

OBSERVATIONS RELATIVES A UNE EXPERIENCE DE REPRODUCTION ARTIFICIELLE DES HUITRES DU PACIFIQUE (CRASSOSTREA GIGAS THUNBERG)

par Michel COMPS

La production de naissains d'huîtres réalisée artificiellement au Japon et aux Etats-Unis a inspiré certains ostréiculteurs français qui ont pensé, au moment même où des difficultés intervenaient dans l'approvisionnement en naissains de *Crassostrea gigas*, qu'il serait opportun d'expérimenter les techniques de nutrition des larves mises au point par les spécialistes japonais et américains.

C'est ainsi que dans le bassin de Marennes, M. JARNO Paul a mis en place à La Tremblade des installations destinées à la reproduction artificielle des huîtres. Les essais commencés en 1968 ont été repris en juillet 1969.

Il s'agissait dans un premier temps de se rendre compte des possibilités d'utilisation du matériel et des installations et d'examiner les conditions pratiques de nutrition des larves en vue de l'obtention de naissains fixés.

La présente note rend compte de quelques observations faites au cours des différentes manipulations.

1. Description sommaire des installations.

Le laboratoire a été construit au bord d'un chenal affluent de la Seudre. Le schéma annexé indique la nature et la disposition des éléments qu'il comporte (fig. 1). Les bacs et réserves d'eau sont en ciment, plastifiés à l'intérieur. Le chauffage des bains-marie est assuré par des brûleurs à propane.

2. Données générales.

De nombreuses recherches ont été entreprises afin d'établir des techniques en vue de l'élevage artificiel des larves de mollusques bivalves et en particulier des larves d'huîtres. Dès 1936, COLE se préoccupa de cette question et plus tard IMAI (1949) au Japon, puis LOOSANOFF et DAVIS (1963) aux Etats-Unis, apportèrent de nombreux éléments sur ce sujet. WALNE (1956) de son côté s'intéressa plus spécialement à l'élevage en laboratoire de larves d'*Ostrea edulis* L. Par ailleurs, LINDSAY et WOELKE (1960) étudièrent la reproduction artificielle des huîtres et des clams.

Les travaux de ces chercheurs ont permis de fixer des normes d'élevage et principalement en ce qui concerne la nourriture à fournir aux larves.

Dans son principe, la méthode est simple : 48 heures après la fécondation on commence la nutrition des larves avec des algues ou des flagellés marins (Chlorophyceae et Chrysophyceae essentiellement) ; avant chaque apport de nourriture, il est procédé au tamisage des larves qui après rinçage sont replacées dans l'eau de mer stérile.

En fait, de nombreux facteurs régissent la croissance des larves. Ainsi, comme l'ont montré LOOSANOFF et DAVIS (1963), peuvent intervenir les effets de la température, de la salinité, de la turbidité et surtout de la nourriture. Pour ce qui est de ce dernier facteur, il a été établi par DAVIS et GUIL-LARD (1958) que *Isochrysis galbana* PARKE et *Monochrysis lutheri* DROOP étaient des organismes susceptibles de constituer une des meilleures bases de nutrition pour les jeunes larves.

