

5326



**Production artificielle de naissain  
de mollusques. *Ostrea edulis*, *Haliotis tuberculata***

par

J. P. FLASSCH, Y. KOIKE, M. L'HERROUX, C. AVELINE

INFORMES TECNICOS DEL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES  
CIENTIFICAS N.º 14. — Publicado en mayo de 1974

BARCELONA  
1974

# Production artificielle de naissain de mollusques. *Ostrea edulis*, *Haliotis tuberculata*

par

J. P. FLASSCH,\* Y. KOIKE,\* M. L'HERROUX,\* C. AVELINE \*

## INTRODUCTION

Ce problème pouvait être abordé de deux façons différentes; il était en effet possible soit de s'orienter vers les techniques japonaises (expérimentations en semi-intensif avec utilisation de grands volumes supérieurs au m<sup>3</sup>, procédés donnant des résultats immédiats mais à reproductivité incertaine, emploi d'une main-d'œuvre nombreuse et peu spécialisée), soit d'adopter pour le système clos à forte production contrôlée (mis en œuvre assez longue, investissement immédiat plus important, utilisation en série de petits volumes à forte concentration, nourriture naturelle produite artificiellement et donnée en quantité connue, main-d'œuvre peu abondante mais très spécialisée).

Pour une meilleure connaissance des problèmes et pour une adaptation future plus facile au contexte social et économique européens, compte tenu de la connaissance apportée dans ce domaine par les écoles anglo-saxonnes, nous avons opté pour la seconde solution.

Une unité ainsi conçue devait permettre d'obtenir du matériel vivant, sain, passant le cap de la métamorphose avec un rendement satisfaisant (supérieur à 30 %), afin d'ouvrir un champ expérimental sûr.

Dans cette mise en place, deux étapes étaient à franchir, l'une recouvrant les domaines de la technologie pure (problèmes d'arrivée d'eau de thermorégulation, de filtration, etc.) et de la biotechnique où la technologie et la technique sont directement dépendantes des espèces traitées (concentrateurs, forme de bacs, filtres, etc.), et l'autre, étant celle de la formation du manipulateur qui constitue l'engrenage déterminant le succès ou l'insuccès d'une telle entreprise.

\* Centre Océanologique de Bretagne. B.P. 337 29273 - BREST - FRANCE.

### PRÉSENTATION DE L'UNITÉ

Elle est conçue selon le modèle expérimental mis au point à la station de Conway (WALNE, 1966).

Elle est directement dépendante des cinq paramètres suivants: l'eau de mer courante, la teneur en particules, la température, la nourriture et l'état sanitaire de l'installation.

Les différents éléments de cette unité sont situés dans une enceinte à 22°. L'eau de mer, ayant subi au préalable un traitement de décantation, est courante, peut être thermorégulée dans la gamme 8-28°C et filtrée à 1 ou 0,45 micron. La source de nourriture est constituée par l'unité de production d'algues unicellulaires monospécifiques de taille variable (3 à 10 microns). Une source d'eau douce froide et chaude (80°C) permet, grâce au lavage intensif, de limiter au mieux les risques de pollution.

L'unité est organisée en quatre sections, correspondant, l'une à la maturation et à la ponte des géniteurs, l'autre au traitement des larves, et les deux dernières aux grossissements du naissain métamorphosé.

#### Section maturation

Elle est constituée par 8 bacs de 60 litres en polyéthylène de 58 × 39 × 26 cm.

