

ETUDES SUR LES
CAUSES DE LA PERTURBATION
DE LA REPRODUCTION ET DU
DEVELOPPEMENT LARVAIRE
DE *CRASSOSTREA GIGAS* DANS LE
BASSIN D'ARCACHON .

RENE ROBERT

BREST. 1983

UNIVERSITE DE BRETAGNE OCCIDENTALE

THESE

PRESENTEE A LA

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DE BREST

pour obtenir le diplôme de

DOCTEUR DE 3^{eme} CYCLE
EN OCEANOGRAPHIE BIOLOGIQUE
par

RENE ROBERT

ETUDES SUR LES CAUSES DE LA PERTURBATION
DE LA REPRODUCTION ET DU DEVELOPPEMENT
LARVAIRE CHEZ CRASSOSTREA GIGAS
DANS LE BASSIN D'ARCACHON .

soutenu le 5 octobre 1983 devant la Commission
d'examen composee de

Mr A. LUCAS : PRESIDENT
Mr M. BONNET : EXAMINATEUR
Mr M. GLEMAREC : " "
Mr E. HIS : " "
Mr M. LE PENNEC : EXAMINATEUR

E R R A T A

=====

- CHAPITRE II - L'introduction d'acide chlorhydrique dans les solutions mères d'acétate de tributyle-étain a pour effet d'hydrolyser l'acétate en hydroxyde de T.B.T.
C'est donc l'hydroxyde de T.B.T. qui a été testé et il faut lire T.B.T.O. au lieu de T.B.T.
Les concentrations en toxique sont à multiplier par le rapport 0,8.
- CHAPITRE II - lire chlorure cuivrique et non chlorure de cuivre.

S O M M A I R E .

	<u>PAGE.</u>
<u>INTRODUCTION</u>	1.
 <u>CHAPITRE I : MISE EN PLACE D'UNE ECLOSERIE EXPERIMENTALE.</u>	 5.
 1.1. - DISPOSITIF GENERAL	 5.
1.2. - L'UNITE DE CONDITIONNEMENT	7.
1.2.1. - Les géniteurs	7.
1.2.2. - Les circuits fermés	10.
1.2.3. - Les paramètres du conditionnement ..	13.
1.2.3.1. - La température	13.
1.2.3.2. - La salinité	13.
1.2.3.3. - L'alimentation	14.
1.2.3.4. - Autres facteurs	15.
1.2.4. - Résultats	16.
 1.3. - L'UNITE DE PRODUCTION PHYTOPLANCTONIQUE	 17.
1.3.1. - Les espèces	18.
1.3.2. - Mode de culture	21.
1.3.2.1. - Eau et filtration	21.
1.3.2.2. - Préparation des milieux de croissance algale	 22.
1.3.2.3. - Les repiquages	23.
1.3.2.4. - Les paramètres de la croissance algale	 25.
1.3.2.4.1. - La température ..	25.
1.3.2.4.2. - La salinité	26.
1.3.2.4.3. - L'aération	26.

1.3.2.4.4.	- La lumière	27.
1.3.2.4.5.	- Le gaz carbonique .	28.
1.3.3.	- Application du système à la nutrition larvaire	28.
1.3.3.1.	- Etude de la croissance algale .	30.
1.3.3.1.1.	- Matériel et méthode	30.
1.3.3.1.2.	- Résultats	33.
1.3.3.2.	- Système d'utilisation des cultures	45.
1.3.3.3.	- Remarques	49.
1.3.4.	- Application du système à la maturation des géniteurs	53.
1.4.	- L'UNITE D'ELEVAGE LARVAIRE	54.
1.4.1.	- Matériel	54.
1.4.2.	- Pontes et fécondations	55.
1.4.3.	- Techniques d'élevages larvaires	59.
1.4.3.1.	- Densité larvaire et volume d'élevage	59.
1.4.3.2.	- Renouvellement de l'eau des élevages	59.
1.4.3.3.	- Température	60.
1.4.3.4.	- Autres facteurs physiques	60.
1.4.3.5.	- L'alimentation	61.
1.4.3.6.	- Précautions bactériologiques .	62.
1.4.4.	- Protocoles d'études et de mesures	63.
1.4.4.1.	- Expériences d'écophysiologie .	65.
1.4.4.1.1.	- Durée des expériences	65.
1.4.4.1.2.	- Taux de fécondation et de mortalité	66.
1.4.4.1.3.	- Croissance et analyse démographique	66.

1.4.4.2.	- Expériences de molysmologie ...	67.
1.4.4.2.1.	- Les précautions nécessaires	67.
1.4.4.2.2.	- Choix du toxique et de l'espèce	68.
1.4.4.2.3.	- Durée des expériences et échelle des concentrations en toxique	69.
1.4.4.2.4.	- Traitement des oeufs et des larves	69.
1.4.4.2.5.	- Observations	70.

CHAPITRE II : ACTION DE CERTAINS COMPOSES ANTISALISSURES
SUR LA FECONDATION ET LA VIE LARVAIRE DE
CRASSOSTREA GIGAS.

2.1.	- ACTION DE L'ACETATE DE TRIBUTYLE ETAIN	75.
2.1.1.	- Matériel et méthode	75.
2.1.2.	- Résultats	77.
2.1.2.1.	- Action d'un traitement permanent de T.B.T. à partir de la fécondation	77.
2.1.2.2.	- Action d'un traitement permanent de T.B.T. à partir du stade véligère	81.
2.1.2.3.	- Action d'un traitement temporaire de T.B.T. sur des gamètes	83.
2.1.3.	- Discussion	87.
2.1.4.	- Conclusion	89.

