

Direction de l'Environnement et de l'Aménagement Littoral  
Laboratoire d'Arcachon

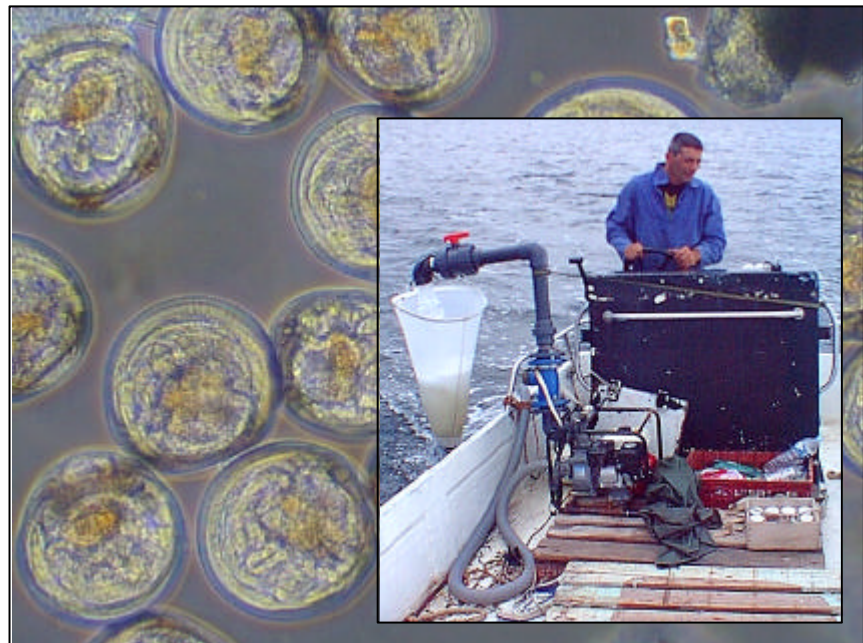
*Isabelle AUBY*  
*Danièle MAURER*  
*Marie-Laure VALVASON*  
*Cathy GUEGUEN*  
*Fabien GUILLARD*

*et le soutien technique de Pascal LEBLEU – LOB Arcachon*

RST.DEL/02.01/ARCACHON

**ifremer**

# Mise au point d'une nouvelle méthode de suivi de la reproduction de l'huître creuse Comparaison avec la méthode traditionnelle



Janvier 2002

Mise au point d'une nouvelle  
méthode de suivi de la reproduction  
de l'huître creuse  
Comparaison avec la méthode  
traditionnelle

## SOMMAIRE

<b><u>INTRODUCTION</u></b> .....	<b>4</b>
<b><u>1. QUELQUES DONNEES RELATIVES A LA REPRODUCTION DE L'HUITRE DANS LE BASSIN D'ARCACHON</u></b> .....	<b>5</b>
<b><u>2. DESCRIPTION DES DEUX METHODES UTILISEES</u></b> .....	<b>9</b>
<b>2.1. LA METHODE TRADITIONNELLE</b> .....	<b>9</b>
2.1.1. STRATEGIE D'ECHANTILLONNAGE .....	9
2.1.2. TECHNIQUE DE PRELEVEMENT.....	11
2.1.3. TECHNIQUE DE COMPTAGE .....	13
<b>2.2. LA NOUVELLE METHODE</b> .....	<b>16</b>
2.2.1. STRATEGIE D'ECHANTILLONNAGE .....	16
2.2.2. TECHNIQUE DE PRELEVEMENT.....	16
2.2.3. TECHNIQUE DE COMPTAGE .....	19
<b><u>3. COMPARAISON DES RESULTATS OBTENUS AVEC LES DEUX METHODES</u></b> .....	<b>24</b>
<b>3.1. PRESENCE – ABSENCE DES DIFFERENTS STADES LARVAIRES DANS LES ECHANTILLONS OBTENUS AVEC LES DEUX METHODES</b> .....	<b>24</b>
<b>3.2. COMPARAISON DES ABONDANCES DES DIFFERENTS STADES LARVAIRES DANS LES ECHANTILLONS OBTENUS AVEC LES DEUX METHODES</b> .....	<b>32</b>
<b><u>4. CONCLUSION</u></b> .....	<b>36</b>
<b><u>BIBLIOGRAPHIE</u></b> .....	<b>38</b>

Les auteurs remercient les référés de ce manuscrit (Pascale Malestroit et Roger Kantin, DEL/LT, Benoît Beliaeff, DEL/AO, Benoît Sautour, LOB Arcachon) pour leur lecture attentive et leurs corrections judicieuses.

## Introduction

Le suivi de la reproduction des huîtres creuses est assuré depuis de nombreuses années par les laboratoires conchylicoles de la côte atlantique française. Dans le Bassin d'Arcachon, la collecte et le comptage des larves d'huîtres ont débuté en 1927.

En 75 ans, la méthodologie utilisée pour ces dénombrements a peu évolué. En effet, la méthode décrite par Boury (Borde, 1929) n'a fait l'objet que d'une révision, opérée par Le Dantec en 1959 (Le Dantec, 1968).

Il est avéré que l'utilisation de cette technique permet de répondre aux principales questions que se posent les ostréiculteurs au sujet de la mise en oeuvre du captage des naissains d'huître creuse.

En effet, les résultats obtenus permettent :

- de mettre en évidence les pontes et de juger de leur importance,
- de déterminer à quelle vitesse les larves se développent dans le milieu,
- de déterminer à quelle période les stades les plus évolués (proches de la fixation) sont présents dans la population larvaire et d'apprécier leur abondance.

Néanmoins, cette méthode pose des problèmes d'estimation quantitative. D'une part, le volume échantillonné n'est pas déterminé précisément. D'autre part, on suspecte que la technique de prélèvement conduise à surestimer l'abondance de certains stades larvaires par rapport à d'autres.

Cette difficulté de quantification rend délicates les comparaisons de dénombrements entre années et entre sites géographiques. En outre, elle rend impossible les calculs de survie entre les différents stades d'une cohorte.

L'étude entreprise au cours de l'été 2000 visait à expérimenter une autre technique de prélèvement et de dénombrement des larves, permettant d'obtenir des résultats quantitatifs. Les valeurs ainsi obtenues ont été comparées avec celles de la méthode traditionnelle utilisée par le laboratoire DEL/Arcachon, afin de ne pas perdre le bénéfice de la somme d'informations recueillies au cours des années antérieures.

## 1. Quelques données relatives à la reproduction de l'huître dans le Bassin d'Arcachon

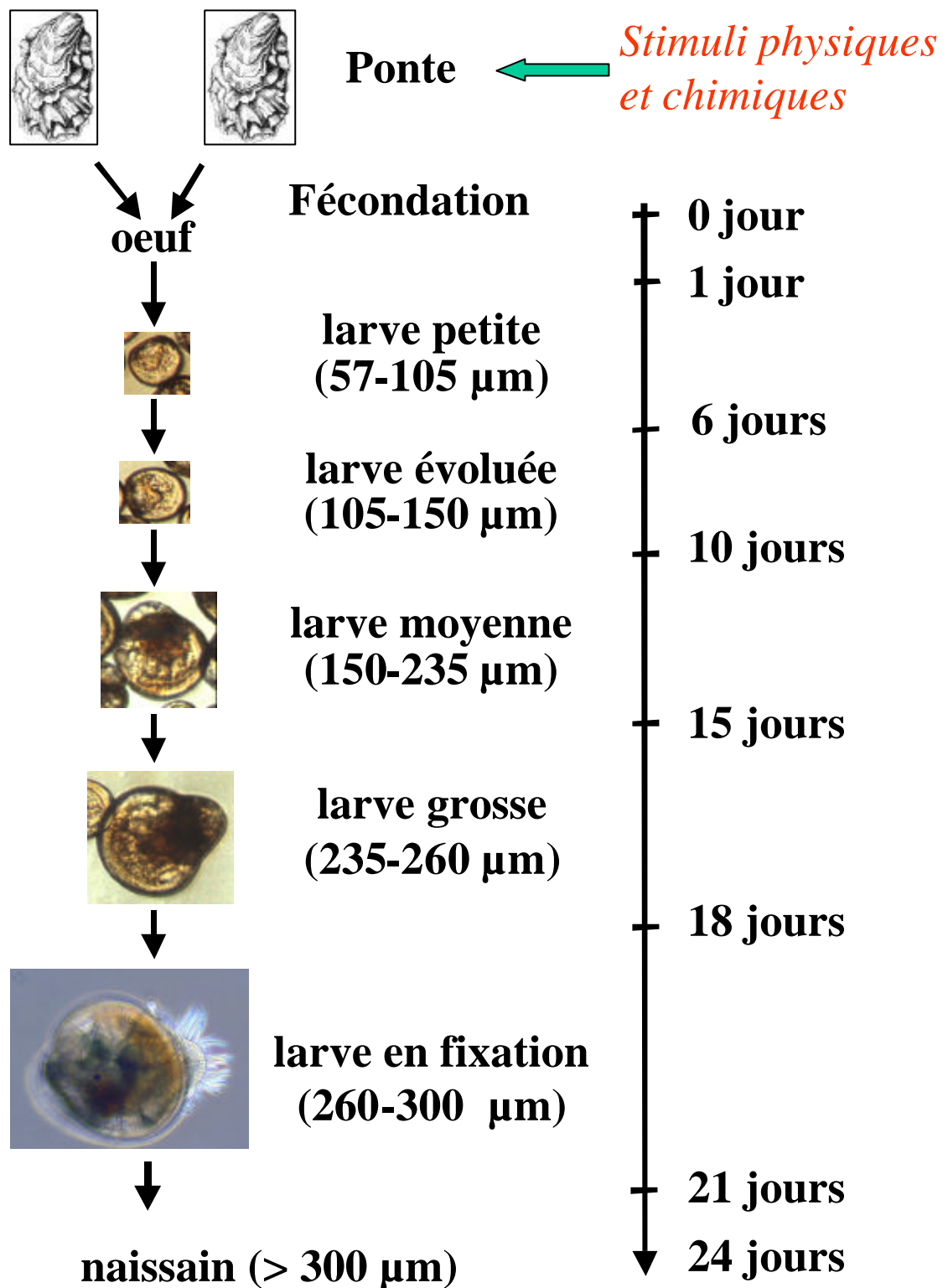
Depuis les années 1980, le Bassin d'Arcachon est devenu le premier centre de reproduction d'huîtres creuses (*Crassostrea gigas*) en France. Les éleveurs bretons, normands et méditerranéens s'approvisionnent majoritairement en naissain d'origine arcachonnaise. On estime aujourd'hui que 60 à 70 % des huîtres creuses commercialisées en France sont natives du Bassin d'Arcachon. La commercialisation du naissain constitue une part significative de la ressource des professionnels arcachonnais. Une enquête récente menée par les services des Affaires Maritimes d'Arcachon montre qu'une quarantaine d'entreprises ostréicoles du Bassin vit essentiellement du commerce du naissain. Sur l'ensemble de la profession, le chiffre d'affaires représenté par cette activité serait, ces dernières années, proche de 25 % du chiffre total de l'ostréiculture.

### *Pontes*

La saison de reproduction dans le Bassin d'Arcachon s'étend de début juin à mi-septembre (His, 1975). La date de déclenchement des premières pontes est liée à la température de l'eau (Manaud *et al.*, 1997). Toutefois, les émissions les plus importantes se produisent avant la fin du mois de juillet.

Par ailleurs, les populations d'huîtres situées dans la partie orientale de la Baie pondent plus précocement que les populations situées à l'entrée du Bassin.

Suivant les années, les pontes peuvent être massives ou diffuses, selon que les différentes populations fraient ensemble ou les unes après les autres et que les individus se vident complètement ou non de leurs produits sexuels (frai total ou partiel). Par ailleurs, au cours d'une même saison de reproduction, un individu peut pondre de 4 à 9 fois (His, 1991), l'huître reconstituant des produits sexuels entre les différents frais.