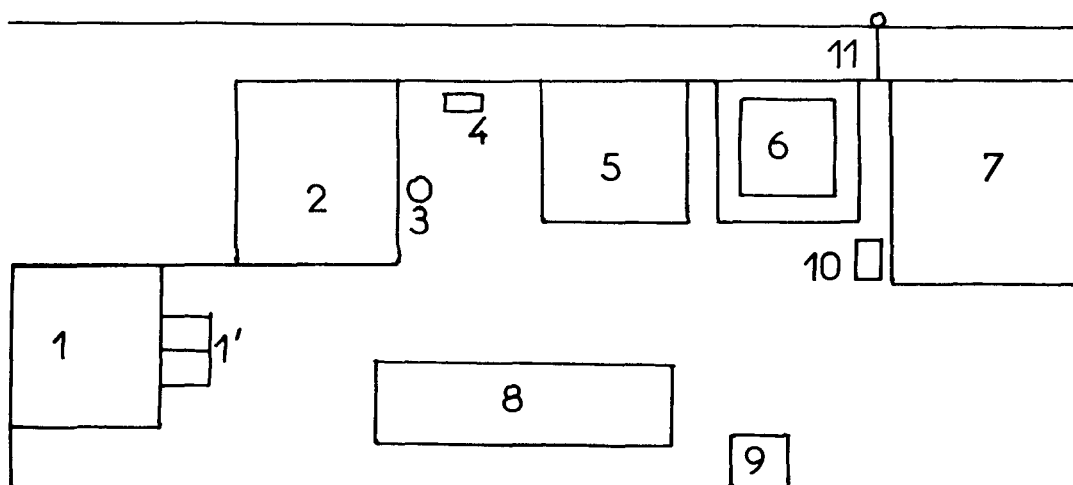


FIG. 1. — Plan d'ensemble des installations. 1 - Réserve d'eau de mer (10 m³), munie d'un réchauffeur et destinée à alimenter les bacs (1') utilisés pour la préparation des géniteurs ; 2 - Réserve d'eau de mer (8 m³) alimentant l'ensemble de l'installation ; 3 - Filtres à cartouche en orlon ; 4 - Stérilisateur à U. V. ; 5 - Réserve d'eau stérile (8 m³) ; 6 - Bac en matière plastique (4 m³) immergé dans un bain-marie, destiné à la fixation des larves sur collecteurs ; 7 - Bac d'acclimatation du naissain fixé (9 m³) ; 8 - Bain-marie recevant les bacs de fécondation ; 9 - Etuve ; 10 - Pompe d'alimentation de l'installation ; 11 - Prise d'eau dans le chenal de la Péride.

3. Déroulement de l'expérience.

1) Production de la nourriture.

La nourriture destinée aux larves a été limitée à un seul flagellé : *Isochrysis galbana*. La culture en a été assurée par repiquages successifs d'une souche originaire du laboratoire de biologie marine de Plymouth. Le milieu de culture utilisé était celui indiqué par LOOSANOFF et DAVIS (1963). A un litre d'eau de mer stérile on ajoute un millilitre de chacune des solutions suivantes :

Solution I.		Solution II.	
NaH ₂ PO ₄	20.000 g.	Na NO ₃	150 g.
Thiamine HCl	0,200 »	Na Fe EDTA	10 »
Biotine	0,001 »	Eau distillée	1 litre.
Vitamine B 12	0,001 »		
Pyridoxine HCl	0,100 »		
Pantothénate de calcium	0,200 »		
Eau distillée	1 litre.		

Le repiquage effectué, la culture est maintenue à 19 °C. Le flagellé se développe rapidement, la densité maximale étant atteinte dans un délai de 10 à 15 jours.

La valeur de la culture était connue par détermination du volume total de flagellés obtenu par centrifugation (1700 tours/mn pendant 15 mn) de 10 ml de culture. Le volume du culot de centrifugation a été exprimé en ml pcv./litre, en référence à la terminologie anglo-saxonne (« packed cells volume »).

On a également procédé à des numérations avec un hématimètre.

Ces deux méthodes ont permis par la suite de se référer, pour ce qui était des quantités de nourriture à apporter aux larves, aux normes indiquées par les chercheurs américains.

D'après LOOSANOFF et DAVIS (1963), une culture d'*Isochrysis galbana* atteint normalement une concentration de 0,5 ml pcv./litre. Dans les meilleures conditions, cette valeur a été obtenue mais le plus souvent, les cultures ne dépassèrent pas 0,4 ml pcv./litre.

Par ailleurs il est arrivé que le développement de certaines cultures se trouve brusquement arrêté à la suite d'une élévation excessive de la température ambiante, mais aussi que dans des conditions normales de température, des cultures évoluent très lentement. Pour ce dernier cas, le développement constaté d'une micro-flore bactérienne, pouvant en être la cause, a conduit à traiter les cultures avec des antibiotiques mais sans résultats probants.