	<u>PAGE.</u>
2.2. - ACTION DU CHLORURE DE CUIVRIQUE.....	89.
2.2.1. - Matériel et méthode	90.
2.2.2. - Résultats	91.
2.2.2.1. - Action d'un traitement permanent de chlorure de cuivre à partir de la fécondation	91.
2.2.2.2. - Action d'un traitement permanent de chlorure de cuivre à partir du stade véligère	96.
2.2.3. - Discussion	98.
2.2.4. - Conclusion	102.
2.3. - APPLICATION A L'ETUDE DE LA "QUALITE BIOLOGIQUE" DE L'EAU DU PORT DE PLAISANCE DU BASSIN D'ARCACHON	103.
2.3.1. - Matériel et méthode	104.
2.3.2. - Résultats	105.
2.3.3. - Discussion et Conclusion	112.

CHAPITRE III : DEVELOPPEMENTS LARVAIRES DES HUITRES DU
BASSIN D'ARCACHON EN EAU DU BASSIN D'ARCACHON.
INFLUENCE DE LA TEMPERATURE. 114.

3.1. - EXPERIENCES REALISEES AVEC DES LARVES PRODUITES EN ECLOSERIE	115.
3.1.1. - Caractéristiques des larves issues de géniteurs du bassin d'Arcachon	115.
3.1.1.1. - Caractéristiques des larves issues de géniteurs du bassin d'Arcachon maturés à l'extérieur	116.

3.1.1.2. - Caractéristiques des larves issues de géniteurs du bassin d'Arcachon maturés dans le bassin	120.
3.1.2. - Caractéristiques des larves élevées en eau du bassin prélevée en différents secteurs	124.
3.1.3. - Caractéristiques des larves issues des géniteurs du bassin maturés dans le bassin d'Arcachon et élevées en eau du bassin prélevée en différents secteurs	130.
3.1.4. - Discussion	134.
3.2. - EXPERIENCES REALISEES AVEC DES LARVES RECOLTEES DANS LE BASSIN D'ARCACHON	135.
3.2.1. - Caractéristiques des larves issues des géniteurs du bassin et élevées en eau du bassin et de l'Océan	136.
3.2.2. - Développement de populations larvaires soumises à une basse température	140.
3.2.3. - Développement larvaire en écloserie de véligères récoltées dans le milieu à l'âge de 2 jours et 4 jours en eau du bassin prélevée au moment de la ponte	144.
3.3. - DISCUSSION	149.
<u>CONCLUSION GENERALE</u>	153.
<u>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</u>	156.

I N T R O D U C T I O N

Centre autonome de production, d'élevage et de commercialisation, le bassin d'Arcachon assurait ces dernières années une part non négligeable de l'approvisionnement en naissain d'huîtres creuses des régions conchylicoles du littoral septentrional et méditerranéen de la France.

Deux facteurs étaient à l'origine de cette activité :

- un potentiel de production élevé, environ 5 milliards de naissain, ce qui correspond à 30 écloseries industrielles, type S.A.T.M.A.R. -Normandie- d'après les données de Lelarge (1980).
- un naissain de très bonne qualité, grâce au captage effectué sur tuiles chaulées, et d'un poids moyen unitaire élevé, (environ 5 g) nettement supérieur à ce qui est obtenu en écloserie malgré un prégrossissement en nourricerie (His, communication personnelle).

La reproduction naturelle se déroulait de façon satisfaisante lorsque la température de l'eau se situait au voisinage de 22°C et au-dessus (His, 1973).

Au cours de l'été 1976, à la suite d'un frai massif dans les chenaux du secteur continental du bassin d'Arcachon, les véligères au stade D, normalement constituées, ne se développaient pas (photo 1). Ainsi le stock important de jeunes larves (300.000/m³) disparaissait peu à peu sans qu'aucune croissance significative ne soit observée. Parallèlement à ce défaut de croissance, les véligères étaient peu colorées et présentaient un aspect grisâtre.

La température de l'eau avoisinant 26°C, les phénomènes étaient attribués soit à un déséquilibre du milieu, soit à l'action d'agents pathogènes, soit encore à un développement insuffisant du nannoplancton spécifique de l'alimentation des véligères (His, 1976).

Dès l'été 1977, le phénomène se généralisait à l'ensemble de la baie. Ces anomalies persistaient jusqu'à la saison de reproduction de 1982, soit 5 années consécutives.

Ce travail tentera d'expliquer les échecs répétés de la reproduction naturelle dans le bassin d'Arcachon. Les hypothèses suivantes ont été émises :

- mauvaise "qualité" des larves issues des géniteurs du bassin d'Arcachon ;
- mauvaise "qualité biologique" de l'eau en liaison avec l'accumulation possible de toxiques pendant la période de maturation des géniteurs, soit par les larves pendant la période de reproduction.
- conditions thermiques estivales peu favorables depuis 1977.

Seuls des élevages expérimentaux en milieu contrôlé permettaient d'étudier les problèmes posés (Lucas, 1975).

Afin de mettre au point un outil de travail fiable, des expériences ont été réalisées au niveau des différentes unités de l'écloserie et les résultats les plus favorables ont été retenus et appliqués ultérieurement en routine.

Le comportement de populations larvaires de *Crassostrea gigas* placées en milieu pollué a été analysé afin d'appréhender le problème de la "qualité biologique" de l'eau du bassin d'Arcachon. L'augmentation sensible de l'activité de plaisance, s'accompagnant d'une forte utilisation des peintures antisalissures dans le bassin d'Arcachon a conduit à orienter cette étude sur l'action de certains de ces composants sur la fécondation, les développements embryonnaires et larvaires de *Crassostrea gigas*.