**Figure 1** : Nomenclature employée par les biologistes conchylicoles pour décrire le développement larvaire de l'huître creuse *Crassostrea gigas*.

### *Développement larvaire*

Dans les 24 heures qui suivent la fécondation (pour une température comprise entre 22 et 24°C), la larve d'huître, ou **véligère**, est formée, après un rapide passage par le stade trochophore. Sa hauteur est alors d'environ 60 µm. Elle a alors la forme d'un D majuscule d'où son appellation de **larve D**. Elle présente une coquille avec deux valves reliées par une charnière ainsi qu'un velum, sorte de voile cilié qu'elle déploie hors de sa coquille lorsqu'elle nage et qui lui sert à capter sa nourriture. Dès ce stade, les principaux organes larvaires sont en place (Lucas, 1982). L'appareil digestif, notamment, est fonctionnel et n'évoluera pas jusqu'à la fin de la vie pélagique.

La **durée de la vie pélagique** de la larve d'huître est fonction de la température et de la quantité de nourriture disponible. Dans le Bassin d'Arcachon, elle est le plus souvent d'environ **vingt et un jours**. Certaines années exceptionnelles, elle peut ne durer que 15 jours (His, 1991). Au cours de sa vie pélagique, la larve grandit et subit des transformations.

Les jours suivant la formation de la larve D, la coquille s'arrondit. Les biologistes conchylicoles désignent les larves à ce stade sous le nom de "**petites**" (Figure 1).

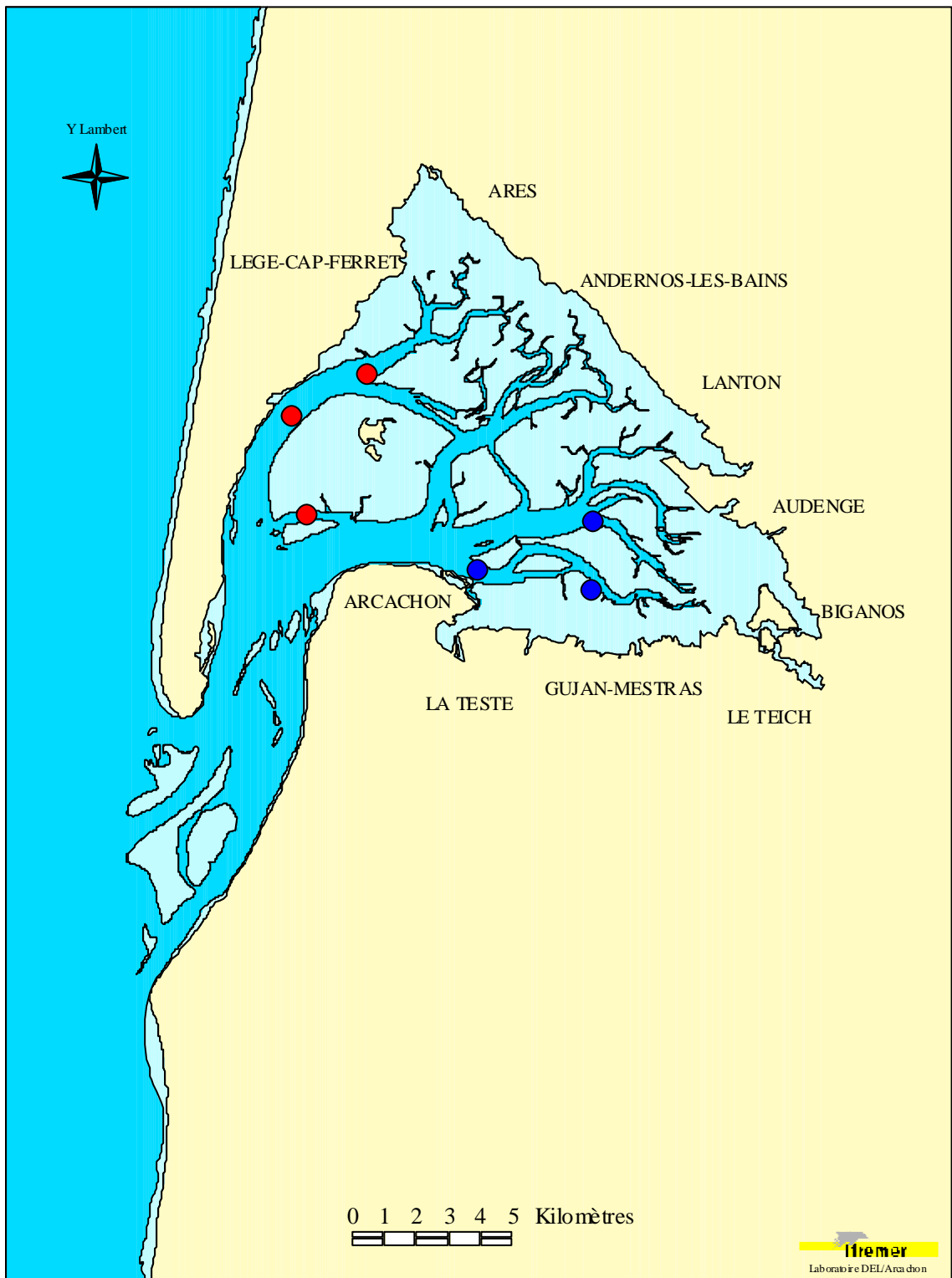
Vers le sixième jour, un crochet, ou umbo, se forme sur la charnière de la coquille. Il est bien visible lorsque la larve, dite alors **umbonée**, dépasse la hauteur de 105 µm. Selon sa taille, les biologistes conchylicoles la dénomment "**évoluée**" (105-150 µm), "**moyenne**" (150-235 µm) et "**grosse**" (235-260 µm).

Lorsque la hauteur de la larve dépasse 260 µm, une tache oculaire, improprement appelée œil et jouant un rôle sensoriel, apparaît au niveau de la première ébauche branchiale ; la larve est alors dite **œillée**.

A partir de ce stade, les biologistes conchylicoles la désignent comme "**en fixation**".

Le dernier stade de la vie pélagique est atteint lorsque la larve approche et dépasse la hauteur de 300 µm : c'est la **pédivéligère**. Le velum est toujours actif, permettant à la larve de nager, mais un pied s'est aussi formé. Il permettra à la post-larve de ramper sur le support, de le choisir (rôle sensitif) et de sécréter le ciment assurant la fixation (rôle glandulaire). Après la fixation, la larve subit une métamorphose. Le velum disparaît, les palpes labiaux se forment et les branchies se développent. On définit ce stade post-larvaire comme **plantigrade**. Lorsque la post-larve est fixée, son pied régresse rapidement.





**Figure 2 :** Localisation des stations de pêche de larves d'huîtres dans le Bassin d'Arcachon (bleu : secteur est ; rouge : secteur ouest).

## 2. Description des deux méthodes utilisées

Les paragraphes suivants contiennent la description des deux méthodes utilisées par le laboratoire DEL/Arcachon pour dénombrer les larves : la "méthode traditionnelle", dans laquelle les larves sont capturées au filet, et la "nouvelle méthode" où elles sont prélevées à la pompe. Les techniques de dénombrement diffèrent également entre les deux méthodes.

### 2.1. La méthode traditionnelle

#### 2.1.1. Stratégie d'échantillonnage

L'échantillonnage doit permettre de caractériser le déroulement de la saison de reproduction, dans les différents secteurs du Bassin.

La localisation des stations de prélèvement a été déterminée de façon à prospecter les différentes masses d'eau qui peuvent contenir des larves. Ces stations sont au nombre de six, séparées en deux secteurs : Arès, Piquey et Courbey (réunis sous l'appellation de secteur ouest) et Comprian, Gujan, Arams (secteur est) (Figure 2).

Dès la détection des premières larves au stade "petites" et pendant toute la période de reproduction (fin juin à mi août et parfois fin août) chaque secteur est échantillonné 2 fois par semaine. Les pêches ont généralement lieu du lundi au jeudi de chaque semaine.

#### ☺ Avantages

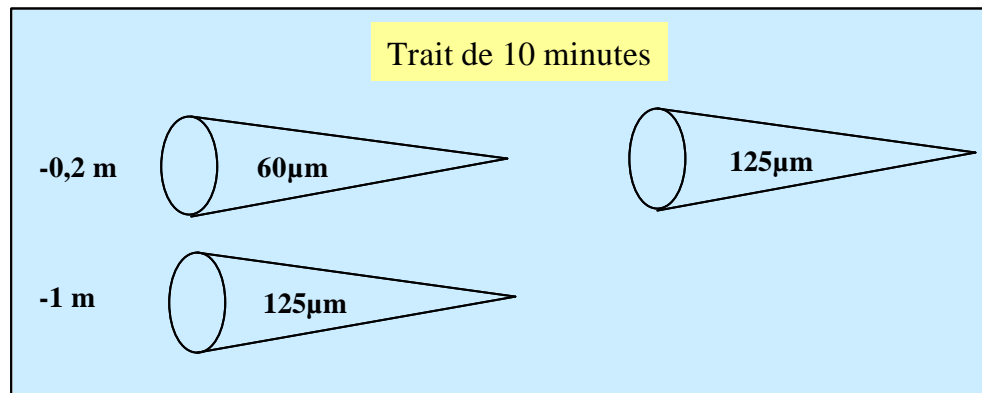
➤ Le nombre relativement élevé de stations de prélèvement et leur répartition étendue sur l'ensemble du Bassin permet d'échantillonner de manière assez représentative les masses d'eau dans lesquelles évoluent les larves.

#### ☹ Inconvénients

➤ D'une semaine de pêche à l'autre, l'intervalle entre deux prélèvements dans un secteur donné est de 5 jours. L'abondance des larves au stade "petites" résultant d'une ponte dépend du temps écoulé entre le frai et le prélèvement. En effet, si la pêche est réalisée dans les 24 heures suivant la ponte dans la zone où les géniteurs ont émis, les larves au stade "petites" présentent une abondance maximale, due au fait qu'elles ne sont pas encore trop dispersées par l'hydrodynamisme, et que la prédation n'en a pas encore trop diminué le nombre. Plus ce décalage augmente, moins ces larves au stade "petites" sont abondantes dans le prélèvement. Pour cette raison, il est difficile de comparer l'intensité des différentes pontes au cours d'une saison ou d'une année à l'autre. Les pics de larves au stade "petites" ne doivent être considérés que comme l'indication qu'une ponte importante a eu lieu dans les quelques jours ayant précédé la pêche.

## La méthode traditionnelle : échantillonnage

Pêche au filet



Relevage du filet pêchant à -1 m



Récupération de l'échantillon et fixation



Figure 3 : Technique traditionnelle de prélèvement

➤ Pour la même raison, il est délicat d'interpréter, d'un point de vue quantitatif, l'évolution des cohortes entre deux semaines consécutives.

## ☹ Conclusion

Bien que cette stratégie d'échantillonnage ne soit pas entièrement satisfaisante sur le plan du pas de temps entre deux pêches successives, il est difficile d'envisager que l'on puisse l'améliorer. Cela nécessiterait en effet de faire travailler les agents chargés des prélèvements et des numérations larvaires pendant les week-ends, ce qui n'est pas envisageable sur une période aussi longue (2 mois).

### 2.1.2. Technique de prélèvement

☞ La collecte des larves d'huîtres s'effectue à l'aide de filets coniques en soie à bluter, montés sur un cercle métallique de 14 cm d'ouverture (Figure 3).

Deux types de filets sont utilisés : l'un d'une maille de 60  $\mu\text{m}$  permettant de capturer les jeunes larves, l'autre d'une maille de 125  $\mu\text{m}$  mieux adaptée à la rétention des stades ultérieurs de développement.