Parallèlement, ont été réalisées des cultures sur eau de mer artificielle. Leur développement a été très lent et 16 jours après l'ensemencement, elles renfermaient moins de 0,1 ml pcv./litre.

2) Production des larves et nutrition.

Au cours de l'été 1968, quelques essais avaient été faits en vue de provoquer l'émission des produits génitaux. Les huîtres placées pendant 12 heures dans une enceinte à 7 °C étaient ensuite mises dans de l'eau de mer à 23 °C. Quinze minutes à une heure après, commençait l'émission des gamètes.

Ce procédé qui en réalité ne fait pas intervenir la préparation des géniteurs comme la décrivent LOOSANOFF et DAVIS (1963), correspond à faire subir aux huîtres un choc thermique déclenchant le phénomène de l'émission. On comprend donc qu'il n'est efficace que dans la mesure où les gonades des mollusques sont physiologiquement mûres.

Dès le début de juillet 1969, des essais comparables ont été mis en œuvre mais n'ont donné aucun résultat en raison du retard de la maturation des glandes génitales, vraisemblablement consécutif au niveau assez bas de la température des eaux au mois de juin (en moyenne, 18, 1° C en Seudre).

A défaut d'émission naturelle, les produits génitaux ont été prélevés directement dans les glandes génitales, en choisissant ceux présentant les caractères de maturité optimale. Les gamètes ainsi obtenus étaient déversés dans un bac d'eau de mer stérile (7 litres). Dans l'heure qui suivait, il était aisé de constater si la fécondation avait bien eu lieu.

Bien que peu orthodoxe, cette méthode a été suffisante pour produire les larves utilisées dans l'expérience décrite ci-après.

Douze heures après la fécondation, les jeunes larves ont été placées dans un bac de 40 litres d'eau de mer stérile, oxygéné par un aérateur comme le seront par la suite tous les récipients contenant des larves. Dans ces conditions s'est achevée la première phase de la métamorphose conduisant à des larves dont la taille ne dépassait pas 70 microns (stade A de la classification de LOOSANOFF, DAVIS et CHANLEY (1966).

Les larves ont été alimentées 48 heures après la fécondation alors qu'elles atteignaient le stade indiqué ci-dessus. Pour ce faire, le contenu du bac où elles se trouvaient a été passé sur trois tamis dont le maillage s'étagait comme suit : 175, 88 et 43 microns. Les deux premiers tamis, au départ n'avaient d'autre utilité que de retenir les plus gros déchets provenant des opérations précédentes. Après numération, les larves ont été réparties dans deux bacs de 7 litres, b_1 et b_2 , à raison de 15 000 larves/litre pour b_1 et 30 000 larves/litre pour b_2 .

Par la suite, toutes les 48 heures, les larves ont été tamisées et rincées abondamment à l'eau de mer stérile avant d'être replacées dans un bac d'eau de mer stérile (7 litres). A ce moment, il était procédé en outre à leur numération pour déterminer la quantité de nourriture à leur apporter.

Le tableau 1 précise les conditions réalisées pendant la phase de nutrition des larves.

Au cours des 10 premiers jours on a constaté une importante mortalité et notamment parmi les sujets n'ayant pas absorbé de nourriture.

Parallèlement, on a observé de grandes variations dans la croissance des sujets en évolution comme le témoignent les figures 2 et 3.

Date juil. 69	Culture Isoch. utilisée : densité en ml.pcv./litre	Nombre de larves/litre (milliers)		Quantité de culture apportée : pcv. : mm ³ × 10 ⁻³ /10 larves		Taille des plus grosses larves (microns)	Eau T° C
		b ₁	b ₂	b ₁	b ₂		
5	0,50	15	30	5	2,5	70	21
7	0,50	15	30	5	2,5		21
9	0,50	11	20	5	2,5	105	21
11	0,15	2,2	10	10	5		21,5
13	0,15	1,5	2	15	15		22
15	0,40	1	0,5	30	30	200	22
17	0,40	1	0,5	40	40	225	22
19	0,40	1	0,5	40	40	278	22

Tabl. 1. — Conditions réalisées pendant la phase de nutrition des larves.