Enfin les caractéristiques des véligères produites en éclosérie ou prélevées dans le bassin d'Arcachon et placées en laboratoire sous différentes conditions expérimentales ont été étudiées.

Les premiers travaux ont débuté lors de la saison de reproduction de 1980 mais la plupart des études rapportées ici ont été réalisées en 1981.

CH A P I T R E I .

MISE EN PLACE D'UNE ECLOSERIE EXPERIMENTALE.

C H A P I T R E I .

MISE EN PLACE D'UNE ECLOSERIE EXPERIMENTALE.

Qu'elles soient industrielles, semi industrielles ou expérimentales, les écloséries possèdent généralement trois unités types : l'unité de conditionnement, l'unité de production phytoplanctonique et l'unité d'élevage larvaire (Drinnan et Parkinson, 1967). Pour se priver de la première il faut, soit travailler uniquement pendant la saison de reproduction, c'est à dire environ trois mois dans l'année en ce qui concerne *Crassostrea gigas* dans le bassin d'Arcachon, ou prélever dans la nature des animaux dont la maturité sexuelle est permanente à toute époque de l'année. C'est le cas de *Mytilus edulis* en rade de Brest (Lucas, 1975). Ne pouvant satisfaire à ces conditions nous avons mis en place, au laboratoire de l'I.S.T.P.M. d'Arcachon, une éclosérie comprenant les trois unités.

1.1. DISPOSITIF GENERAL.

Le laboratoire ne possède pas d'eau de mer courante. Les prélèvements sont réalisés dans des bidons en matière plastique de 20 litres et transportés au laboratoire. L'eau est stockée dans des cuves de réserve

en plastique dur, couvertes, d'une capacité moyenne de 800 litres. Les prélèvements sont effectués dans différents secteurs du bassin d'Arcachon et en haute mer. L'eau de l'Océan, à priori exempte de tout polluant sert d'eau de référence et est utilisée pour les tests de molysmologie. Quatre cuves de stockage ont été utilisées, chacune ayant une fonction bien établie et non permutable : 1 cuve pour l'eau de l'Océan, 3 pour celle du bassin dont une constitue la réserve d'eau pour la préparation des milieux de croissance algale. L'eau est utilisée rapidement et au bout de 20 à 30 jours la cuve est vidée, nettoyée et remplie à nouveau.

D'autre part, le transport et le stockage de l'eau utilisée pour le conditionnement des géniteurs sont réalisés dans des bidons en matière plastique de 30 litres. Celle-ci est prélevée à l'Institut de Biologie Marine d'Arcachon ou par moto-pompe dans le bassin d'Arcachon (Figure 1).

L'ensemble du matériel a été préalablement amariné pendant plus d'un mois. Le bon fonctionnement des trois unités de l'écloserie, que nous allons décrire, nécessite une très grande propreté. L'ensemble du matériel utilisé, à savoir de la simple pipette ou tuyau, au ballon de 6 litres est lavé avec un savon biodégradable, abondamment rincé, séché. La verrerie est stérilisée au four Pasteur à 170° pendant 2 heures. Les milieux de culture des algues, utilisées pour la nutrition des larves, sont autoclavés à 120°C pendant 20 minutes (Walne, 1966).

1.2. L'UNITE DE CONDITIONNEMENT.

Le conditionnement des mollusques bivalves a pour but d'étendre la période de reproduction au delà de leur période naturelle, permettant ainsi de réaliser des pontes et élevages larvaires presque toute l'année.

La gamétogénèse de la plupart des bivalves peut être accélérée ou ralentie en fonction de la température de l'eau de mer baignant les géniteurs (Loosanoff et Davis, 1950, 1951, 1952 a, 1952 b, 1963).

1.2.1. LES GENITEURS.

Des *Crassostrea gigas* ont été régulièrement prélevées en milieu naturel. Leur maturation était obtenue en laboratoire. L'origine des *Crassostrea gigas* fut variée : Cancale (Bretagne), Saint Vaast la Hougue (Normandie), La Rochelle (Charente Maritime), La Tremblade (Charente Maritime), Arcachon (Gironde). Dans le bassin d'Arcachon, les huîtres ont été prélevées dans différents secteurs (Figure 1).

