la nutrition des larves de moules. *Cercetari Marine*, I. R. C. M., 1, 169 - 174.
- Davis, H. C., 1953. On food and feeding of larvae of the American oyster *Crassostrea virginica*. *Biol. Bull.*, 34, 334-350.

- Davis, H.C., 1961. effects of some pesticides on eggs and larvae of oysters (*Crassostrea virginica*) and clams (*Venus mercenaria*). *Comm. Fish. Rev.* 23 : 8-23.
- Davis, H. C. et Guillard R.R., 1958.- Relative value of ten genera of microorganisms as food for oysters and clam larvae. *Fish. Bull. natn. mar. Fish. Serv., U.S.*, 58, 293-304.
- Dubois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers et F. Smith, 1956. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Anal. Chem.*, 28, 350-356.
- Dupuy, J. L., 1975. Some physical and nutritional factors which affect the growth and setting of the oyster, *Crassostrea virginica*, in the laboratory. *Physiological Ecology of Estuarine Organisms.*, Univ. South Carolina Press, Columbia, VIMS Contribution N° 532, 319 -331.
- Elston, R., 1980. Functional anatomy, histology and ultrastructure of the soft tissues of the larval American oyster, *Crassostrea virginica*. *Proc. natn. Shellfish. Ass.*, 70, 65-93.
- Epifanio, C. E., 1979_a. Comparison of yeast and algal diet for bivalve molluscs. *Aquaculture*, 16 : 187 - 192.
- Epifanio, C. E., 1979_b. Growth in bivalve molluscs : nutritional effects of two or more species of algae in diets fed to the American oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin) and the hard clam *Mercenaria mercenaria* L. *Aquaculture*, 18 : 1-12.
- Escande-Labrousche, F. , 1964. Etude statistique et systématique du phytoplancton du Bassin d'Arcachon. Thèse 3ème cycle, Univ. Bordeaux, 278p.
- Ewart, J.W. et Epifanio C.E., 1981. A tropical flagellate food for larval and juvenile oysters, *Crassostrea virginica* Gmelin. *Aquaculture*, 22, 297-300.
- Féral, C., 1982. Etude expérimentale des mécanismes assurant l'apparition, le maintien et le cycle d'un tractus génital mâle externe chez les femelles de *Nucella lapillus* L., *Nassarius reticulatus* L., *Ocenebra erinacea*, Mollusques

- néogastéropodes gonochoriques. Thèse de Doctorat és Sciences Naturelles, Université de Caen , France, 175p.
- Fritz, L.W., R.A. Lutz, M. A. Foote, C.L. Van Dover et J. W. Ewart, 1984. Selective feeding and grazing rates of oyster (*Crassostrea virginica*) larvae on natural phytoplankton assemblages. *Estuaries*, 7, 513-518.
- Fujita, T., 1929. On the early development of the common Japanese oyster. *Japan. J. Zool.*, 2(3), 353-358.
- Fujita, T., 1934. Note on the Japanese oyster larva. In *Proceedings of the Fifth Pacific Sciences Congress, Canada 1933*, 5, 4111-4117.
- Gallager, S. M. et R. Mann, 1981. Larval Bivalve condition index based on lipid content visualized with lipid specific stains . *Inter. Counc. for the Explor. of the Sea ICES C.M.* 1981/F: 20,, 1-10.
- Gallager, S.M., Mann, R. et Sasaki G.C., 1986. Lipid as an index of growth and viability in three species of bivalve larvae. *Aquaculture*, 56, 81-103.
- Gabbott, P.A., 1983. Development and seasonal metabolic activities in marine molluscs. In N. H. Verdonk, J. A. M. van den Biggelaar and A. Tompa (Ed), *The Mollusca, Vol.II. Environmental Biochemistry and Physiology*. Academic Press, New York, NY, 165-217.
- Galtsoff, P. S., 1964. The American oyster, *Crassostrea virginica* Gmelin. *Fish. Bull. natn. mar. Fish. Serv., U.S.*, 64, 480p.
- Gérard, A., 1978. Recherches sur la variabilité de diverses populations de *Ruditapes decussatus* et *Ruditapes philippinarum* (Veneridae, Bivalvia). Thèse 3ème cycle, 23 septembre 1978, Fac. Sci. Brest, 147p.
- Geller, S., 1979. Abrégé de statistiques. Masson Edit., Paris, 222p.
- Gendron, F., 1985 . Recherche sur la toxicité des peintures antisalissures à base d'organostanniques et de l'oxyde de