☞ Deux profondeurs sont échantillonnées simultanément avec les filets 125  $\mu\text{m}$  : -0,2 m et -1 m, tandis que le filet 60  $\mu\text{m}$  n'est tracté qu'à -0,2 m.

Le filet de 60  $\mu\text{m}$  est destiné à capturer les jeunes larves, qui seraient, selon le Dantec (1968), localisées principalement en surface.

Les filets de 125  $\mu\text{m}$  (celui pêchant à -1 m étant installé sur un support vertical lesté), permettent de recueillir les larves plus âgées.

☞ Les filets sont traînés à l'arrière d'une embarcation dont la vitesse est réglée en fonction du courant pour que le câble qui remorque les filets soit légèrement tendu. Les pêches sont réalisées entre 2 et 4 h de flot. La durée du trait est de 10 minutes. Dans ces conditions, selon Escande-Labrouche (1964), on filtre approximativement 1  $\text{m}^3$  d'eau de mer. Au bout de ce laps de temps, le culot des filets est recueilli dans un pilulier contenant environ 50  $\text{cm}^3$  d'eau de mer auquel on ajoute quelques gouttes de formol neutralisé.

## ☺ Avantages

➤ Cette méthode présente l'avantage d'échantillonner une surface et un volume suffisamment importants pour augmenter les chances de capturer les larves qui ne sont pas obligatoirement distribuées régulièrement dans les masses d'eau prospectées.

La méthode traditionnelle : technique de comptage

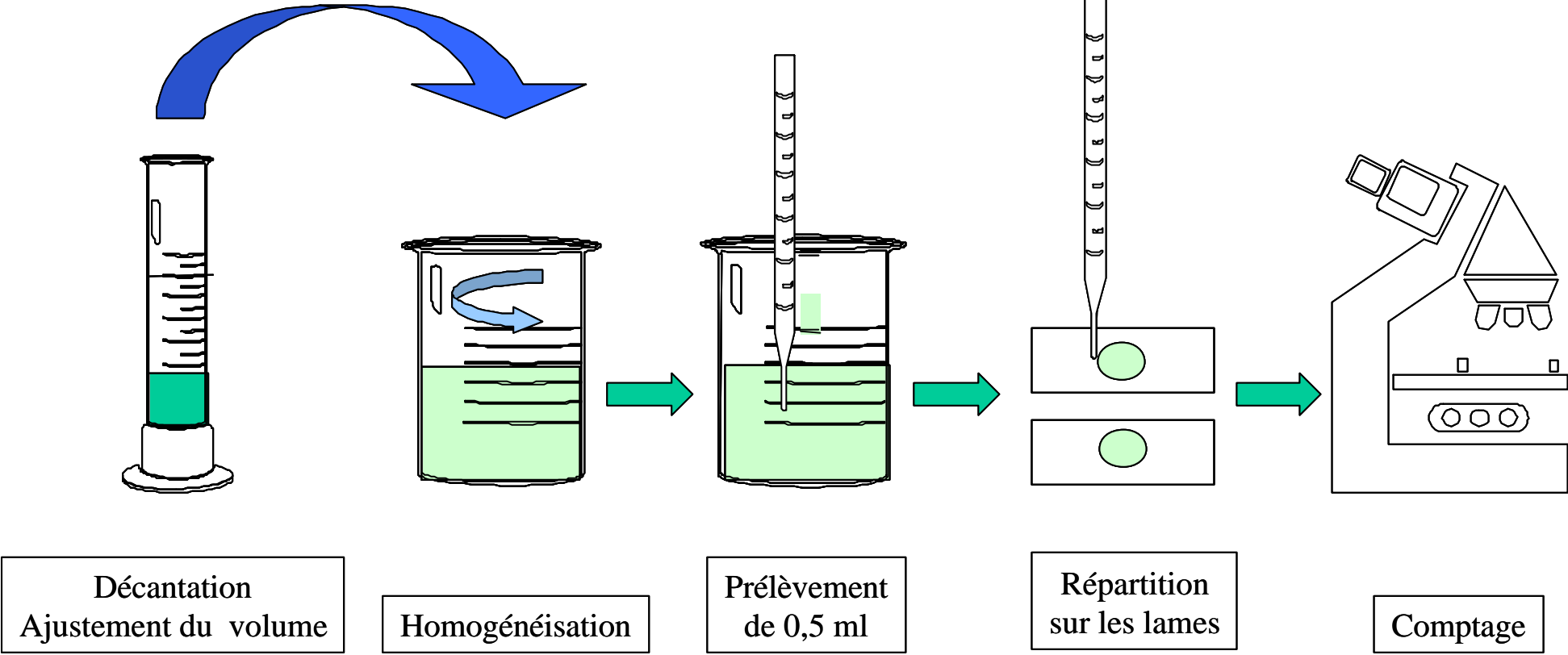


Figure 4 : Technique traditionnelle de comptage

## ☹ Inconvénients

- L'adjonction d'un volucompteur à ces filets est impossible, en raison de leur petite ouverture. Il est donc impossible de déterminer avec précision le volume d'eau échantillonné.
- Cette méthode de prélèvement présente des limites liées au colmatage des filets. En effet, en fonction de la teneur en particules et de la quantité de macroalgues (Monostromes et/ou Entéromorphes) dans l'eau, les filets se colmatent plus ou moins rapidement selon les sites, les périodes au cours d'un même été et les différents étés.  
De plus, le filet de maille 60  $\mu\text{m}$  se colmate plus vite que les filets de maille 125  $\mu\text{m}$ . Pour cette raison, les filets à maille plus large pêcheraient mieux que les filets à maille fine. Les larves aux stades les plus évolués seraient ainsi capturées plus efficacement que les jeunes stades larvaires.
- L'agent chargé du prélèvement doit gérer simultanément 3 échantillons par station.
- Le transfert du plancton des filets dans les piluliers récupération est rendu délicat par l'absence de collecteur.

## ☺ Conclusion

En l'absence de mesure du volume réel d'eau filtrée par les différents filets, les captures réalisées ne peuvent être considérées comme représentatives de la véritable abondance larvaire dans les masses d'eau échantillonnées.

Cette absence de représentativité des prélèvements est accentuée par la variabilité du colmatage des filets, liée d'une part à l'utilisation de deux mailles différentes et d'autres part aux variations spatiales et temporelles de la charge sestonique de l'eau filtrée.

### 2.1.3. Technique de comptage

La technique de comptage est schématisée sur la figure 4.

Pour chaque station, on dispose donc de 3 échantillons :

- pêche 60  $\mu\text{m}$  à - 0,2m
- pêche 125  $\mu\text{m}$  à -0,2m
- pêche 125  $\mu\text{m}$  à -1m

☞ L'échantillon est mis à décanter dans une éprouvette graduée de 100 ml. On mesure ensuite la hauteur du culot. Puis, on ajuste le volume d'eau surnageant en vidant l'éprouvette de manière à ne conserver qu'environ 4 fois le volume du culot. Cette dilution du culot s'avère généralement adéquate pour compter

suffisamment de larves sans que la lecture ne soit gênée par le matériel particulaire. Le volume total de l'échantillon ( $v$ ) est mesuré.

☞ L'échantillon est transféré dans un bécher de 250 ml qui est agité de façon à l'homogénéiser.

Un sous échantillon de 0,5 ml est prélevé à l'aide d'une micropipette et transféré sur deux lames de microscopes. Sur ces deux lames, les larves aux différents stades sont dénombrées.

☞ Pour chaque échantillon, le nombre total de larves de chaque stade est dénombré sur les 2 lames.

Le nombre de larves d'un stade donné présentes dans l'échantillon ( $N$ ) est calculé de la façon suivante :

$$N = n / 0,5 * v$$

où  $n$  est le nombre de larves comptées sur les 2 lames et  $v$  le volume de l'échantillon dilué.

Par la suite, on multiplie ce nombre par 1,5 de façon à exprimer, par convention, le nombre de larves par rapport à un volume de 1,5 m<sup>3</sup> d'eau de mer (correspondant au volume prospecté lorsque les traits de filet duraient 15 minutes, et non 10 minutes comme à présent).

☞ Pour chaque stade larvaire, le résultat retenu est le nombre maximal comptabilisé dans les trois échantillons, et exprimé en nombre de larves par 1,5 m<sup>3</sup>.

### ☺ Avantages

☞ Cette méthode ne requiert pas de préparation particulière de l'échantillon au laboratoire avant décantation.

### ☹ Inconvénients

☞ Le transfert de l'échantillon dans un bécher pour assurer son homogénéisation constitue une manipulation supplémentaire. De plus, l'efficacité de cette homogénéisation (rotation manuelle plus ou moins rapide) est probablement dépendante de la manière dont elle est pratiquée par l'opérateur.

☞ Le fait de retenir, pour chaque stade, le nombre maximal de larves comptabilisées dans les trois filets est sujet à caution.

## La nouvelle méthode : échantillonnage

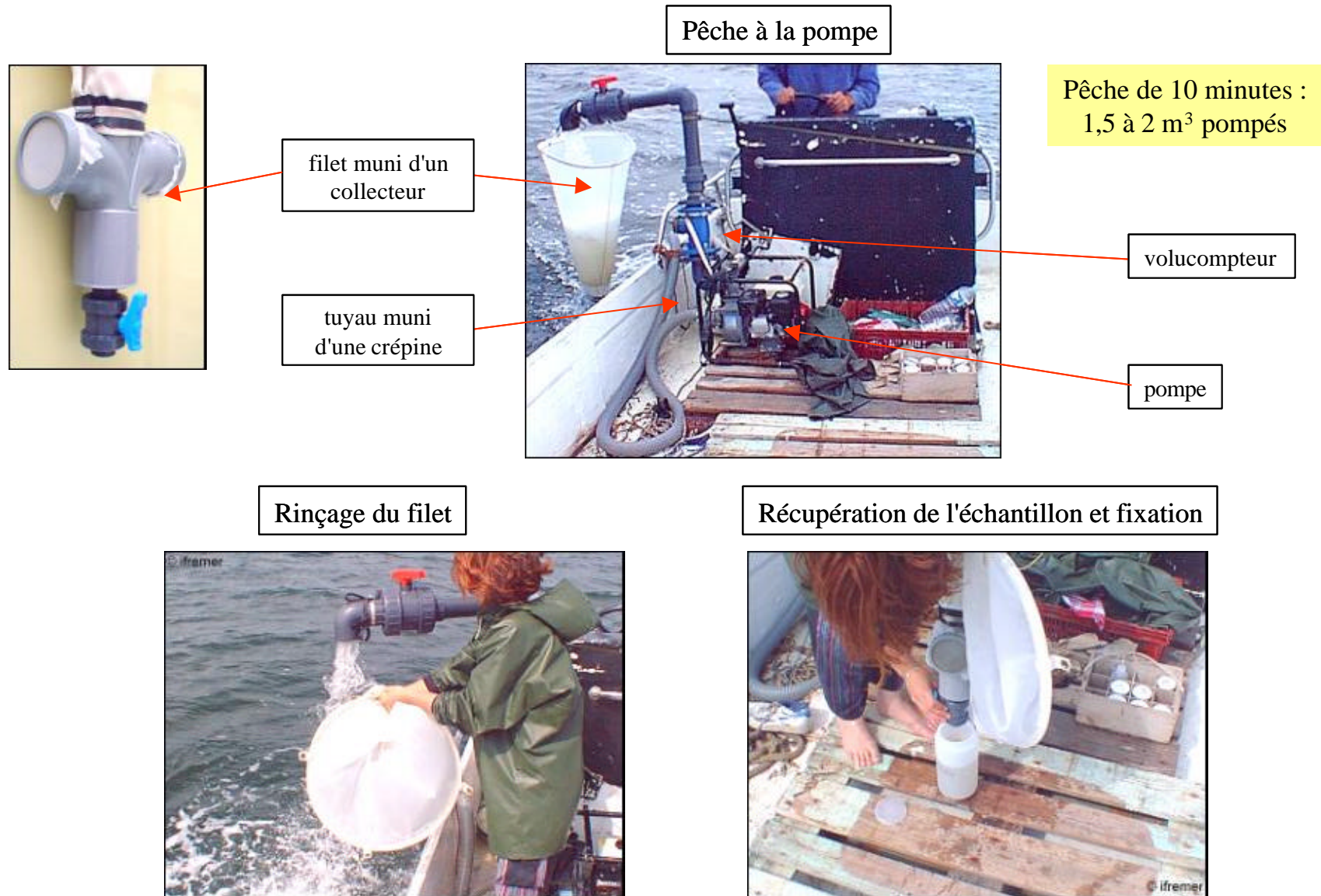


Figure 5 : Nouvelle technique de prélèvement



## 2.2. La nouvelle méthode

### 2.2.1. Stratégie d'échantillonnage

Pour les raisons exposées à la fin du chapitre 2.1.1., aucune modification n'a été apportée à la stratégie d'échantillonnage.