L'état initial de maturité sexuelle

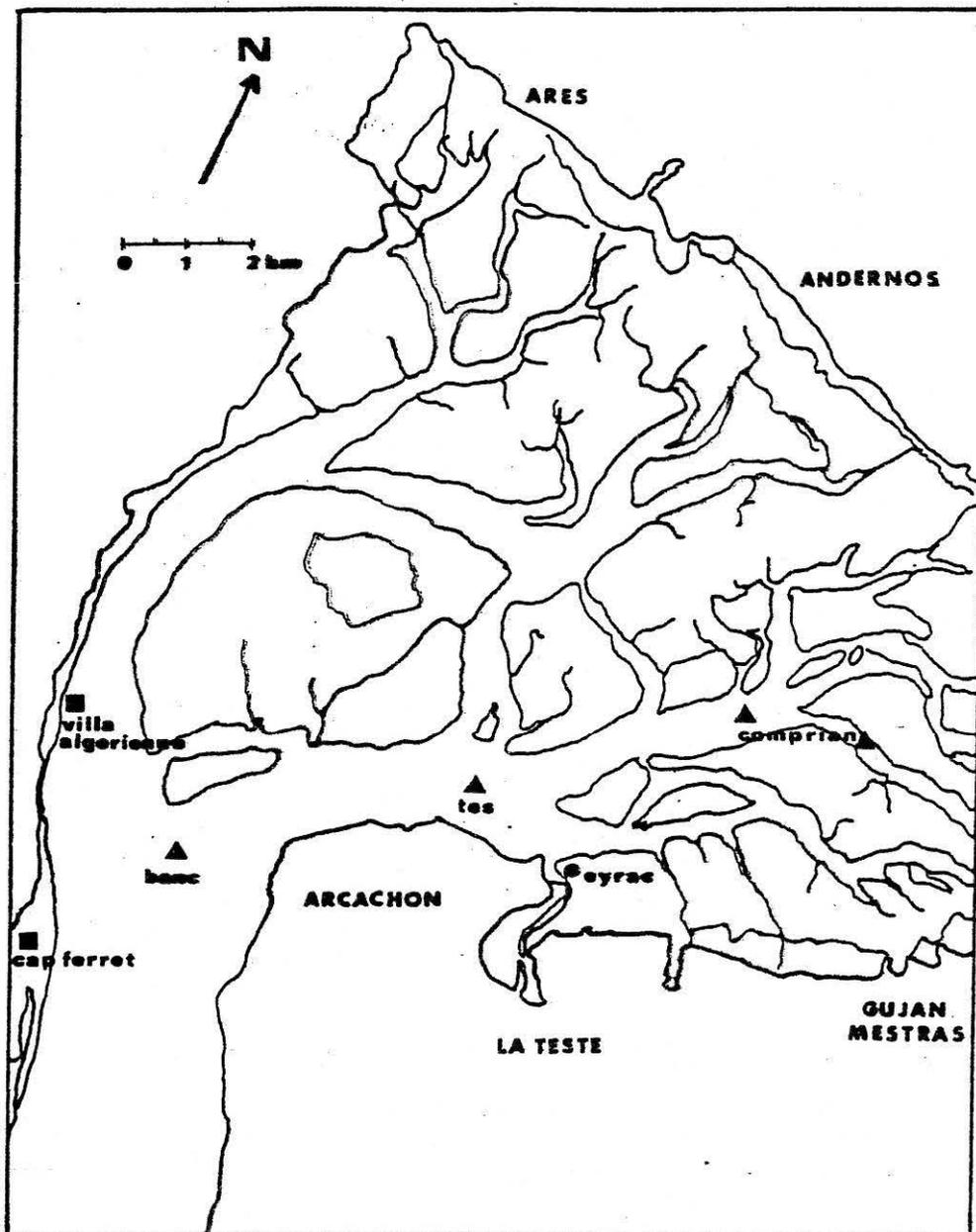


FIG 1 : carte des lieux de prélèvement des géniteurs du bassin (■), de l'eau utilisée pour la maturation (●) et pour les élevages larvaires (▲) .

a été estimée visuellement par l'ouverture de quelques individus et l'observation du volume de leur glande génitale et, occasionnellement, par mesure de l'index de condition K (Walne, 1966; Gabbot et Stephenson, 1974).

$$K = \frac{\text{Poids sec de la chair du mollusque}}{\text{capacité intervalvaire}} \times 1000$$

où la capacité intervalvaire correspond au volume total moins le volume de la coquille.

Celui-ci était en moyenne égal à 90, c'est à dire que les géniteurs étaient d'assez bonne "qualité" si nous prenons comme échelle celle définie par Walne (1974).

Des individus âgés de 3 à 5 ans ont été retenus car les vieilles huîtres succombent fréquemment lors de la maturation en laboratoire (Wilson, 1981). D'autre part, la longueur moyenne des individus à maturer était comprise entre 50 et 150 mm où environ $1/3$ du lot était constitué d'huîtres de 50 à 80 mm. En effet, il existe une forte proportion de mâles chez les jeunes individus de *Crassostrea gigas* (Mann, 1979).

A leur arrivée au laboratoire les huîtres sont débarrassées de leurs épibiontes. La "qualité" du stock est estimée et les géniteurs sont sélectionnés.

Chaque lot, constitué de 12 à 15 individus, est placé quelques jours dans l'unité de stockage avant d'être transféré dans les différents bacs où leur date d'immersion est notée.

1.2.2. LES CIRCUITS FERMES.

Le conditionnement s'est fait en circuit fermé. Cette unité, inspirée de celle de GERARD (1978) est constituée de 5 bacs plastiques, ouverts, rectangulaires, d'un volume de 40 litres. Un système de trop plein, réalisé avec des prises d'eau latérales, assure l'évacuation de l'eau qui s'effectue par simple gravité. Celle-ci est alors épurée sur un filtre de sable d'une capacité de 30 litres. Après filtration, l'eau est reprise par un air lift. Celui-ci est par la suite renforcé par une pompe péristaltique Masterflex assurant ainsi le retour de l'eau dans les bacs. Pour pallier les irrégularités de fonctionnement, le filtre est muni d'un système de trop plein qui se déverse à l'extérieur du laboratoire.

Afin d'accélérer la gamétogénèse, 2 bacs sont maintenus en permanence à la température de $21^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ au moyen de résistances électriques thermostatées de type aquarologie. La gamétogénèse des géniteurs peut être retardée dans deux autres bacs maintenus à la température de $15^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ au moyen d'un groupe refroidisseur Heim branché sur le circuit d'alimentation d'eau. Ces deux bacs peuvent également être momentanément utilisés comme unité de stockage. Dans ce cas, le refroidisseur

est arrêté et la température de l'eau est la température ambiante. Le cinquième bac polyvalent est connecté soit au circuit chaud, soit au circuit froid. Une rangée de diffuseurs alimentés par un compresseur électrique, assure le brassage et l'homogénéisation de l'eau dans les bacs. Avant sa diffusion, l'air comprimé est épuré sur cartouche Whatman de porosité 1 μm . Cette unité est schématisée dans la figure 2 et photo 2.