- tributylétain vis-à-vis de l'huitre *Crassostrea gigas*. Thèse de Doctorat ès Sciences, Université d'Aix - Marseille II, 138p.
- Gerdes, D., 1983. The Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. Part I. Feeding behaviour of larvae and adults. *Aquaculture*, 31, 195-219.
- Gibbs, P. E. et Bryan G. W., 1987. TBT paints and the demise of the dogwhelk, *Nucella lapillus*, Gastropoda. *Ocean's 87 Conference Proceedings Organotin Symposium 4*, 1482-1487, Halifax 28 september-1 october 1987. .
- Guillocheau, N., 1988. Répartition spatio-temporelle du phytoplancton du Bassin d'Arcachon. Thèse Doctorat Univ.d'Aix - Marseille II, 156p.
- Helm, M. M., 1969. The effect of diet on the culture of the larvae of the European flat oyster, *Ostrea edulis* L. *I. C. E. S. Fish. Improv. Comm.*, C. M. 1969/E : 14, 7p.
- Helm, M. M., 1977. Mixed algal feeding of *Ostrea edulis* larvae with *Isochrysis galbana* and *Tetraselmis suecica*. *J. mar. biol.Ass. U.K.*, 57, 1019-1029.
- Helm, M. M. et Millican P. F., 1977.- Experiments in the hatchery of Pacific oyster larvae (*Crassostrea gigas* Thunberg). *Aquaculture*, 11, 1-12.
- Helm, M. M. et Spencer B. E., 1972. The importance of the rate of aeration in hatchery cultures of the larvae of *Ostrea edulis* L. *J. Cons. int. Explor. Mer.*, 34,244-255.
- Hidu, H. et Ukeles R., 1962. Dried unicellular algae as food for larvae of the hard clam shell, *Mercenaria mercenaria*. *Proc. natn. Shellfish Ass.*, 53, 85 - 101.
- Hirano, R. et Oshima Y., 1963. On the rearing of larvae of marine animals with special reference to their food organisms. *Bull. japan. Soc. scient. Fish.*, 29, 282-292.
- His, E., 1973. La reproduction de *Crassostrea gigas* Thunberg dans le Bassin d'Arcachon: bilan de deux années d'observations. *C. I. E. M*, CM/K: 17, 9p.

- His, E., 1975. La détection des pontes dans le milieu naturel: application de l'ostréographie à l'étude de la reproduction des huîtres. *Haliotis*, 5, 206-213.
- His, E., 1976. Contribution à l'étude biologique de l'huître dans le Bassin d'Arcachon. Activité valvaire de *Crassostrea angulata* et de *Crassostrea gigas*; application à l'étude de la reproduction de l'huître japonaise. Thèse 3ème cycle Bordeaux I, 63p.
- His, E. et R. Robert, 1980. Action d'un sel organo-métallique, l'acétate de tributylétain sur les oeufs et les larves D de *Crassostrea gigas* (Thunberg). *CIEM CM/F*: 43, 10p.
- His, E., R. Robert et M.J. Chrétiennot-Dinet, 1985. Nouvelle méthode pour étudier la nutrition de jeunes larves de *Crassostrea gigas* (Thunberg) en milieu naturel. Premières données expérimentales. *C. r. Acad. Sc., Paris*, 300, Série III, 319-321.
- Holland, D.L., 1978. lipid reserves and energy metabolism in the larvae of benthic marine invertebrates. In P.L. Malins and J.R. Sargent Ed, *Biochemical and Biophysical Perspectives in Marine Biology*. Academic Presss, London and New York, 85-123.
- Holland, D. L. et Hannant P. J. , 1974. Biochemical changes during growth of the spat of the oyster *Ostrea edulis* L. *J. mar. biol. Ass. U.K.*, 54, 1007-1016.
- Holland, D. L. et Spencer B. E., 1973. Biochemical changes in fed and starved oysters, *Ostrea edulis* L. during larval development, metamorphosis and early spat growth. *J. mar. biol. Ass. U.K.*, 53, 287-298.
- Hollister, T. A. et Walsh G. E., 1973. Differential responses of marine phytoplankton to herbicides: oxygen evolution. *Bull. environ. Contamin. Toxicol.*, 9 (5) : 201-295.
- Horst, R., 1883. A contribution to our knowledge of the development of the oyster (*Ostrea edulis* L.). *Bull. U.S. Fish Comm.*, 2, 159-167.