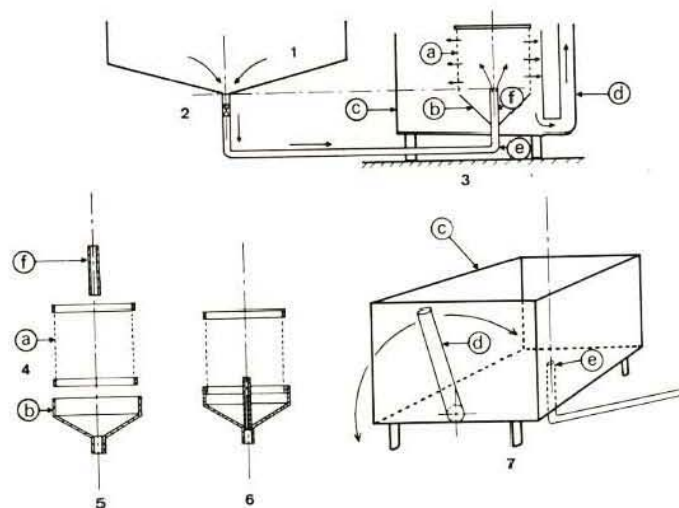


Fig. 6. — 1) Cuve à traiter; 2) Vanne; 3) Concentrateur; 4) Filtre au sens strict; 5) Les éléments de l'ensemble filtrant figurés séparément; 6) Les éléments figurés en place; 7) Dispositif figuré sans le filtre: le bac (c), l'arrivée d'eau (e) et la surversé réglable (d).

Les géniteurs sont stockés dans des paniers ajourés de  $48 \times 28 \times 8$  cm rehaussés de 4 pieds.

L'arrivée d'eau thermorégulée non filtrée s'effectue par le dessus du bac. La vidange est constituée par un «T» dissymétrique prenant par rotation toutes les positions du fond à la surface et assurant ainsi un niveau constant.

Ce système permet d'isoler les produits génitaux ou les larves nageant à la surface tout en fonctionnant en circuit ouvert.

### Section larves

Les larves peuvent être traitées dans six bacs en polyester ou en polyéthylène, tronconiques à fond plat, troués à leur périphérie afin de faciliter la vidange (75 cm de haut, diamètre supérieur 57, diamètre inférieur 52).

L'incubation s'effectue en eau stagnante plus ou moins aérée suivant l'exigence de l'espèce traitée.

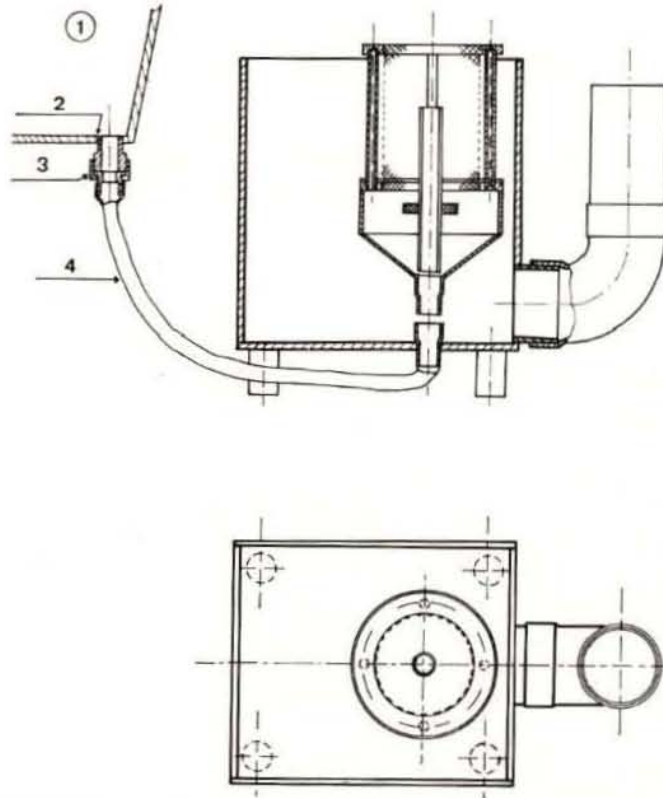


Fig. 7. — 1) Bac; 2) Pas d'aspérité; 3) Raccord d'union; 4) Tuyau souple.

L'eau de mer est dans ce cas filtrée à deux niveaux sur cartouches polypropylènes à 1 micron et sur filtre millipore à 0,45 micron.

### Section 1<sup>er</sup> grossissement

Le produit métamorphosé est ensuite cultivé dans des volumes de 450 litres (112 × 62 × 70 cm) fonctionnant en circuit fermé.