Si l'utilisation d'un filtre biologique assure une épuration satisfaisante de l'eau de mer, un changement hebdomadaire de celle-ci est cependant nécessaire. Les déchets azotés dûs à l'excrétion des animaux, constituent un facteur défavorable en eau stagnante ou recyclée (Lucas, 1978). D'autre part, à moyen ou long terme, l'adjonction quotidienne de phytoplancton peut modifier la qualité originelle de l'eau de mer. Pour ce faire, les bacs sont vidés par siphonage, nettoyés et de nouveau remplis avec de l'eau de mer brute, fraîchement prélevée.

Afin d'éviter des chocs thermiques, les différents lots de géniteurs sont maintenus émergés 2 à 3 heures jusqu'à ce que l'eau des bacs soit à la température désirée. Il n'apparaît pas nécessaire d'augmenter la fréquence de renouvellement de l'eau car la teneur en ammoniacque reste peu élevée au bout d'une semaine. Ces contrôles sont réalisés au moyen d'un test nitrate-nitrite.

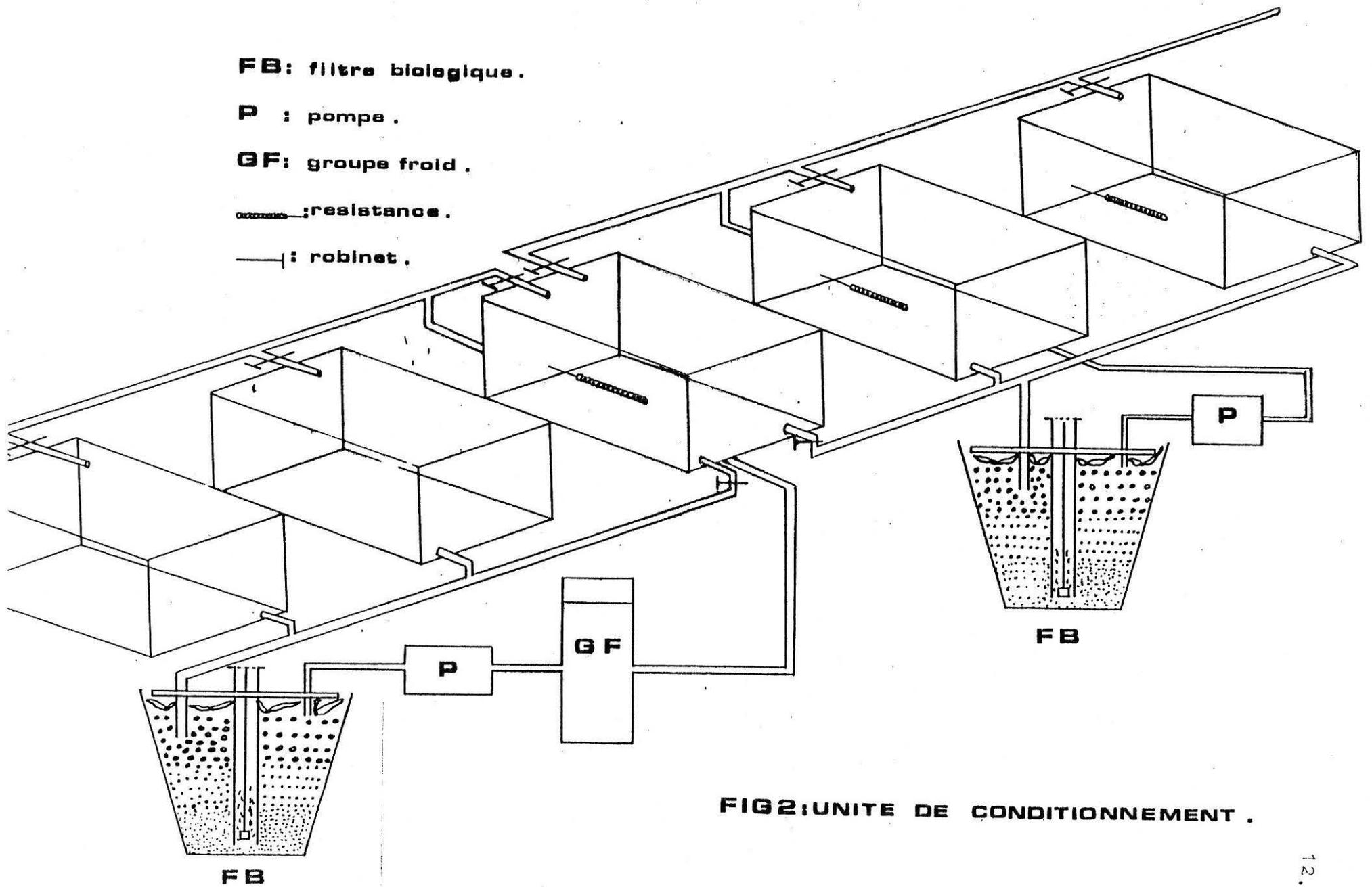


FIG2:UNITE DE CONDITIONNEMENT .

1.2.3. LES PARAMETRES DU CONDITIONNEMENT.

1.2.3.1 LA TEMPERATURE.

La gamétogénèse chez *Crassostrea gigas* se déroule d'une façon très satisfaisante à la température de 21°C. A la température de 15°C, celle-ci est fortement ralentie (Mann, 1979). Ces températures ont été appliquées pour assurer le conditionnement. Quelle que soit la température de l'eau au moment de la récolte des huîtres, les géniteurs sont transférés à 21°C ou 15°C. Cependant, afin d'éviter un stress trop brutal, ceux-ci sont maintenus quelques jours dans l'unité de stockage. Le bon fonctionnement des résistances et du groupe refroidisseur est vérifié par lecture directe de la température sur des thermomètres immergés en permanence dans les bacs de conditionnement.