- Imai, T., Sakai S. et H. Okada, 1953. Transplantation of European flat oyster, *Ostrea edulis*, into Japanese waters and its breeding in tanks. *Tohoku J. agric. Res.*, 4, 311-320.
- Imai, T., Sakai S., Okada H. et Yoshida T., 1954. Breeding of the Olympia oyster in tanks and culture experiments in Japanese waters. *Tohoku J. agric. Res.*, 5, 13-25.
- Labrid, C., 1969. L'ostréiculture et le Bassin d'Arcachon. Ferret et Fils Edit., Bordeaux, 215p.
- Laing, I., 1979. Recommended procedure for the culture of *Chae toceros calcitrans*. *Fish. Res. tech. Rept, Minist. Agric. Fish. Fd, Gt Br*, 53, 8-12.
- Laing, I. et P. F. Millican, 1986. Relative growth and growth efficiency of *Ostrea edulis* L. spat fed various algal diets. *Aquaculture*, 54, 345-263.
- Langdon, C. J. , 1983. Growth studies with bacteria-free oyster (*Crassostrea gigas*) larvae fed on semi-defined artificial diets. *Biol. Bull. mar. biol. Lab., Woods Hole*, 164, 227-235.
- Langdon, C. J. et M. J. Waldock, 1981. The effect of algal and artificial diets on the growth and fatty composition of *Crassostrea gigas* spat. *J. mar. biol. Ass. U.K.* , 61, 431-448.
- Latéoule, R., 1967. L'ostréiculture dans le bassin d'Arcachon: Diplôme d'Et. Sup. de Géographie, Bordeaux, 143p.
- Le Borgne, Y., Marin J; et G. Vergonzanne, 1978. Cultures et élevages de masse dans le contexte d'une éclosérie-nurserie de mollusques bivalves : les productions phytoplanctoniques et le grossissement des post-larves. *Actes Coll. CNEOX*, 7 105-154.
- Le Pennec, M., 1978. Genèse de la coquille larvaire et postlarvaire chez les Bivalves marins. Thèse Doctorat d'Etat, Université de Brest, 229p.
- Le Pennec, M., et S. Leroux, 1979. Effet d'un pétrole brut sur la formation de la coquille de *Mytilus edulis* (L.) (Mytilidae, Bivalvia). *Revue int. Océanogr. Méd.*, 55, 49-55.

- Leroux, S., 1975_a. Valeur comparée de diverses algues monocellulaires pour l'alimentation des larves de *Mytilus edulis* L. en élevages expérimentaux. Thèse 3ème cycle, Brest, 103p.
- Leroux, S., 1975_b. Influence de deux algues unicellulaires, *Skeletonema costatum* et *Cricosphaera* aff. *carterae* sur la croissance larvaire de *Mytilus edulis* L. en élevage expérimental. *C.R. Acad. Sc. Paris*, Sér. D., 280, 487-490.
- Leroux, S., Lucas A., Neuville D. et P. Daste, 1973. Influence de la Diatomée *Amphora perpusilla* (Grunow) sur le développement des larves de moules en élevage expérimental. *C. R. Acad. Sc. Paris*, Sér. D, 277, 2781- 2784.
- Loosanoff, V. L., 1945. Precocious gonad development in oysters induced in midwinter by high temperature. *Science*, 102: 124-125.
- Loosanoff, V. L. et Davis H. C., 1963. Rearing of bivalve mollusks. *Adv. mar. Biol.* 1, 1-136.
- Lough, R. G., 1975. A reevaluation of the combined effects of temperature and salinity on survival and growth of bivalve larvae using response-surface techniques. *Fish. Bull. U.S.*, 73, 86-94.
- Lowry, D. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr et R. J. Randall, 1951. Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265-276.
- Lubet, P. E. , 1955. Notes sur le phytoplancton du Bassin d'Arcachon. *Vie et milieu*, 6 (1), 53-58.
- Lucas, A., 1970. Conchyliculture expérimentale. *Publ. C.N. E.X. O. Série biologique*, n° 70, 74p.
- Lucas, A., 1980. Problèmes de génétique, d'écophysiologie et de pathologie dans les écloséries de bivalves. *Océanis*, 5, 1-23.
- Lucas, A., 1982. La nutrition des larves de bivalves. *Océanis* 8, 363-388.
- Lucas, A., Chebab-Chalabi L. et D. Aldana-Aranda, 1986a. Pas-