L'eau prise en fond de bac est redistribuée en surface, par une rampe percée de trous, dans des paniers contenant le naissain. Ces paniers sont faits en PVC moulé de 33 × 19 × 9,5 cm dont le fond est constitué par une toile plancton collée.

Chaque bac peut contenir 6 paniers de ce type.

Le recyclage de l'eau est effectué par une pompe Heim immergeable (type 490,8 l/min.).

### Section 2<sup>e</sup> grossissement

Elle est constituée par 6 bacs polyester de 200 × 50 × 25 cm pouvant contenir chacun 10 paniers de 44 × 20 × 10 cm de même type de fabrication que ceux décrits ci-dessus. Ces bacs sont alimentés en circuit ouvert.

## 3. UTILISATION DE L'UNITÉ

### Traitement de lamellibranche: *Ostrea edulis*

#### *Maturation des géniteurs*

Les géniteurs proviennent de la rade de Brest, prélevés sur des bancs naturels (Logona-Daoulas et Lanveoc-Poulmic) en janvier et février 1973, par 8°C.

Les adultes sont répartis par douze dans les bacs de 60 litres.

La température de l'eau est régulièrement montée à 20° en 12 jours.

La nourriture essentiellement constituée par *Tetraselmis suecica* peut être distribuée de deux façons: soit en continu, soit séquentiellement.

Dans le premier cas, la culture est injectée par gravité dans le circuit d'alimentation à partir d'un système de goutte à goutte. La quantité distribuée doit être alors supérieure à  $0,15 \times 10^6$  cellules par minute et par géniteur. Ce débit correspond à une concentration moyenne de 20 000 *Tetraselmis*/ml.

Dans le cas d'un apport séquentiel, la nourriture est donnée une fois par jour, consécutivement à l'arrêt de l'arrivée d'eau durant trois heures, à des concentrations beaucoup plus élevées:  $0,60 \times 10^6$  c/ml.

### *Ponte*

Chez cette espèce, la fécondation est intra valvaire et les larves sont relâchées dans le milieu à l'état de véligère à une taille moyenne variant selon l'origine des géniteurs de 150 à 200 microns.

Tous les «essaimages» eurent lieu en fin de matinée que l'apport de nourriture soit continu ou séquentiel. Mais le résultat est beaucoup plus spectaculaire dans le deuxième cas comme si un afflux de nourriture favorisait l'expulsion des larves.

### *Traitement des larves*

Les larves sont recueillies sur tamis de 125 microns, comptées et réparties à la concentration moyenne de 1000 larves/litre dans les bacs de 125 litres.

L'eau de mer filtrée à 1 puis 0,45 micron est additionnée des antibiotiques classiques: 50 mg de streptomycine sulfate et 50 000 Ui de pénicilline G par litre d'eau de mer

La nourriture apportée est de 50 000 *Isocrysis galbana*/ml dans tous les cas mais de 50 000 *Monochrysis lutheri*/ml si la taille moyenne larvaire est inférieure à 125 microns et de 5000 *Tetraselmis suecica* dans le cas contraire.

Les différents stades de traitement utilisés dans ce cas sont ceux préconisés par WALNE (1966) (périodicité des vidanges, traitements des larves, stimulation de la fixation par éclairage, détroquage précoce, etc.).

Toutefois, les larves au lieu d'être retenues à l'aide d'un manchon adapté à un siphon sont stockées grâce à un concentrateur (Fig. 6 et 7).

Cet appareil, d'une utilisation beaucoup plus sûre, permet non seulement un gain de temps mais aussi supprime le transvasement dans les récipients d'attente, opération délicate et traumatisante pour les larves.

La seule précaution à prendre est de traiter rapidement les véligères, car un séjour prolongé diminue considérablement le rendement de l'expérience.

Les larves sont collectées sur disques de PVC alimentaire noir de 1 mm d'épaisseur de la dimension du fond de bac, et qui est placé dans ce dernier au moment où le pourcentage d'yeux larvaires atteint les 30 %.