### 2.2.2. Technique de prélèvement

Compte tenu des inconvénients de la technique traditionnelle, deux solutions s'offraient à nous pour améliorer le caractère quantitatif des pêches de larves :

- utilisation d'un filet à zooplancton de plus grande ouverture et muni d'un volucompteur (matériel utilisé par les zooplanctonologistes),
- pompage.

Sur la base d'une expérience précédente, la première solution n'a pas été retenue. En effet, les prélèvements de zooplancton réalisés dans le cadre de *l'étude de la reproduction des huîtres dans le Bassin d'Arcachon* (Maurer *et al.*, 2001), à l'aide d'un filet à plancton de 0,25 m<sup>2</sup> d'ouverture et de maille 63 µm, avait montré que ce type d'engin colmate très rapidement, rendant délicat de prolonger le trait au-delà de 30 secondes. Dans ces conditions, le prélèvement concerne une masse d'eau beaucoup plus réduite que lorsque la pêche dure 10 minutes, et il est moins représentatif de la composition de la population de larves présentes dans la zone échantillonnée.

La pêche aux filets tractés a donc été remplacée par un prélèvement réalisé à la pompe suivi d'une filtration de l'eau contenant les larves sur le pont du bateau.

Les travaux de His *et al.* (1987) avaient démontré que tous les stades larvaires, y compris les plus jeunes, sont aussi abondants en surface qu'à 1 m de profondeur. Pour cette raison, les prélèvements par pompage n'ont été effectués qu'à ce dernier niveau.

La technique de prélèvement est schématisée sur la figure 5.

☞ Le matériel de pompage est composé d'une moto-pompe HONDA (type TDS50h) équipé d'un débitmètre, l'eau étant aspirée par un tuyau souple (diamètre = 7 cm) lesté et muni d'une crépine à son extrémité. En sortie de pompe, l'eau était filtrée sur un filet conique (diamètre 500/90 mm, longueur 800 mm, maille 40 µm) fixé sur le tuyau rigide par 4 attaches et muni d'un collecteur à son extrémité.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Le montage de l'installation a été assuré par Pascal Lebleu (LOB – Université Bordeaux I).

☞ Afin de pouvoir comparer les deux types de techniques de prélèvement, le pompage a été réalisé en parallèle avec les pêches au filet (bateau en route, 10 minutes de pompage), à -1 m de profondeur. De 1,5 à 2 m<sup>3</sup> étaient pompés à chaque prélèvement. A la fin du prélèvement, le filet était rincé de façon à rassembler le plancton récolté dans le collecteur. Son contenu était vidé directement dans un flacon de 2 litres.

### ☺ Avantages

➤ **Le principal avantage de cette technique est de permettre un prélèvement quantitatif de plancton.**

➤ L'agent chargé du prélèvement ne gère qu'un seul échantillon par station.

➤ La présence du collecteur facilite la récupération de l'échantillon de plancton.

### ☹ Inconvénients

➤ Si la pompe n'a jamais présenté de défaillance au cours de l'été, il a fallu nettoyer assez souvent la crépine (parfois bouchée par les entéromorphes abondantes au cours de l'été 2001)

*NB : Il serait nécessaire de rigidifier l'ensemble pompe – tuyau rigide à sa sortie avec une structure métallique. En effet, lorsque la mer est agitée, le poids du filet rempli d'eau force sur la jointure entre ces deux structures.*

### ☺ Conclusion

La technique consistant à effectuer les pêches de larves à l'aide d'une pompe ne pose pas de problème particulier sur le plan technique. En deux mois d'utilisation, ce matériel a toujours fonctionné correctement.

Cette technique permet d'échantillonner les larves contenues dans un volume d'eau relativement important (1 à 2 m<sup>3</sup>) et connu, et sur une distance égale à celle échantillonnée avec la méthode traditionnelle, sans présenter de biais imputable au colmatage des filets.

# La nouvelle méthode : technique de comptage

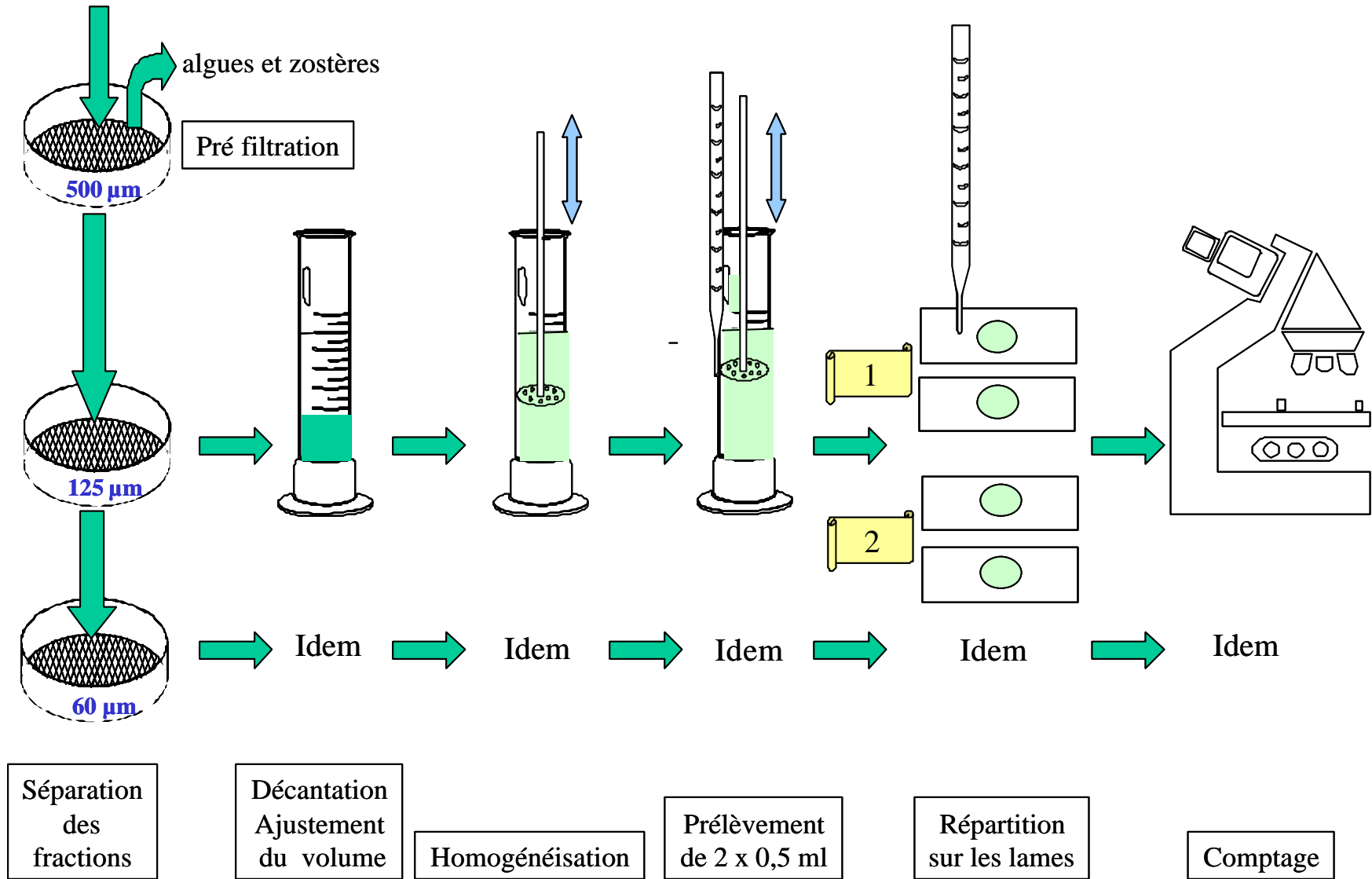


Figure 6 : Nouvelle technique de comptage

### 2.2.3. Technique de comptage

La technique de comptage est schématisée sur la figure 6.

Pour chaque station, on dispose d'un seul échantillon

☞ L'échantillon est filtré sur trois tamis (mailles 500 µm, 125 µm et 60 µm). Le refus du tamis de 500 µm, contenant les macroalgues et les zostères, est éliminé. Les refus des deux autres tamis sont récupérés séparément.

Dès lors, pour chaque station, on dispose de 2 fractions qui seront traitées de la même manière.

- fraction 125 µm
- fraction 60 µm

☞ La fraction est tout d'abord traitée comme la méthode traditionnelle. Elle est mise à décanter dans une éprouvette graduée de 100 ml. On mesure ensuite la hauteur du culot. Puis, on ajuste le volume d'eau surnageant en vidant l'éprouvette de manière à ne conserver qu'environ 4 fois le volume du culot. Le volume total de l'échantillon (v) est mesuré.

☞ La fraction est homogénéisée directement dans l'éprouvette à l'aide d'un agitateur muni d'un disque perforé à son extrémité. Deux aliquotes de 0,5 ml sont prélevés à la micropipette et transférés sur quatre (deux fois deux) lames de microscopes. Sur ces deux groupes de deux lames, les larves au différents stades sont dénombrées.

*NB : La lecture des pêches effectuées dans le Bassin de Marennes-Oléron par IFREMER/DEL/LT sont réalisées sur des cellules de numération quadrillées au lieu de simples lames de microscope (Malestroit et Piquet, 2001). Ce matériel rend la lecture des échantillons beaucoup plus aisée (pas de risque d'écoulement de la goutte et pas de risque de compter plusieurs fois la même larve).*

☞ Pour chaque sous-échantillon, le nombre total de larves de chaque stade est dénombré sur les 2 lames.

Ainsi, pour une fraction donnée et un sous-échantillon de 0,5 ml donné, le nombre de larves (N) d'un stade donné présentes dans 1,5 m<sup>3</sup> d'eau pompée est calculé de la façon suivante :

$$N = (1,5 \cdot n \cdot v/0,5) / V = 3nv/V$$

où n est la somme des nombre de larves du stade considéré comptées sur les deux lames, v le volume de l'échantillon dilué et V le volume pompé.

<b>Temps passé par date-station</b>	<b>Tamisage</b>	<b>Décantation</b>	<b>Transfert bécher</b>	<b>Comptage</b>	<b>Total</b>
Ancienne méthode (AM)		30 min	5 min	6 lames x 5 à 12 min* = 30 à 72 min	65 à 107 min
Nouvelle méthode (NM)	10 min	30 min		8 lames x 5 à 10 min* = 40 à 80 min	80 à 120 min
<b>Temps NM/Temps AM</b>					<b>1,1 à 1,2</b>

\* selon la charge de l'échantillon

**Tableau 1** : Comptabilisation du temps- agent nécessaire à l'examen des échantillons avec les deux méthodes.

Les résultats des comptages dans les deux sous échantillons sont ensuite moyennés.

☞ Pour chaque catégorie larvaire, le résultat retenu est la somme des valeurs dénombrées dans les deux fractions.