- sage de l'endotrophie à l'exotrophie chez les larves de *Mytilus edulis*. *Oceanologica Acta*, 9 (1), 97-103.
- Lucas, A., Chebab-Chalabi L. et P. Beninger, 1986b. Variation of relative organic matter in *Mytilus edulis* L. larvae and post larvae. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 95, 99-103.
- Lucas, A., et Rangel C., 1981. Vitesse d'ingestion et de digestion du phytoplancton observées au microscope à épifluorescence chez les larves de *Mytilus edulis* (L.) (Bivalvia, Mollusca). *Haliotis*, 11, 171-180.
- Lucas, A., et Rangel C., 1982. Detection of the first larval feeding in *Crassostrea gigas*, using epifluorescence microscope. *Aquaculture*, 30, 369-374.
- Mac Innes, J. R. et Calabrese A. , 1979. Combined effects of salinity, temperature and copper on embryos and early larvae of the American oyster, *Crassostrea virginica*. *Arch. environm. Contamin. Toxicol.*, 8, 553-562.
- Mackie, G., 1969. Quantitative studies of feeding in the oyster, *Crassostrea virginica*. *Proc. natn. Shellfish. Ass.*, 59, 6-7.
- Mann, R., 1988. Field studies of Bivalve larvae and their recruitment to the benthos : a commentary. *J. Shellfish. Res.*, 7 (1), 7-10.
- Martin, M., Osborn K. E., Billy P. et N. Glickstein, 1981. Toxicities of ten metals to *Crassostrea gigas* and *Mytilus edulis* embryos and *Cancer magister* larvae. *Marine Pollut. Bull.*, 12 (9), 305-308.
- Marsh, J. B. et D. B. Weinstein, 1986. Simple charring method for determination of lipid. *J. Lipid Res.*, 7, 574-576.
- Masson, M., 1975. Etude expérimentale de la croissance et de la nutrition des larves de *Mytilus galloprovincialis* Lmk (Mollusque Pélécypode). Thèse 3ème cycle, Caen 106p.
- Masson, M., 1977. Observations sur la nutrition des larves de *Mytilus galloprovincialis* avec des aliments inertes. *Marine Biol.* 40, 157-164.

- Medcof, J.C., 1961. Oyster farming in the Maritimes. *Bull. Fish Bd. Can.*, 131, 154p.
- Millar, R. H et J. M. Scott, 1967. The larvae of the oyster *Ostrea edulis* during starvation. *J. mar. biol. Ass. U.K.*, 47, 475 - 484.
- Millican, P. F. et M. M. Helm, 1973. Preliminary observations on the culture requirements of the larvae of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* Thunberg. *C.I.E.M. CM 1973/K: 33*, 1-10.
- Nascimento, I. A., 1980. Growth of the larvae of *Crassostrea gigas* (Thunberg) fed with different algal species. *J. Cons. int. Explor. Mer*, 39, 134-139.
- Nelson, D., Miller J., Pereira J. et A. Calabrese, 1983. Monitoring water quality at a dredge spoil dump site using oyster larvae. *C.I.E.M.*, C.M. 1983/E: 59, 8p.
- Newkirk, G. F. et Waugh D. L., 1980. Inhibitory effect of the alga *Pavlova lutheri* on growth of mussel *Mytilus edulis* larvae. *Fish. Bull. natn. mar. Fish. Serv., U.S.* 77, 715-717.
- Nie, Z. K. et F. M. Ji, 1980. Studies on food for *Mytilus edulis* larvae. *Mar. Fish. Res.*, 1, 85-96.
- Parson, T. R. , Stephens K. et Strickland J. D. H., 1961. On the chemical composition of eleven species of marine phytoplankters. *J. Fish. Res. Bd Can.*, 18, 1001-1016.
- Paulay, G., Boring L. et R. Stathmann, 1985. Food limited growth and development of larvae: experiments with natural sea water. *J. exp. mar. Biol. Ecol.*, 93: 1-10.
- Persoone, G. et C. Claus, 1980. Mass culture of algae: a bottleneck in the nursery culturing of molluscs. *In Algae Biomass*, Shelef G. et Soeder C. J., eds., Elsevier, 265-285.
- Prytherch, H. F., 1924. Experiments in the artificial propagation of Oysters. *Docum. U.S. Bur. Fish.* 961 : 1-14.
- Quayle D.B., 1969. Pacific oyster culture in British Columbia. *Bull. Fish. Res. Bd. Can.* 169 : 192p.
- Rees, C.B., 1950. The identification and classification of la-