### *Résultats*

Ils portent sur deux expériences: la première permettant à la fois de tester le matériel engagé ainsi que la technicité du manipulateur, la seconde étudiant deux facteurs, le matériau et le traitement.

Le jour 0 de la première expérience correspond à la libération des premières larves, le 27-IV-73, deux mois et demi après la mise en maturation.

$8 \times 10^5$  larves sont traitées et réparties dans 5 bacs. La température moyenne est de  $22^\circ$ . Les premiers yeux apparaissent le jour 9. Les collecteurs sont posés le jour 11, les premières fixations sont observées le jour 12, les dernières le jour 16. Environ  $10^5$  larves se sont métamorphosées. Le naissain mesurant en moyenne 250 microns est passé au fur et à mesure de la métamorphose en phase de 1<sup>er</sup> grossissement alimenté en circuit fermé par une eau contenant  $10^4$  *T. suecica* au ml. Ce naissain est passé en deuxième phase de grossissement en circuit ouvert à  $22^\circ$  le jour 74 de l'expérience, et mesure en moyenne 6,1 mm le jour 100.

Dans la deuxième expérience, la différence de matériau portait sur 2 bacs, l'un en polyester alimentaire, l'autre en polyéthylène alimentaire blanc, et le traitement sur l'effet du nettoyage des larves à différentes doses d'hypochlorite du commerce à  $48^\circ$  chlore. Les concentrations utilisées étaient de 0,1-0,5-1 ml par 10 litres d'eau de mer. Les différents lots de larves restaient immergés 30 secondes dans le liquide de traitement.

Le protocole expérimental demeure identique et s'effectue tous les 2 jours: vidange par concentration, traitement à l'hypochlorite, rinçage sur tamis, etc.

Le jour 0 de l'expérience commence le 4-VI-73. La concentration en larves est de  $19 \times 10^4$  larves pour 125 litres. Les premiers yeux apparaissent le jour 8, les collecteurs sont posés le jour 12, la métamorphose est terminée le jour 18. La température moyenne est de  $22,5^\circ$ .

Le bilan total de larves métamorphosées est porté dans le tableau suivant:

Traitement ml d'hypochlorite/10l	Bacs polyester	Bacs polyéthylène	Total
0,1	21.730	31.060	52.790
0,5	19.490	11.260	30.750
1	2.840	10.280	13.120
Total	44.060	52.600	96.660

Le nombre de larves est estimé à partir de comptages effectués sur des échantillons prélevés à la pipette automatique.

La quantité de naissain est évaluée à partir du nombre d'huîtres contenues dans un calibre qui est constitué par un tube capillaire et dont la dimension est connue précisément.

La hauteur totale d'huîtres contenues dans un capillaire de même diamètre permet alors d'estimer le nombre de larves métamorphosées pour le lot considéré. Le naissain est tassé dans les capillaires à l'aide d'une pipette, et retenu par un filtre collé en bout de tube.

Le pourcentage de dégat dû au détroquage et aux manipulations de

comptage excède rarement les 5 % et n'a jamais dépassé les 10 % même dans les premières manipulations.

D'après ces résultats, qui semblent meilleurs pour la concentration la plus faible, 52 790 fixations contre 30 750 et 13 120, il paraît vraisemblable que les eaux de javel du commerce utilisées en Angleterre et en France aient à peu près la même action: 0,1 ml d'hypochlorite pour 10 litres d'eau de javel à 48° chlore en France correspondant à 3 ppm pour 10 litres dans le cas de l'eau de javel anglaise.

A première vue, les bacs polyéthylène semblent meilleurs puisque nous observons 52 600 fixations contre 44 060. Ce résultat est toutefois douteux car il faut préciser que le lot du bac polyester traité à 1 ml/10 l d'hypochlorite ne s'est pas développé de façon satisfaisante un grand nombre de larves ayant sédimenté accidentellement par insuffisance d'aération.

Afin de tirer des conclusions définitives, ce protocole expérimental doit être renouvelé. Toutefois ces deux facteurs s'ils ont une influence sur la métamorphose ne semblent pas avoir à première vue une action déterminante sur l'apparition des yeux dont le pourcentage varie.