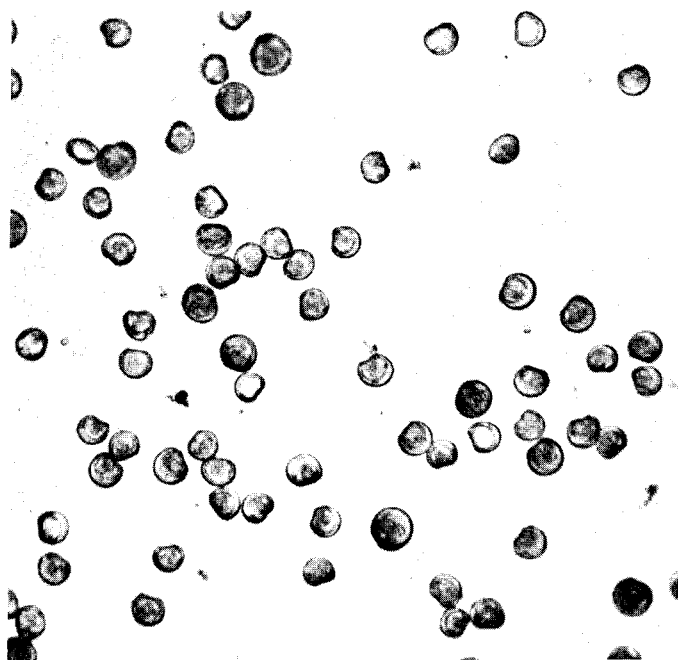


FIG. 2. — Larves de *Crassostrea gigas* âgées de 8 jours. A côté de quelques larves en évolution on en remarque de nombreuses restées à leur stade initial dont la plupart sont mortes. Fixation dans le formol. (G X 60).

Après cette première phase, les larves ont été tamisées et regroupées en deux lots :

— larves inférieures à 175 microns (bac b_a).

— larves supérieures à 175 microns (bac b_b).

Par la suite, chacun de ces deux lots a reçu la même dose de nourriture soit 40×10^{-3} mm³ pcv./10 larves, tous les jours du 21 au 31 juillet. La température de l'eau a été maintenue entre 22 °C et 23,5 °C.

Le 23 juillet, on notait un accroissement de taille des larves du bac b_n (320 microns pour quelques sujets) ; dans le bac b_n, on pouvait distinguer chez quelques larves la présence de taches oculaires : l'ensemble de ces larves a alors été placé dans un bac de 40 litres avec des collecteurs d'ardoise.

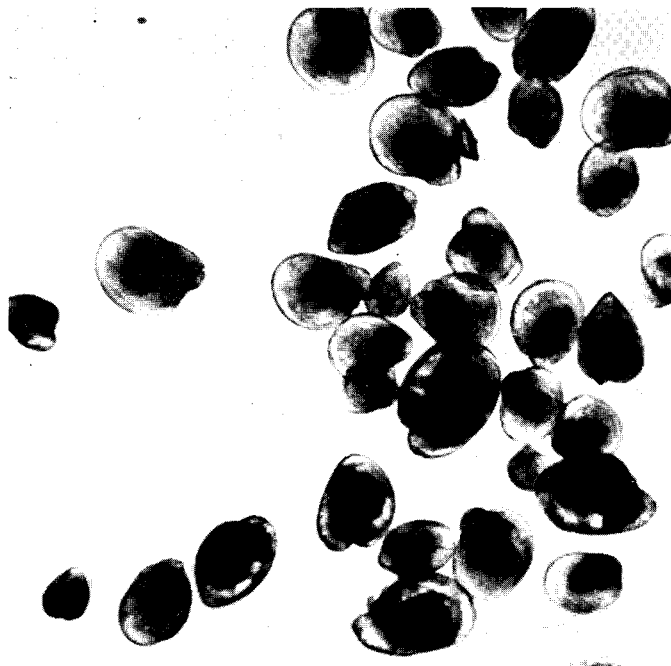


FIG. 3. — Larves de *Crassostrea gigas* âgées de 20 jours. Fixation dans le formol. (G X 60).