### ☺ Avantages

- Le comptage est facilité par le tamisage préalable, les stades jeunes et plus évolués étant séparés dans les deux fractions (fraction 60  $\mu\text{m}$  et fraction 125  $\mu\text{m}$ ).
- La séparation en deux fractions permet également de moins diluer le prélèvement, ce qui augmente les chances d'observer et de dénombrer de manière satisfaisante les stades larvaires peu représentés.
- Le comptage sur deux sous échantillons améliore encore la précision du résultat.

### ☹ Inconvénients

- Cette technique requiert davantage de manipulations au laboratoire que l'ancienne méthode : séparation des différentes phases par tamisage, comptage de 4 sous-échantillons par date-station au lieu de 3.

La comptabilisation des temps passés au laboratoire pour effectuer la préparation et le tri des échantillons à une station et à une date pour chacune des deux méthodes (tableau 1) montre effectivement que la nouvelle méthode requiert de 10 à 20 % de temps supplémentaire au laboratoire.

Toutefois, l'utilisation de cellules de numération quadrillées permettrait de réduire significativement le temps nécessaire au dénombrement des larves. En effet, l'usage de la cellule permettrait de ne pas séparer le sous échantillon de 0,5 ml sur 2 lames. Un des opérateurs arcachonnais estime le temps nécessaire au dénombrement des larves présentes sur une de ces cellules comme compris entre 5 et 15 min selon la charge de l'échantillon (soit entre 20 et 60 min pour les 4 comptages). **Le temps de préparation et de comptage pour un échantillon serait ainsi ramené à un délai compris entre 60 et 100 min, ce qui est comparable au temps passé en utilisant la méthode traditionnelle.**

## ☺ Conclusion

Du fait du contrôle des volumes prélevés, de l'absence de biais dû au colmatage des filets et d'une meilleure homogénéisation des échantillons, la "nouvelle méthode" de prélèvement des larves et de préparation des échantillons donne très vraisemblablement des résultats plus proches de la réalité que la technique traditionnelle.

Avec quelques aménagements (utilisation d'une cellule de numération quadrillée), la préparation et l'observation des échantillons ne prendront pas plus de temps qu'avec la méthode traditionnelle.

<b>Critère</b>	<b>Stade</b>				
	<b>petites</b>	<b>évoluées</b>	<b>moyennes</b>	<b>grosses</b>	<b>fixations</b>
Stade <b>présent dans le filet</b> et <b>présent dans le pompage</b>	81	59	51	20	29
Stade absent dans le filet et absent dans le pompage	0	7	16	44	35
Stade <b>présent dans le pompage</b> et absent dans le filet	2	<b>18</b>	8	13	10
Stade <b>présent dans le filet</b> et absent dans le pompage	2	1	10	8	11
<b>Total</b>	<b>85</b>	<b>85</b>	<b>85</b>	<b>85</b>	<b>85</b>

**Tableau 2** : Nombre de paires d'échantillons répondant aux différents critères pour chaque stade.



### 3. Comparaison des résultats obtenus avec les deux méthodes

Les données acquises au cours de la saison de reproduction 2001 sont constituées par les résultats des dénombrements de larves dans 85 paires d'échantillons issues des deux méthodes de prélèvement.

S'il est évident que la nouvelle méthode fournit une meilleure image de la réalité en apportant des résultats véritablement quantitatifs, la comparaison des valeurs obtenues doit cependant permettre de répondre à deux questions.

1. La nouvelle méthode permet-elle d'échantillonner efficacement toutes les composantes de la population larvaire, notamment les stades les plus âgés, sachant que les abondances décroissent fortement avec l'âge de la cohorte ?
2. Les résultats des comptages obtenus avec la nouvelle méthode pourront-ils être comparés avec les résultats acquis à l'aide de la méthode traditionnelle, de manière à ne pas perdre le bénéfice du suivi à long terme entrepris jusqu'à présent ?

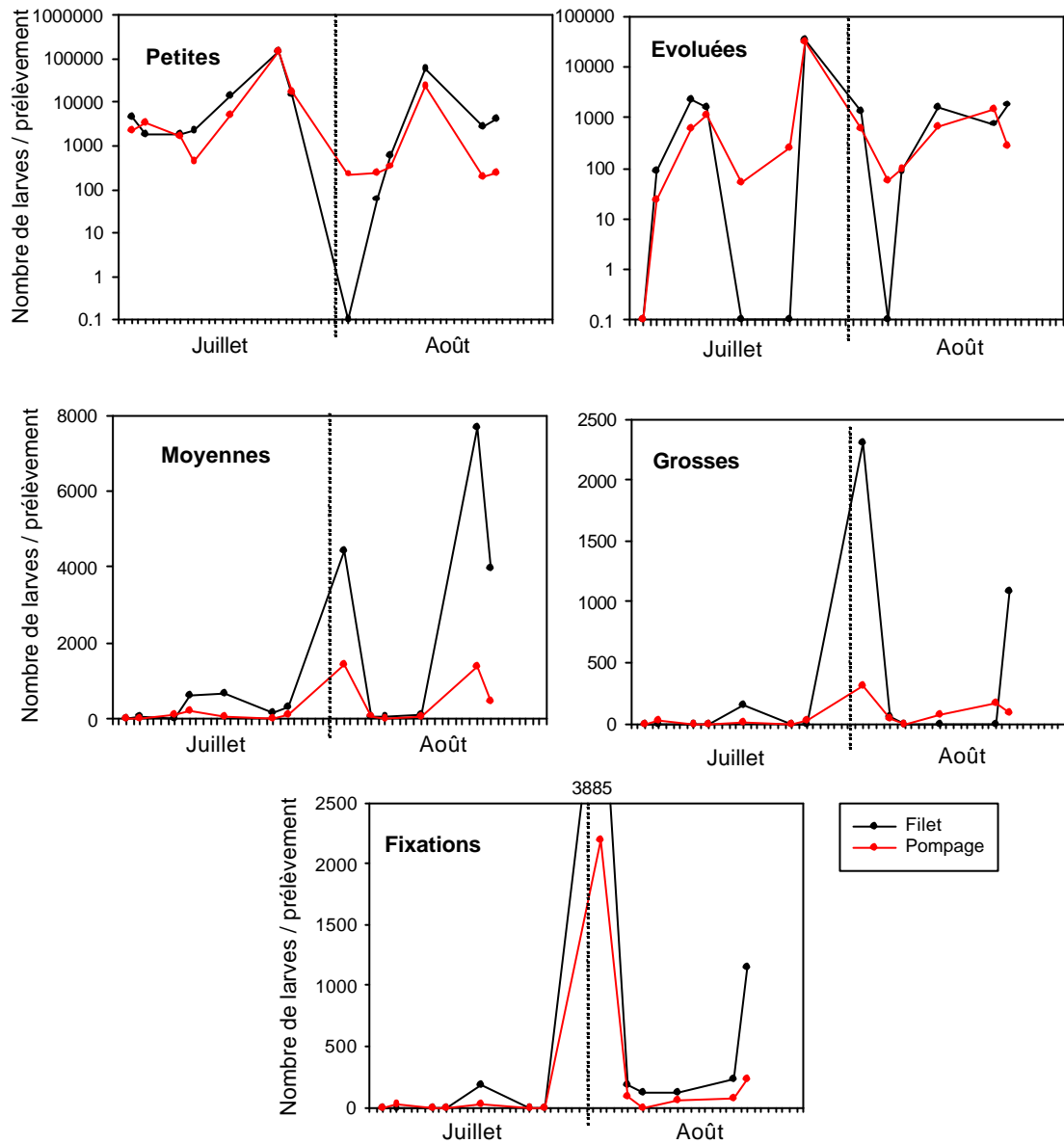
La comparaison des résultats sur les paires d'échantillons a donc fait l'objet de deux types d'analyses, l'un concernant la **présence-absence** des différents stades larvaires dans les échantillons, l'autre les **abondances**. Etant donné le caractère véritablement quantitatif d'une seule de ces techniques, le traitement statistiques des données n'a volontairement pas été très poussé.

#### 3.1. Présence – absence des différents stades larvaires dans les échantillons obtenus avec les deux méthodes

Les résultats présentés dans le tableau 2 sont calculés à partir de l'ensemble des échantillons (station – date) (85 au total) prélevés simultanément selon les deux techniques. Pour chaque catégorie larvaire et chaque paire d'échantillons (provenant du filet et du pompage), quatre cas ont été distingués :

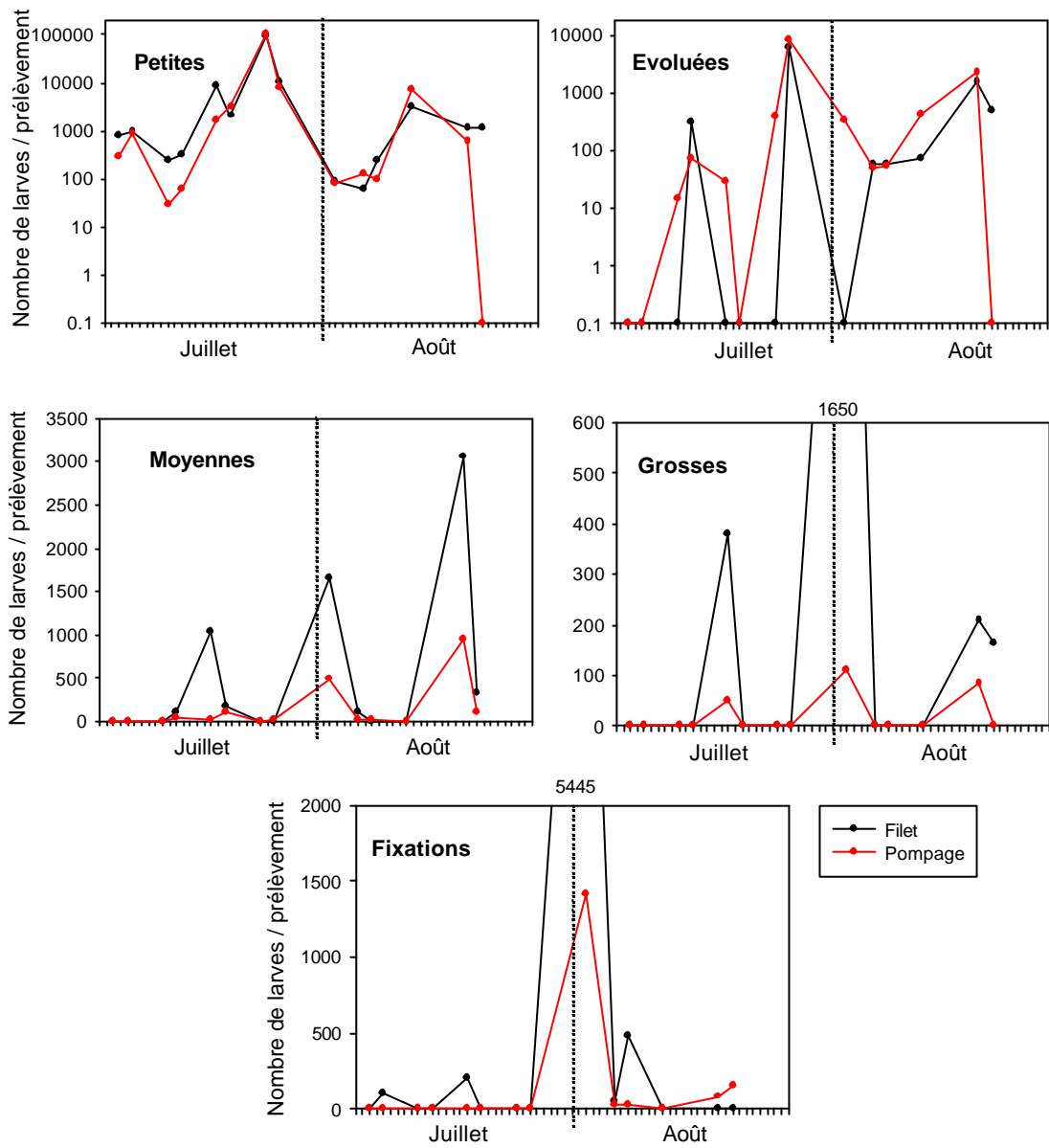
- Cas où le stade larvaire est présent dans les deux échantillons.
- Cas où le stade larvaire est absent dans les deux échantillons.
- Cas où le stade larvaire est présent dans l'échantillon provenant du pompage et absent dans celui provenant du filet.
- Cas où le stade larvaire est présent dans l'échantillon provenant du filet et absent dans celui provenant du pompage.