L'accroissement de la taille moyenne des différents lots n'est fonction que du nombre de larves présentes dans le lot considéré.

En ce qui concerne l'évolution de la taille moyenne, prenons comme exemple le lot du bac polyester traité à 0,5 ml d'hypochlorite pour 10 litres: le jour 12, sa population larvaire atteignait 235 microns, le jour 34, 1120 microns, le jour 47, 1780 microns, le jour 61, 2690 microns, le jour 76, 4550 microns, le jour 90, 5455 microns.

L'accroissement moyen correspond donc pour ce lot à 5,2 mm en trois mois à partir du jour de l'apparition des larves, la nourriture depuis la métamorphose ayant été essentiellement constituée d'une seule espèce d'algue, *T. suecica*.

#### **Traitement de gastéropode: «*Haliotis tuberculata*»**

Bien que les exigences de cette espèce soient différentes de celle d'*O. edulis*, nous avons toujours utilisé au maximum le potentiel de l'unité, tant sur le plan matériel que technique (bac, filtre, incubation, etc.).

Pour la première fois chez cette espèce un grand nombre de larves métamorphosées a pu être obtenu au cours de deux expériences.

#### *Protocoles expérimentaux*

##### Traitement des collecteurs.

Le schéma expérimental choisi, inspiré des méthodes japonaises, est le suivant: des collecteurs transparents en PVC cristal pour toiture, «tôle ondulée» et «gréca», de taille variable, sont placés au préalable dans des



volumes, contenant de l'eau de mer non filtrée. L'éclairage peut être naturel ou artificiel. Afin de favoriser la fixation de diatomées, l'eau de mer est enrichie en milieu de Conway additionné de métasilicate (WALNE, 1966) dans le cas des volumes atteignant 2 m<sup>3</sup>, ou en nitrates, phosphates, et métasilicate pour les cubages supérieurs. (Pour 50 m<sup>3</sup>, le 1<sup>er</sup> jour 70 g de KNO<sub>3</sub>, 7 de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> et 15 de métasilicate, on double le 2<sup>e</sup> jour, et le 3<sup>e</sup> 70 g de KNO<sub>3</sub> et 7 de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.)

Suivant les conditions d'éclairage et de température, les collecteurs peuvent être considérés comme utilisables entre 10 et 15 jours après l'immersion.

#### Stockage des géniteurs, ponte, fécondation

Les produits génitaux ont été obtenus à partir d'Ormeaux matures (gonades gonflées, vert sombre pour les femelles, blanc nacré ou vert clair pour les mâles) prélevés en plongée dans la zone de Ste Anne du Portzic (Goulet de Brest).

Après brossage prolongé de leur coquille, les géniteurs sont disposés par 6 dans les paniers ajourés qui sont eux-mêmes placés dans les bacs de maturation. Les sexes sont séparés afin d'éviter la polyspermie au moment de la fécondation.

L'eau de mer, coulant à un débit moyen de 20 litres/h., est rapidement augmentée de 4°C par rapport à la température ambiante du lieu de pêche puis ramenée, avant la tombée de la nuit, et si besoin est, dans la gamme 20-22°C.

La ponte a, en général, lieu le jour de la capture à la tombée de la nuit et se déclenche souvent peu après l'éclairage des bacs.

Les mâles lâchant souvent leur semence plus rapidement il est possible d'induire la ponte par addition d'une faible quantité de sperme (environ 200 ml d'un bac de 60 litres colonisé par les spermatozoïdes d'un mâle).

D'après les premières observations, plus tôt la rencontre ovules-spermatozoïdes se fait, meilleur paraît-être le taux de fécondation.

Les œufs peuvent être, soit laissés dans les bacs de ponte, soit mis en incubation dans les récipients tronconiques de 125 litres destinés aux traitements larvaires.

Dans le cas des bacs à fond plat, où le volume est stagnant non aéré, les œufs se déposent très rapidement sur le fond. Pour que le taux d'éclosion de larves normales soit élevé, le fond du bac ne doit être recouvert que d'une seule couche d'œufs, l'excédent pouvant être prélevé par aspiration.