Le système est fiable, mais un contrôle bi-journalier est nécessaire car un dérèglement des appareils entraînerait assez rapidement la perte des stocks.

1.2.3.2. LA SALINITE.

L'influence de la salinité, lors du conditionnement des géniteurs de *Crassostrea gigas*, sur la croissance des véligères issues de ces derniers, a été étudiée par Helm et Millican (1977). Ainsi le stock larvaire, conduit à la salinité de 24‰ et à la température de 24°C, issu de géniteurs conditionnés à la salinité de 30,9 ± 1,4‰ présente une bien meilleure croissance que des larves conduites selon le même

protocole expérimental, mais issues de géniteurs de même origine maturés à la salinité de $26,1 \pm 1,2\text{‰}$. De ce fait, la salinité de l'eau dans les bacs de conditionnement est maintenue entre 30 et 33‰.

1.2.3.3. L'ALIMENTATION.

De bonnes conditions nutritionnelles sont nécessaires pour maturer les géniteurs des mollusques bivalves (Matthiessen et Toner, 1966; Bayne et Thompson, 1970; Pruder et al., 1977) et un apport alimentaire apparaît indispensable même dans un système de conditionnement ouvert. (Lubet, 1959; Gabbot et Walker, 1971).

La nutrition est un paramètre limitant la maturation et semble intervenir également sur la qualité des stocks larvaires issus des géniteurs. Ainsi des larves d'*Ostrea edulis* présentent une croissance plus rapide lorsque les huîtres en cours de maturation dans un circuit ouvert reçoivent un apport supplémentaire en phytoplancton (Helm et al., 1973).

Pour assurer la maturation de *Crassostrea gigas*, l'alimentation doit être au moins de 6%, exprimé en poids sec algal, du poids moyen sec de la chair des géniteurs, par jour. (Helm et Millican, 1977; Wilson, 1981).

Dans les conditions expérimentales du laboratoire, ceci correspond à un apport moyen journalier de 5 à 10 litres de cultures algales par bac. Lorsque les géniteurs

sont maintenus à la température de 15°C, seuls 3 à 5 litres de phytoplancton sont journalièrement apportés par bac en accord avec la diminution du taux de filtration des huîtres (Walne, 1974; Mann, 1979).

Si la nature du phytoplancton varie selon sa disponibilité, deux algues sont principalement utilisées en routine. Il s'agit de *Pavlova lutheri* et *Platymonas suecica* dont les concentrations moyennes au moment de leur utilisation sont respectivement égales à 8×10^6 \varnothing /ml et 9×10^5 \varnothing /ml. Plus récemment une diatomée, *Skeletonema costatum* est employée en remplacement de *Pavlova lutheri*.

Certains mollusques bivalves peuvent s'adapter physiologiquement à la quantité de nourriture présente dans leur environnement (Tenore et Dunstan, 1973), ainsi qu'à un apport discontinu en phytoplancton (Thompson et Bayne, 1972; Morton, 1973; Owen, 1974).

Ainsi l'apport de cultures algales est quotidiennement réalisé vers 9 heures le matin. La circulation de l'eau est d'abord arrêtée et 10 litres sont prélevés dans chacun des bacs par simple siphonage. Le phytoplancton est alors distribué.

Vers 11 h - 12 h, quand l'eau est redevenue claire, la circulation est de nouveau rétablie.

1.2.3.4. AUTRES FACTEURS.

Le contrôle du pH dans les bacs de conditionnement, réalisé pendant un mois au moyen d'un pH mètre enregistreur, a permis de constater que dans son

ensemble ce facteur variait peu.

Les seules modifications notables ont été observées au moment de l'apport en phytoplancton mais un retour au pH d'origine est obtenue peu de temps après le déclenchement de la circulation de l'eau.

D'autre part, du fait de l'installation de cette unité à proximité de grandes fenêtres, les géniteurs sont soumis aux fluctuations nycthémérales.

1.2.4. RESULTATS.

La durée du conditionnement dépend de l'état sexuel initial des géniteurs lors de leur récolte dans la nature. Lorsque ceux-ci sont en début de gamétogénèse (période hivernale), la maturité sexuelle peut être induite au laboratoire en 6 semaines. Au fur et à mesure de l'approche de la saison de ponte dans le milieu, le délai nécessaire se raccourcit. Ainsi en juin celui-ci n'est que de 2 semaines. Afin de vérifier l'état d'avancement du stock, une tentative de ponte est effectuée avec 3 ou 4 individus.

Selon la rapidité et l'intensité des émissions, ainsi que la "qualité" des gamètes émis, le stock de géniteurs est rapidement utilisé ou maintenu 1 à 3 semaines supplémentaires dans l'unité de conditionnement.

Les mortalités sont restées très faibles et peuvent être estimées sur l'ensemble des stocks conditionnés à 3%.

Bien que les critères de sélection des lots à maturer paraissent empiriques, un couple parental dont les gamètes étaient de bonne "qualité" a toujours pu être choisi au moment de la ponte. Seul un lot n'a pas répondu à ces exigences. Celui-ci, originaire de St. Vaast la Hogue, était constitué à 100% de femelles.

Les résultats dans leur ensemble furent satisfaisants. Cependant, le conditionnement des géniteurs en période automnale s'est révélé délicat, ce qui confirme les résultats obtenus par Wilson (1981). Par contre les problèmes de surmaturation qui affectent généralement des géniteurs prélevés peu de temps avant leur ponte naturelle dans le milieu ont rarement été rencontrés.