### Arams



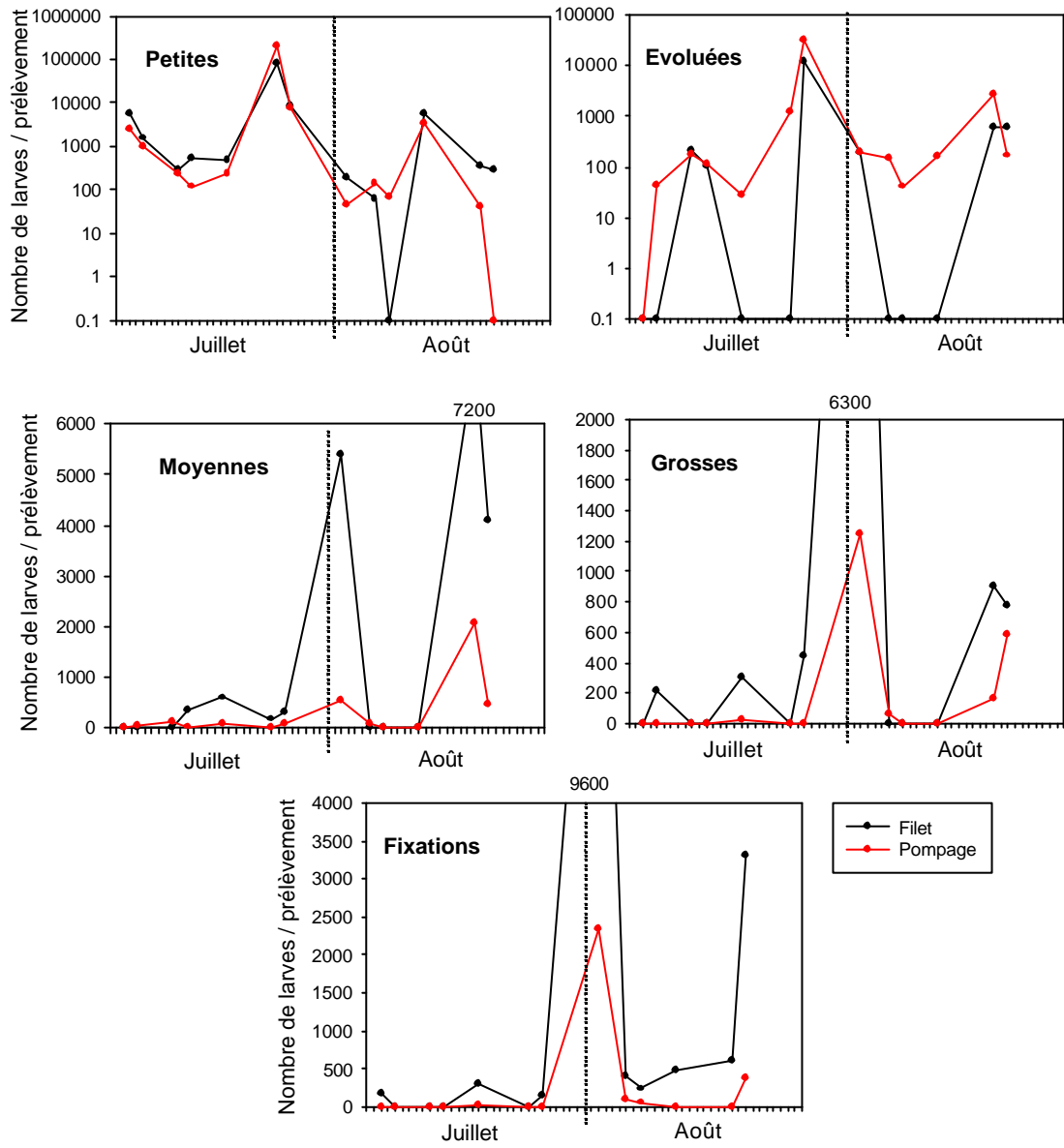
**Figure 7 :** Nombre des larves aux différents stades récoltées à Arams en 2001 selon les deux méthodes. (Sur l'échelle logarithmique des "petites" et des "évoluées", 0,1 sur la courbe signifie 0.)

## Comprian



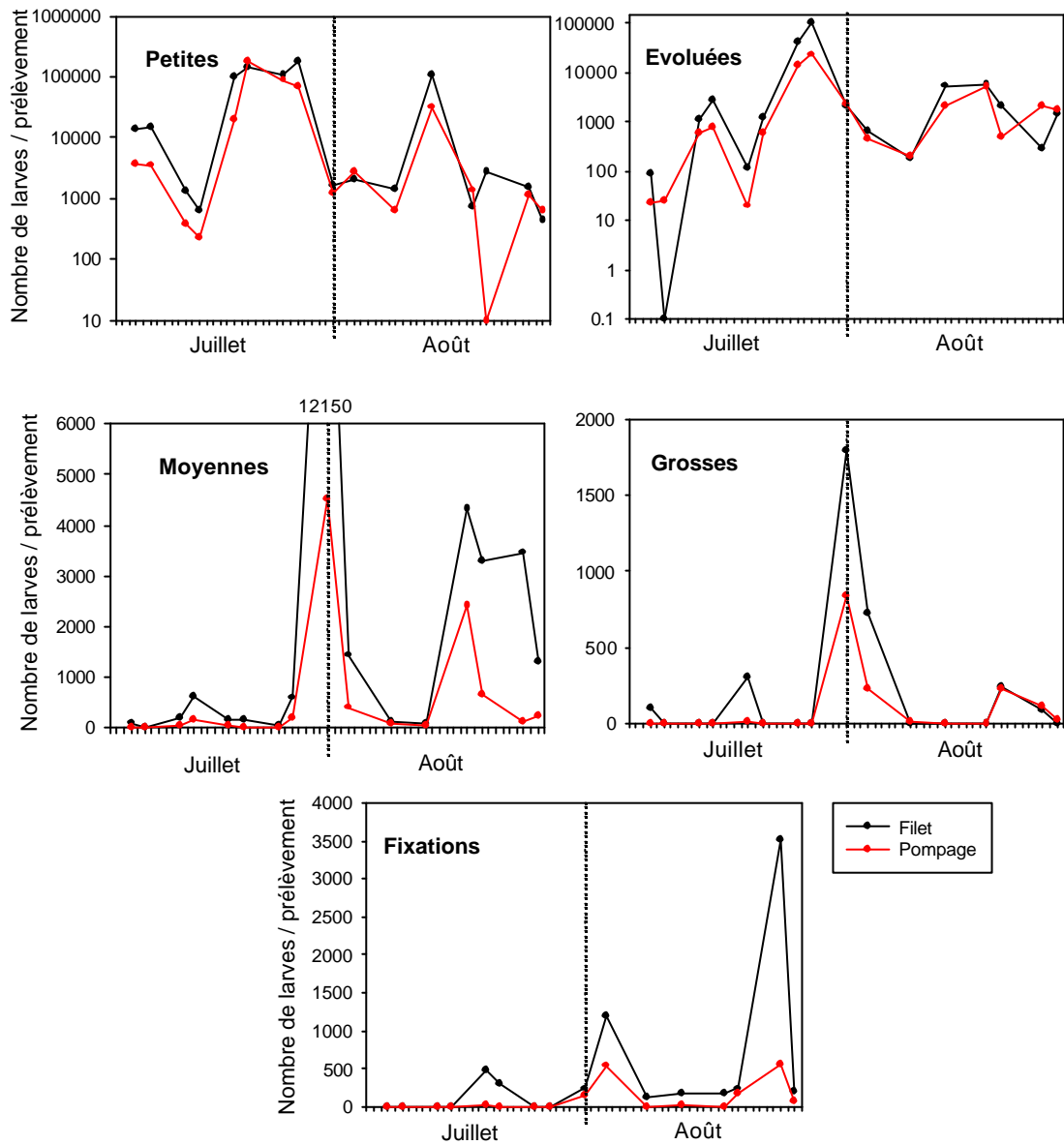
**Figure 8 :** Nombre des larves aux différents stades récoltées à Comprian en 2001 selon les deux méthode. (Sur l'échelle logarithmique des "petites" et des "évoluées", 0,1 sur la courbe signifie 0.)

## Gujan



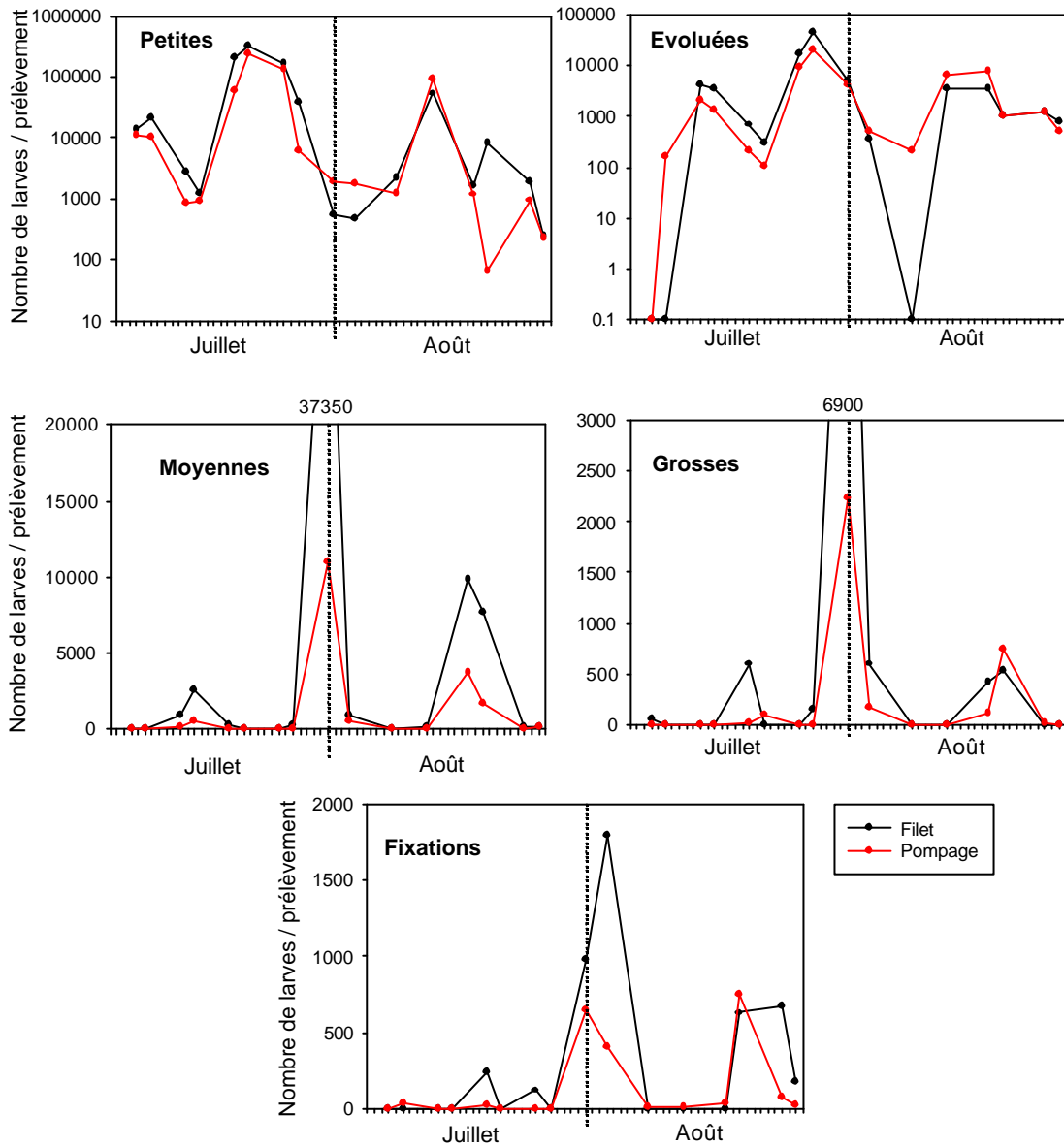
**Figure 9 :** Nombre des larves aux différents stades récoltées à Gujan en 2001 selon les deux méthodes.  
*(Sur l'échelle logarithmique des "petites" et des "évoluées", 0,1 sur la courbe signifie 0.)*