Si l'incubation a lieu dans les bacs de 125 litres, une aération inférieure à 100 l/h est nécessaire.

L'éclosion, directement dépendante de la température, a lieu à 20-22°C entre la 14 et la 20<sup>e</sup> heure après la fécondation.

### Traitement des larves

Chez cette espèce, la vie larvaire est très brève. Il n'est pas nécessaire de nourrir la véligère, nageant en surface, jusqu'à l'apparition des yeux qui a lieu vers la 35<sup>e</sup> heure.

Deux types d'incubateurs ont été utilisés. L'un est constitué par un bac de maturation de 58 × 39 × 26 cm, et fonctionne en eau stagnante sans aération, l'autre par un bac tronconique en polyester. La culture doit dans ce cas être aérée.

Les larves sont récupérées à la surface à l'aide d'un filtre au maillage approprié ou d'un siphon pour les cultures non aérées ou par passage dans un concentrateur couplé au second type d'incubateur.

Dès l'apparition des yeux, les larves (de 250 microns à 36 heures) sont réparties dans des volumes stagnants, légèrement brassés par une faible aération.

L'eau de mer est toujours filtrée à un micron et additionnée d'antibiotiques.

Lorsque les larves ont colonisées uniformément le volume, les collecteurs sont mis en place, régulièrement espacés tous les 5 cm.

A 20-22°C, la métamorphose a lieu dans les 72 heures.

Les cultures restent stagnantes, légèrement aérées jusqu'à ce que les jeunes ormeaux métamorphosés adhèrent solidement au support (entre 5 et 8 jours après la pose des collecteurs). Cette phase critique dépassée, la culture est doucement mise en circuit ouvert sans variation de température.

### Résultats

Au total, 28 m<sup>2</sup> de collecteurs ont été immergés (96 de 40 × 25 cm et 68 de 60 × 45).

Le nombre de jeunes ormeaux vivants le 15-9-73 est estimé à 30 000; leur taille varie entre 1 et 3 mm.

Ces résultats ont été obtenus à partir de 4 variantes dans le traitement des collecteurs.

Dans les premiers cas, les plaques sont colonisées à l'extérieur en lumière naturelle.

Si les collecteurs, au moment de leur utilisation, sont rentrés à l'intérieur, même s'ils sont éclairés artificiellement, la plupart des algues vertes périssent; des toxines sont libérées et l'expérience se solde alors par un échec: Toutes les larves meurent dès leur métamorphose.

Mais si les collecteurs sont utilisés à l'extérieur, la métamorphose et la survie s'effectuent d'une façon satisfaisante. Pour cela, une condition doit être remplie: il faut que les collecteurs, au moment de leur passage

dans les bacs larvaires, soient soigneusement lavés par un léger courant d'eau, de façon à éliminer au maximum les algues mortes et les gros ciliés.

Les collecteurs au lieu d'être colonisés à l'extérieur peuvent l'être à l'intérieur en lumière artificielle (environ 3000 lux). Dans ce cas la population d'algues vertes est réduite. Mais la métamorphose s'effectue tout à fait normalement, les collecteurs doivent néanmoins être au préalable nettoyés.

Un dernier cas a été envisagé: celui de l'utilisation des collecteurs vierges, seulement colonisés la veille de la pose par une fine couche de *T. suecica*. Le milieu d'élevage est constitué par une eau filtrée additionnée d'antibiotiques et de métrasilicate. Dans ce cas les collecteurs ne sont pas nettoyés avant la pose.

Les jours suivants, de faibles doses de *T. suecica* sont rajoutées.

La culture est mise en circuit ouvert dans les 8 jours, et les diatomées s'installent progressivement.

Ce type de traitement semble être très satisfaisant. Non seulement on remarque que la métamorphose se fait parfaitement mais aussi que la croissance semble meilleure que dans les autres cas pour des conditions identiques de température et d'éclairage.

Ces différentes manipulations ont ainsi permis de vérifier que la production artificielle de naissain était aussi très possible chez cette espèce.