- mellibranch larvae. *Hull Bul. mar. Ecol.*, 3, 73-104.
- Riisgard, H. U., Randlov A. et P. S. Kristensen, 1980. Rates of water processing, oxygen consumption and efficiency of particle retention in veligers and young post-metamorphic *Mytilus edulis*. *Ophelia*, 19, 37-47.
- Robert, R. et E. His, 1981. Action de l'acétate de tributylé-tain sur les oeufs et les larves D de deux mollusques d'intérêt commercial: *Crassostrea gigas* (Thunberg) et *Mytilus galloprovincialis* (Lmk). *CIEM, CM/F*: 42, 15p.
- Robert, R., His E. et A. Dinet, 1988. Combined effects of temperature and salinity on fed and starved larvae of the European flat oyster *Ostrea edulis*. *Mar. Biol.*, 97, 95-100.
- Roberts, M. H. Jr, 1987. Acute toxicity of tributyltin chloride to embryos and larvae of two molluscs, *Crassostrea virginica* and *Merceneria merceneria*. *Bull. environ. Contamin. Toxicol.*, 39, 1012-1019.
- Salaün, M., 1985. Influence du jeûne sur la croissance, la survie larvaire et la morphogénèse de la prodissoconque de *Pecten maximus*. D. E. A. d'Océanographie Biologique, Université de Bretagne Occidentale, Brest, 31p.
- Salaün, M., 1987. Influence des facteurs du milieu sur la nutrition des larves de bivalves en baie de Saint Brieuc. *Haliotis*, 16, 209-220.
- Seliger, H. H., Boggs J. A., Rivkin R. B., Biggley W.H., et K. R. H. Aspden, 1982. The transport of oyster larvae in an estuary. *Mar. Biol.*, 71, 57-72.
- Smith, B. S., 1981. Tributyltin compounds induce male characteristics on female mud snails *Nassarius obsoletus*: *Ilyanassa obsoleta*. *J. appl. Toxicol.*, 1(3): 141- 144.
- Stebbing, A.R.D., 1982. Hormesis- The stimulation of growth by low levels of inhibitors. *Science total Environment*, 22, 213-234.
- Stebbing, A. R. D. , Akesson B., Calabrese A., Gentile J .H. Jensen A. et R.Lloyd, 1980. The role of bioassays in marine