## Arès



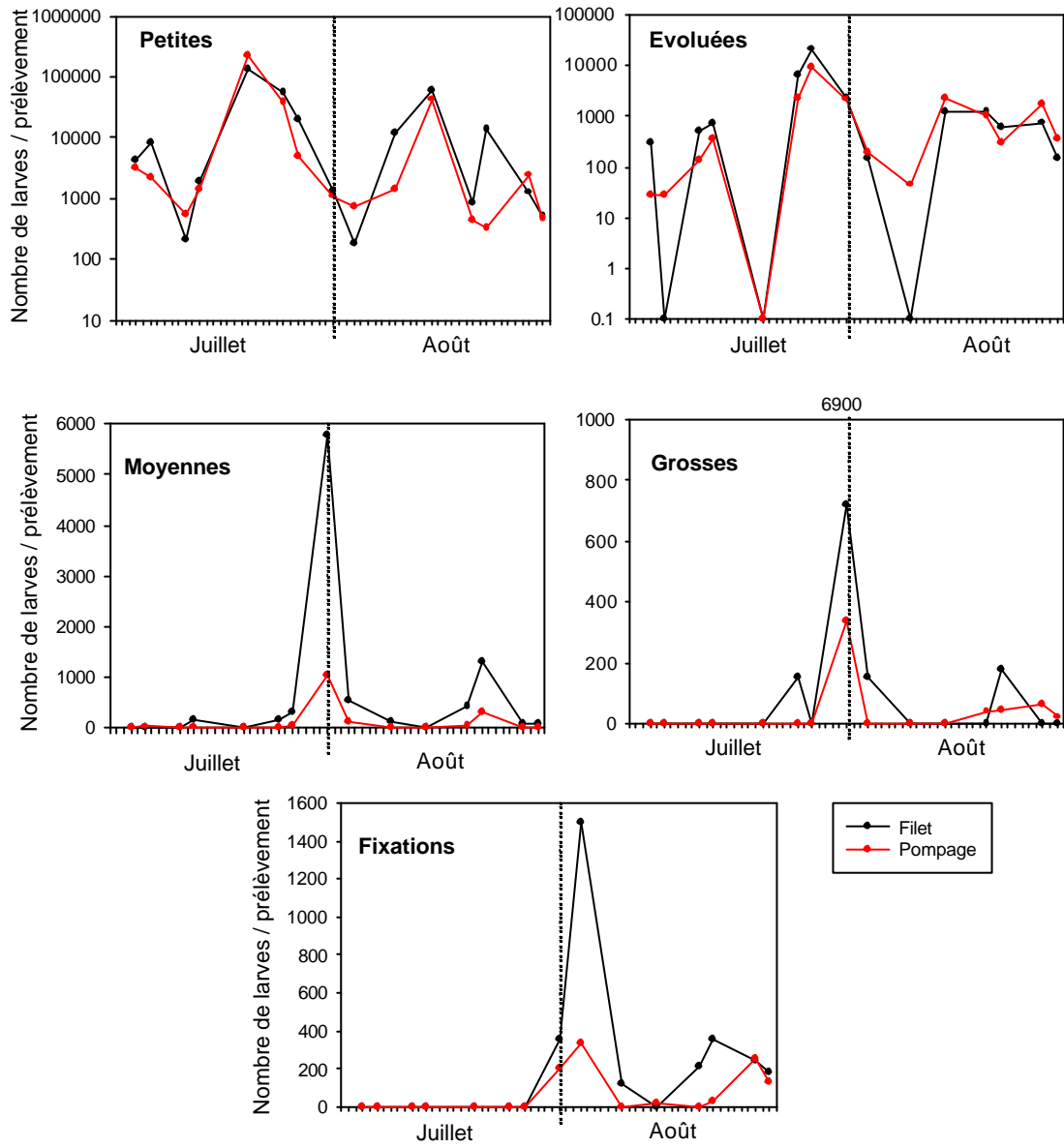
**Figure 10 :** Nombre des larves aux différents stades récoltées à Arès en 2001 selon les deux méthodes.  
*(Sur l'échelle logarithmique des "petites" et des "évoluées", 0,1 sur la courbe signifie 0.)*

### Piquey

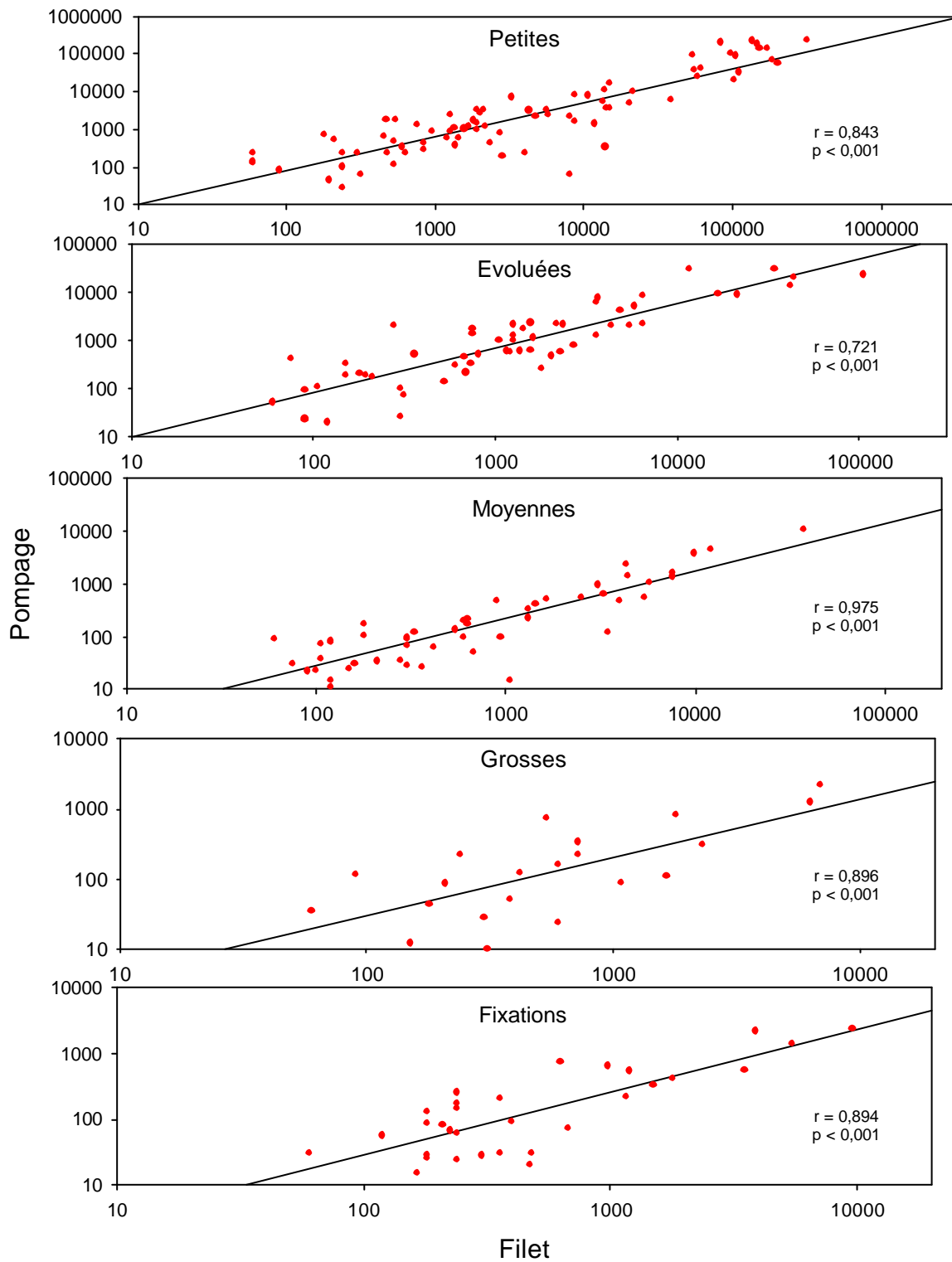


**Figure 11** : Nombre des larves aux différents stades récoltées à Piquey en 2001 selon les deux méthodes.  
*(Sur l'échelle logarithmique des "petites" et des "évoluées", 0,1 sur la courbe signifie 0.)*

### Courbey



**Figure 12 :** Nombre des larves aux différents stades récoltées à Courbey en 2001 selon les deux méthodes. (Sur l'échelle logarithmique des "petites" et des "évoluées", 0,1 sur la courbe signifie 0.)



**Figure 13** : Régressions linéaires entre les dénombrements réalisés au filet et à la pompe pour les différents stades larvaires.



Les résultats permettent de mettre en évidence les faits suivants.

☞ Les deux méthodes s'avèrent aussi efficaces l'une que l'autre pour échantillonner les stades larvaires "petite", "moyenne", "grosse" et "en fixation" :

- dans le cas des larves au stade "petite", l'un ou l'autre mode de récolte passe rarement (deux fois) à côté de cette population du fait de son abondance élevée tout au long de la campagne de prélèvements,
- dans le cas des larves aux stades "moyenne", "grosse" et "en fixation", le fait de ne pas retrouver la catégorie larvaire dans un des deux modes de collecte est plus fréquent du fait de l'abondance moindre de ces stades ; cependant, ça n'est pas plus le cas avec une méthode qu'avec l'autre (respectivement 8, 13 et 10 fois contre 10, 8 et 11 fois) (aléas d'échantillonnage).

☞ Pour les larves au stade "évolué", les résultats obtenus sont assez différents. En effet, ce stade larvaire est présent dans 18 échantillons recueillis par pompage alors qu'il est absent des échantillons comparables recueillis au filet. La situation inverse ne se produit qu'une fois. La nouvelle méthode semble donc plus efficace pour recueillir les larves au stade "évoluées", notamment lorsqu'elles sont peu abondantes (Figures 7 à 12). Il est probable que ce stade larvaire est mal collecté par le filet 60  $\mu\text{m}$  (à cause du colmatage ?) tandis qu'il passe à travers la maille du filet 125  $\mu\text{m}$ .