1.3. L'UNITE DE PRODUCTION PHYTOPLANCTONIQUE.

Elle assure la production de nourriture nécessaire au développement larvaire et à la maturation des géniteurs. C'est une des premières étapes à maîtriser (Le Borgne, 1977).

Bien que des progrès aient été réalisés dans les techniques de conservation du phytoplancton, lyophilisation par exemple, et que des résultats encourageants aient été obtenus dans leur utilisation comme source de nutrition larvaire (Hidu et Ukeless, 1964; Griffitch et al., 1973; Meyers, 1973; Tsuru, 1973) seules, à l'heure actuelle, les algues unicellulaires vivantes de culture présentent les caractéristiques nécessaires pour l'alimentation des larves de mollusques (Masson, 1977).

La production phytoplanctonique, mise au point au laboratoire, est adaptée des méthodes décrites par Loosanoff et Davis (1963) et Walne (1966).

1.3.1. LES ESPECES.

"L'espèce algale choisie dans une éclosérie dépend de l'utilisation que l'on veut en faire, de la facilité avec laquelle on peut se la procurer, de la facilité avec laquelle elle peut être cultivée et enfin, de sa qualité nutritive" (Flassch, 1978). Imai (1977), faisant une synthèse des différents travaux réalisés jusqu'à cette époque, dresse une liste des algues utilisées avec succès en ce qui concerne l'élevage larvaire de mollusques.

Dans un rapport présenté au "Cost Mariculture Working Group", Avril 1978, Walne dresse, après enquête auprès de 10 écloséries commerciales, une liste des algues couramment employées et les classe selon leur fréquence d'utilisation. Le même type de travail a été réalisé par Lucas (1980) auprès de 8 écloséries européennes et nord-américaines. Si l'on exprime ces fréquences en pourcentage, on obtient le Tableau 1 suivant.

Bien que les écloséries contactées n'aient pas le même type de production de pélécy-podes, on constate qu'*Isochrysis galbana* et *Pavlova lutherii* sont préférentiellement employées.

E S P E C E S	Fréquence d'utilisation exprimée en % d'après Lucas (1980).	Fréquence d'utilisation exprimée en % d'après Walne (1978).
<i>Isochrysis galbana</i>	75	80
<i>Pavlova (Monochrysis) lutheri</i>	62,5	70
<i>Cyclotella nana</i>	62,5	0
<i>Pseudoisochrysis paradoxa</i>	62,5	50
<i>Pyramimonas virginica</i>	37,5	0
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	37,5	40
<i>Platymonas (Tetraselmis) suecica</i>	25	60
<i>Nannochloris oculata</i>	25	0
<i>Dunaliella primolecia</i>	25	0
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	12,5	50
<i>Skeletonema costatum</i>	12,5	20
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	0	40
<i>Isochrysis tahiti</i>	0	20
<i>Chlamydomonas sp</i>	0	10
<i>Platymonas chui</i>	0	10
<i>Rhodomonas sp</i>	0	10
<i>Pyramimonas akovata</i>	0	10

TABLEAU I : FREQUENCES D'UTILISATION DES DIFFERENTES
ESPECES PHYTOPLANCTONIQUES EN ECLOSERIE
COMMERCIALE.

Pseudoisochrysis paradoxa est également utilisée dans des proportions comparables. Viennent ensuite *Chaetoceros calcitrans* et *Platymonas suecica* et enfin *Phaeodactylum tricornutum* et *Skeletonema costatum*.

On pourrait penser que ces fréquences d'utilisation sont principalement fonction de la qualité nutritive des algues. En fait, ce critère est vraiment délicat à apprécier.

Wilson (1978) en expérimentant sur *Ostrea edulis* et *Crassostrea gigas* montre que *Phaeodactylum tricornutum*, sous ces trois formes cellulaires, considérée jusqu'alors par la plupart des auteurs comme médiocre, permet une croissance larvaire comparable à celle obtenue avec *Isochrysis galbana*.

Newkirk et Waugh (1980) démontrent que *Pavlova lutherii* a une faible qualité nutritive pour des véligères de *Mytilus edulis*, s'opposant ainsi à des résultats pourtant bien établis.

Afin d'assurer la maturation des géniteurs et une croissance larvaire satisfaisante et reproductible chez *Crassostrea gigas* et, pouvoir comparer nos résultats avec ceux obtenus par d'autres (Walne, 1970, 1974; Helm et Millican, 1977) *Isochrysis galbana* (Haptophyceae), *Chaetoceros calcitrans* (Baccilariophyceae), *Platymonas suecica* (Prasinophyceae) *Pavlova lutheri* (Haptophyceae) et *Skeletonema costatum* (Baccilariophyceae) ont été introduites au laboratoire.

L'une des sources potentielles de contamination bactérienne des élevages larvaires est le phytoplancton, d'où l'utilisation par certains auteurs de souches axéniques (Davis et Guillard, 1958; Ukeless, 1973).

Les résultats obtenus par Walne (1963, 1970) ont conduit à l'utilisation de souches non axéniques.

Cependant, le nombre de bactéries associées aux cultures d'algues dépend en partie de la densité initiale des inoculats en bactéries (Lucas, 1980). De ce fait, les souches ont été obtenues auprès de certaines écloseries utilisant celles-ci en routine pour la nutrition larvaire. Il s'agit de l'écloserie expérimentale du professeur Lucas, Brest, l'écloserie semi-industrielle de Conway, Pays de Galles, et l'écloserie industrielle de la S.A.T.M.A.R., Normandie.