Le 26 juillet une faible mortalité affectait les sujets mis dans le bac de fixation et il a fallu attendre le 28 pour observer les premières fixations. Ce même jour, des ardoises ont été placées dans le bac b_n où certaines larves présentaient les taches oculaires et dès le 29, on dénombrait une cinquantaine de fixations.

Une partie des larves fixées a été conservée dans de l'eau de mer stérile avec apport journalier de nourriture et renouvellement d'eau, l'autre a été placée en eau de mer courante.

Un mois après la fixation, on comptait 20 naissains atteignant une taille variant entre 2 et 3 millimètres.

Conclusion.

On peut retenir de cette expérience plusieurs points.

1) Pour l'ensemble des larves issues d'une même fécondation, l'allure de la croissance présente une grande variabilité.

Une fraction importante de la population considérée reste au stade A (70 microns) et meurt après 4 ou 5 jours ; plus généralement, les sujets dont la taille n'avait pas évolué étaient tous morts 10 jours après la fécondation.

Par contre, les larves ayant évolué se répartissaient en plusieurs groupes dont le rythme de croissance était très différent.

- 2) La mortalité des larves évoluant est apparue comme assez faible.
- 3) La durée de la métamorphose paraît très variable puisque le stade larve avec tache oculaire a été atteint dans les meilleurs délais 20 jours après la fécondation alors que d'autres larves n'y sont parvenues qu'en 28 jours.
- 4) La comparaison de l'évolution des lots à 15 000 et 30 000 larves/litre semble montrer qu'il est inutile de partir d'une densité initiale élevée de sujets.
- 5) Le rendement définitif de l'expérience est négligeable.

Mis à part son faible rendement, cette expérience a confirmé en partie certains résultats déjà obtenus par différents chercheurs mais, les importantes variations observées dans la croissance des larves laissent penser que bien des points sont à revoir et notamment la réalisation de la fécondation.

En conséquence, la préparation des sujets géniteurs en vue de l'émission naturelle des gamètes semble devoir être l'objectif à atteindre en priorité avant de tenter de nouveaux essais de nutrition.

AUTEURS CONSULTÉS

- COLE (H.A.), 1936. — Experiments in the breeding of oysters (*Ostrea edulis*) in tanks, with special reference to the food of the larva and spat. — *Fish. Invest., Lond., ser. 2.* 15 : 1-28.
- DAVIS (H.C.) et GUILLARD (R.R.), 1958. — Relative value of ten genera of microorganisms as food for oyster and clam larvae. — *Fish. Bull. U.S.*, 58 (136) : 293-304.
- IMAI (T.) et HATANAKA (M.), 1949. — On the artificial propagation of japanese oyster, *Ostrea gigas* THUN., by non colored naked flagellates. — *Bull. Inst. agric. Res. Tohoku Univ.*, 1 : 33-46.
- LINDSAY (C.E.) et WOELKE (C.E.), 1959. — Production of clam and oyster seed. — *Washington St. Depart. Fish. Ann. rep.*, (69) : 100-105.
- LOOSANOFF (V.L.) et DAVIS (H.C.), 1963. — Rearing of bivalve mollusks. — *Advance in marine biology, Academic press, London, F.S. RUSSEL* Edit., 1 : 1-136.
- LOOSANOFF (V.L.), DAVIS (H.C.) et CHANLEY (P.E.), 1966. — Dimensions and shapes of larvae of some bivalve mollusks. — *Malacologia*, 4 (2) : 351-435.
- WALNE (P.R.), 1956. — Experimental rearing of the larvae of *Ostrea edulis* L. in the laboratory. — *Fish. Invest.*, 20 (9) : 23 p.
-