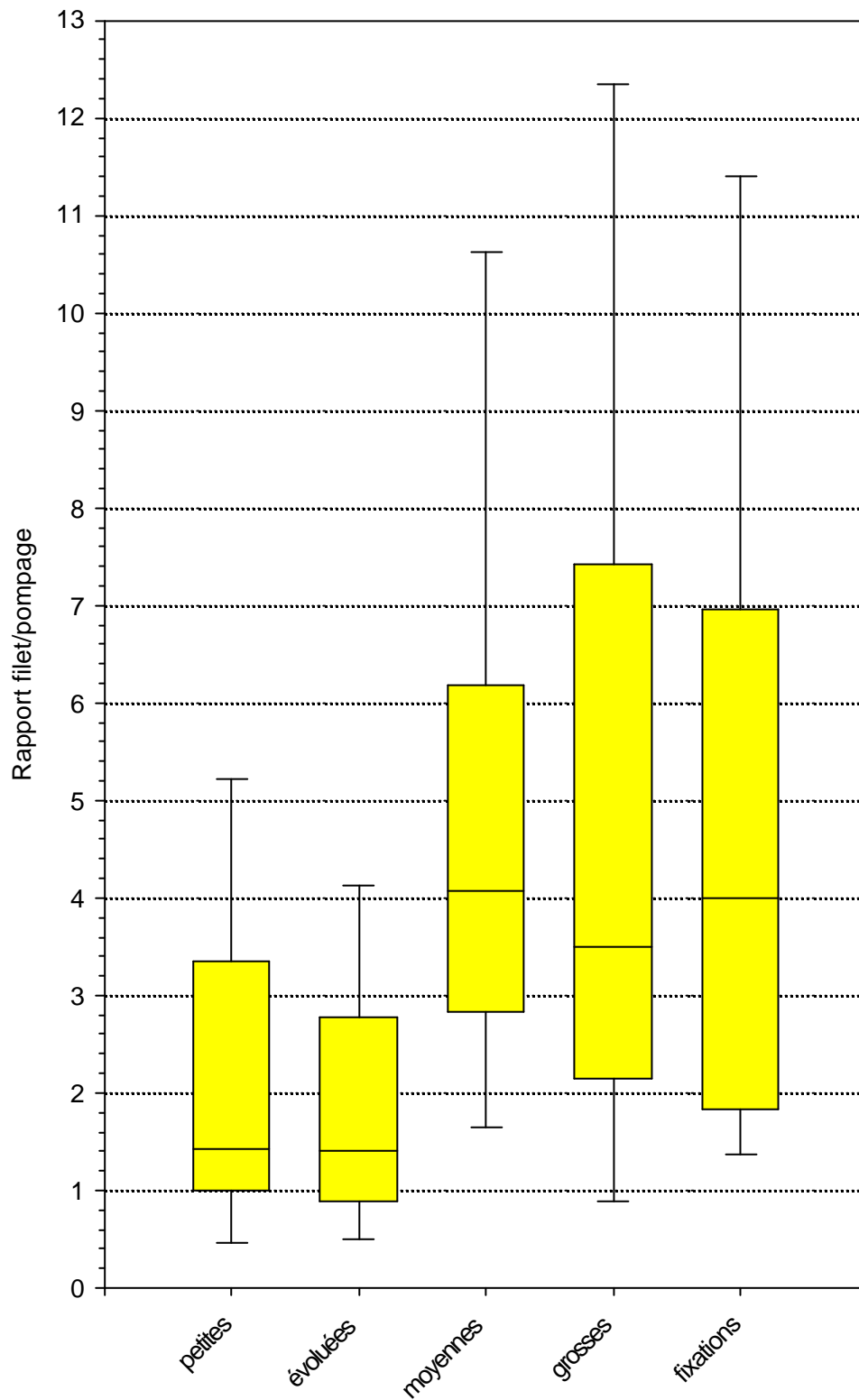
☺ **La nouvelle méthode s'avère donc au moins aussi efficace que l'ancienne pour mettre en évidence les différents stades larvaires présents dans la population. En effet, pour quatre des stades ("petite", "moyenne", "grosse" et "en fixation"), son efficacité est équivalente à celle de la méthode traditionnelle tandis qu'elle est supérieure pour les individus au stade "évolué", notamment quand ils sont peu abondants dans la population.**

3.2. Comparaison des abondances des différents stades larvaires dans les échantillons obtenus avec les deux méthodes

☞ Les résultats des comptages des différents stades larvaires dans les 6 stations sont représentées dans les figures 7 à 12.

Il apparaît nettement que les variations temporelles des différents stades sont globalement similaires pour les deux types de méthodes.

Toutefois, on constate que les nombres de larves "moyennes", "grosses" et "évoluées" sont presque toujours plus élevés dans les pêches au filet que dans les pompages.



**Figure 14** : Rapport entre les dénombrements des pêches réalisées au filet et à la pompe.

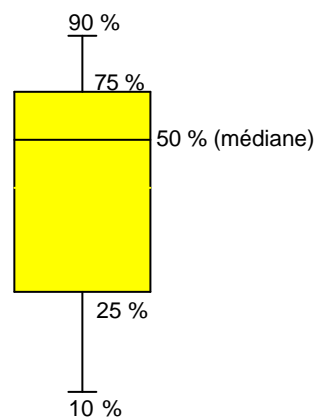
D'autre part, comme nous l'avons déjà souligné, on observe assez souvent la disparition des larves "évoluées" dans les échantillons récoltés au filet, alors que ce phénomène est exceptionnel dans les échantillons récoltés par pompage.

☞ Les corrélations entre les **valeurs brutes** des dénombrements des différents stades larvaires dans les échantillons prélevés au filet et à la pompe sont représentées sur la figure 13. Les valeurs nulles ont été exclues de l'analyse. Les écarts très importants dans la distribution des valeurs nous ont amené à utiliser une **double échelle logarithmique** pour mieux les représenter.

☺ **Dans tous les cas, les corrélations sont bonnes (r compris entre 0,72 et 0,97 ;  $p < 0,001$ ). Ceci indique que, pour chaque stade larvaire, les deux techniques donnent des résultats globalement proportionnels.**

☞ Les rapports des dénombrements par stade larvaire entre les deux types de comptage, sont présentés, dans la figure 14, sous forme de "boîtes à moustaches".

Sur ce type de graphiques (voir schéma ci dessous), la ligne inférieure des boîtes indique la valeur correspondant à 25% de la distribution, la ligne supérieure à 75%. La ligne horizontale contenue dans la boîte indique la valeur de la médiane (50 % de la distribution). Les barres d'erreur verticales indiquent les valeurs correspondant à 10 et à 90% de la distribution.



On constate que les rapports d'abondance entre les deux types d'échantillons (filet/pompage) sont différents selon le stade d'évolution des larves.

- Pour les larves aux stades "petite" et "évoluée" ( $< 150 \mu\text{m}$ ), le rapport médian est voisin de 1,4.

- Pour les stades suivants ( $> 150 \mu\text{m}$ ), il se situe aux alentours de 4.

☺ Comme on pouvait le suspecter, le rapport d'abondance entre les échantillons récoltés au filet et par pompage est plus élevé pour les stades exclusivement capturés par le filet de maille  $125 \mu\text{m}$  que ceux capturés par le filet de maille  $60 \mu\text{m}$ . Pendant le même temps de pêche, il passe donc davantage d'eau dans le filet  $125 \mu\text{m}$  que dans le filet  $60 \mu\text{m}$ , du fait de la différence de taille des mailles mais aussi parce que le filet à maille plus large est moins affecté par les processus de colmatage au cours du trait. Ainsi, le volume d'eau filtré par le filet à maille fine pendant le trait de 10 minutes est d'environ  $1\text{m}^3$ , alors qu'il est proche de  $4 \text{m}^3$  pour le filet à maille plus large.

Il est donc bien établi que l'utilisation de la méthode traditionnelle conduit à surestimer la proportion des larves aux stades "moyenne", "grosse" et "en fixation" dans la population.

Toutefois, la connaissance de rapports d'abondance entre les résultats issus des deux méthodes permettra, si la nouvelle méthode est utilisée dans le futur, d'interpréter les nouvelles données par rapport aux anciennes.

## 4. Conclusion

Les résultats de l'expérimentation effectuée au cours de l'été 2001, consistant à tester une nouvelle méthode d'estimation d'abondance des larves d'huîtres creuses amène aux conclusions suivantes.

### *☞ D'un point de vue matériel*

- La mise en oeuvre de la nouvelle méthode de prélèvement suppose d'acquérir une pompe munie d'un volucompteur ainsi qu'un jeu de 2 filets (le second en réserve), pour un coût approximatif de 10 000 F (1500 € HT). A ce montant, il est nécessaire d'ajouter le coût du montage du système (tuyauterie en PVC), et la fabrication d'un support métallique destiné à supporter le filet.
- Si l'utilisation de la pompe suppose d'avantage d'attention que l'usage des filets (nécessité de noter les volumes d'eau pompés et de rincer la pompe à l'eau douce après chaque série de prélèvements), la nouvelle méthode simplifie la gestion des échantillons pour l'agent préleveur (un seul échantillon récolté par station).
- En apportant quelques aménagements à la méthode de dénombrement utilisée pendant l'été 2001 (utilisation d'une cellule quadrillée pour effectuer les dénombrements), la nouvelle technique requiert à peu près le même temps au laboratoire que l'ancienne.

### *☞ D'un point de vue technique*

- Les deux méthodes sont aussi efficaces pour capturer la majorité des différents stades larvaires. La nouvelle technique s'avère mieux adaptée pour mettre en évidence les larves au stade "évolué", surtout lorsqu'elles sont peu abondantes dans la population.
- Les résultats acquis avec la nouvelle méthode peuvent être comparés avec ceux obtenus par l'ancienne : facteur proche de 1 pour les larves "petites" et "évoluées" et de 4 pour les autres stades.
- Contrairement à l'ancienne, la nouvelle méthode donne des résultats quantitatifs, permettant ainsi de comparer les abondances des différents stades larvaires entre cohortes d'une même année, des différentes années entre elles, et entre sites de captage si cette technique est adoptée ailleurs (Marennes-Oléron).

En résumé, cette nouvelle méthode par pompage, réclamant un investissement financier relativement peu important et une charge de travail équivalente à la

technique traditionnelle, est mieux adaptée que cette dernière pour caractériser les différentes étapes de chaque saison de reproduction et pour comparer leur intensité entre années et entre sites.

## Bibliographie

**Borde F.** (1929). Observations sur la production de naissain dans le Bassin d'Arcachon. *Rev. Trav. Off. Pêches marit.*, **1** (2), 106-112.

**Escande-Labrouche F.** (1964). Etude statistique et systématique du phytoplancton du Bassin d'Arcachon. Thèse 3<sup>o</sup> cycle, Université Bordeaux, 82 p.

**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.** (1991). Biologie et écotoxicologie des véligères de *Crassostrea gigas* (Thunberg) dans le Bassin d'Arcachon. *Thèse Doctorat Etat*, Université Bordeaux I, 192 p.

**His E., Borel M., Robert R., Laborde J.L.** (1987). Comparaison de deux méthodes de prélèvement pour le dénombrement de larves de *Crassostrea gigas* en zone conchylicole. C.I.E.M. C.M. 1987/K, **52**, 12 p.

**Le Dantec J.** (1968). L'ostréiculture dans le Bassin d'Arcachon et ses rapports avec les variations du milieu. *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **32** (3), 240-362.

**Lucas J.S.** (1982). Quantitative studies of feeding and nutrition during larval development of the coral reef asteroid *Acanthaster planci* (L.). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **65**, 173-193.

**Malestroit P., Piquet J.C.** (2001). Suivi de la reproduction dans le Bassin de Marennes-Oléron : de la moule *Mytilus edulis* et de l'huître *Crassostrea gigas*. Rapport IFREMER DEL/LT, 18 p.

**Manaud F., Bouchet J.M., Deltreil J.P., Maurer D., Trut G., Auby I., Dreno J.P., L'Yavanc J., Masson N., Pellier C.** (1997). Etude intégrée du Bassin d'Arcachon. Tome 5 : Activités ressources vivantes. Rapport interne DEL/Arcachon, 5 classeurs.

**Maurer D., Auby I., Masson N., Sautour B., D'Amico F., Deynu D., Tournaire M.P., Trut G., Cantin C., Pellier C.** (2001). Etude de la reproduction de l'huître creuse dans le Bassin d'Arcachon – Année 2000. Rapport IFREMER DEL/AR, 132 p. + Annexes.