- pollution. Bioassay panel report. *Rapp. P. V. Réun. Cons. Int. Explor. Mer*, 179: 322 - 332.
- Sunderlin, J. B. , Baab P. T. et Patry E. M., 1976. Growth of clam and oyster larvae on different algal diets in a tropical artificial upwelling mariculture system. *Proc. 7th ann. Meet. W. Maricult. Soc.*, Baton Rouge, 215-228.
- Takeda, K., 1974. The food effects of three unicellular algae for larval oyster *Ostrea edulis* L. in the laboratory. *Mer*, Tokyo, 12, 59-65.
- Thain, J. E. , 1983. The acute toxicity of bis (tributyl) oxide to the adults and larvae of some marine invertebrates., *C. I. E. M.*, CM 1983/E: 13, 5p.
- Thompson, J.A.J., M.G. Sheffer, R.C. Pierce, Y.K. Chau, J.J. Cooney, W.R. Cullen et R.J. Maguire, 1985. Organotin compounds in the aquatic environment : scientific criteria for assessing their effects on environmental quality. *National Research Council, Canada. Associate Committee on Scientific Criteria for Environmental Quality*, N° 22494, 1-284.
- Thorson, G., 1950. Reproduction and larval ecology of marine bottom invertebrates. *Biol. Rev.*, 25, 1 -45.
- Ukeles, R., 1980. American experience in the mass culture of micro-algae for feeding larvae of the American oyster, *Crassostrea virginica*. In *Algae biomass, production and use* G. Shelef et C. J. Soeder Edit., Elsevier North-Holland Biomedical Press : 287 - 306.
- Ukeles, R. et Sweeney B. M., 1969. Influence of dinoflagellate trichocysts and other factors on the feeding of *Crassostrea virginica* larvae on *Monochrysis lutheri*. *Limnol. Oceanogr.* 14, 403 -410.
- Waldock, M. J. et Thain J. E., 1983. Shell thickening in *Crassostrea gigas*: organotin antifouling or sediment induced? *Mar. Pollut. Bull.* 14: 411 - 415.
- Walne, P. R. , 1956. Experimental rearing of the larvae of *Ostrea edulis* L. in the laboratory. *Fish. Invest.*, Londres,

- 20(9), 23p.
- Walne, P. R., 1963. Observations on the food value of seven species of algae to the larvae of *Ostrea edulis* L. Feeding experiments. *J. mar. biol. Ass. U.K.*, 43, 767-784.
- Walne, P. R., 1964. The culture of marine bivalve larvae. In *Physiology of Mollusca*, 1, Wilbur et Yonge édit., Academic Press, New York et Londres, 473p.
- Walne, P. R., 1965. Observations on the influence of food supply and temperature on the feeding and growth of the larvae of *Ostrea edulis* L. *Fish. Invest.*, Londres, 24, 1-45.
- Walne, P. R., 1966. Experiments in the large-scale culture of the larvae of *Ostrea edulis* L. *Fish. Invest.*, Londres, 25: 1-53.
- Walne, P. R., 1970. Studies on the food value of nineteen genera of algae to juvenile bivalves of the genera *Ostrea*, *Crassostrea*, *Mercenaria* and *Mytilus*. *Fish. Invest.*, Londres, 26, 1-62.
- Walne, P. R. et M. M. Helm, 1974. The routine culture of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* at Conway during 1973. *Shellfish Inf. Leafl.*, 32, Fish. Lab. Burnham, 10p.
- Webb, K. L. et Chu F. L. E., 1981. Phytoplankton as source for bivalve larvae. *Proc. 2nd int. Conf. Aquac. nutr. biochem. physiol. Approach Shellf. nutr. Spec. Publ. n° 2*, 272-291.
- Wells, W. F., 1927. Report of the experimental shellfish station. *N. Y. St Conserv. Dep. Rep N°16*, 1-22.
- Werner, B., 1939. über die Entwicklung und Artunterscheidung von Muschellarven des Nordseeplanktons, unter besonderer Berücksichtigung der Schalen-Entwicklung. *Zoologische Jb.*, 66(1), 1-54.
- Wikfors, G. H., Twarog, J. W. et R. Ukeles, 1984. Influence of chemical composition of algal food sources on growth of juvenile oysters, *Crassostrea virginica*, *Biol. Bull. mar. biol. Lab.*, Woods Hole, 167, 251-263.
- Woelke, C. E., 1967. Measurement of water quality with the Pa-

- cific oyster embryo bioassay. *Water Quality Criteria*, ASTM STP 416, Am.Soc. Testing Mats, 112-120.
- Woelke, C. E., 1972. Development of a receiving water quality criterion based on the 48 hours Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) embryo. *Washington Department of Fisheries, Technical Rep.*, 9 :1-93.
- Wong, P. T. S., Chau Y. K., Kramar O. et G. A. Bengert, 1982. Structure-toxicity relationship of tin compounds on algae. *Can. J. Fish. aquat. Sci.*, 39 , 483-488.
- Yonge, C. M., 1960. Oysters. Collins Edit., Londres., 209p.
- Zarogian C. E. et G. Morisson, 1981. Effect of cadmium body burdens in adult *Crassostrea virginica* on fecundity and viability of larvae. *Bull. environm. Contam. Toxicol.* 27: 344 -348.
-