1.3.2. MODE DE CULTURE.

La technique principalement employée est le bloom, quelque soit le volume des cultures. La technique en semi-continu est également appliquée.

1.3.2.1. EAU ET FILTRATION.

L'eau servant à la préparation des milieux est stockée 24 à 48 heures dans la salle d'élevage larvaire, dans des bidons en matière plastique de 20 litres. Elle est ainsi amenée progressivement à la température ambiante de $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. La salinité est abaissée par adjonction d'eau distillée.

Le dispositif de filtration monté dans la salle d'élevage larvaire a un double rôle (photo 3):

- filtration de l'eau pour la préparation des milieux de croissance algale.
- filtration de l'eau pour les élevages larvaires.

Une pompe électrique Sartorius entraîne l'eau utilisée à travers un système comprenant une préfiltration constituée de deux cartouches de type industriel Cuno de 5 et 0,2 μm . L'eau filtrée est utilisée sans aucun autre traitement - stérilisation, passage aux U.V., pasteurisation - pour la préparation des milieux en volumes de 33 à 120 litres, c'est à dire pour l'obtention du phytoplancton destiné aux géniteurs.

La rétention des particules sur ce matériel n'est cependant que de 80%. Aussi une filtration fine est réalisée sur membrane de Millipore de porosité 0,2 μm pour la préparation des cultures d'algues assurant la nutrition larvaire.

L'efficacité du système est contrôlée quotidiennement au compteur de particules. La filtration est considérée comme bonne lorsque le nombre moyen de particules supérieures ou égales à 2 μm , calculé sur un minimum de trois comptages est inférieur à 300. Sinon, la membrane et la prémembrane sont changées.

1.3.2.2. PREPARATION DES MILIEUX DE CROISSANCE ALGALE.

Afin d'assurer la croissance des populations algales, le milieu décrit par Walne (1966) a été utilisé.

L'eau de mer filtrée est enrichie en sels minéraux à raison de 1 ml/l de milieu de Conway avec adjonction supplémentaire de 2 ml/l de métasilicate pour le milieu de culture des diatomés.

Rappelons que toute la verrerie est stérilisée au four pasteur avant utilisation. Les erlenmeyers et les ballons sont obturés par un bouchon de coton cardé recouvert d'une capsule d'aluminium. Les milieux ainsi préparés sont stérilisés à l'autoclave à la température de 120°C pendant 20 minutes. L'obturation définitive des ballons de 6 litres ne peut être réalisée lors de la stérilisation, le bouchon en caoutchouc sautant lors de l'autoclavage. Celui-ci, muni de ses différentes tubulures, est autoclavé en même temps que le ballon. Son montage définitif est effectué à chaud, dès sa sortie de l'autoclave. Les différents embouts de caoutchouc prolongeant les tubulures sont alors pincés afin d'éviter la remontée du milieu dans les tubes lors de son refroidissement.

Les vitamines (B1 et B12) sont ajoutées stérilement 24 heures après. Les sels précipitant à l'autoclavage, les milieux ne sont utilisés qu'au bout de 72 heures, après brassages manuels journaliers. Ils sont stockés dans la salle d'algue, et dans la salle d'élevage larvaire.

1.3.2.3. LES REPIQUAGES.

La croissance algale est réalisée selon le schéma classique des volumes croissants décrits par de nombreux auteurs (Le Roux, 1975; Lucas et al., 1976; Pouvreau, 1977; Flassch, 1978).

Les souches mères servent de point de départ à la production phytoplanctonique une fois tous les 2 mois en moyenne. Celles-ci sont conservées sur milieu liquide stagnant d'Erd-Schreiber à la température de $15^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ dans la salle d'algue. Cette température est obtenue en plaçant les erlenmeyers à proximité directe du climatiseur. Afin d'éviter la dégénérescence des populations algales, les souches mères sont repiquées une fois par mois.

Par T0 nous entendrons le jour du départ de la culture. Par T7, T14, ... nous entendrons la culture après 7 jours, 14 jours ... de croissance.

A T0, 50 ml de culture mère sont ensemencés stérilement dans un erlenmeyer de 500 ml contenant 250 ml d'Erd-Schreiber. Ce milieu est préféré à celui de Conway pour le lancement des cultures. En effet, après un certain nombre de repiquages, les algues que nous utilisons ont tendance à dégénérer lors de leur phase d'entretien (I. Laing, communication personnelle).

A T7, 50 ml de culture sont repiqués dans 250 ml d'Erd-Schreiber et 250 ml sont transvasés stérilement dans un erlenmeyer de 2 litres contenant 1 l de milieu de Conway.

A T14, 1.250 ml de culture servent d'ensemencement à un ballon de 6 litres contenant 4 l de milieu de Conway, volume à partir duquel la culture est utilisée pour la nutrition larvaire (photo 4).

A T21 ou T24, 1,5 l à 5 l de culture servent d'ensemencement à un cubitainer de 33 litres ou

un sac plastique de 80 à 120 l, volumes à partir desquels la culture est utilisée pour les géniteurs.

1.3.2.4. LES PARAMETRES DE LA CROISSANCE ALGALE.

Dans une unité de croissance phytoplanctonique contrôlée, il existe de nombreux paramètres qu'il faut connaître et maîtriser afin d'assurer non pas des records de productivité instantanée, mais des résultats reproductibles.

1.3.2.4.1. LA TEMPERATURE.

Bien que la température pour des divisions cellulaires optima varie selon les espèces phytoplanctoniques (Ukeless, 1961; Goldman et Ryther, 1976; Styron et al., 1976; Aquacoop, 1977; Flassch, 1978; Baynes et al., 1979; Laing et Helm, 1981), la salle d'algue est maintenue à la température moyenne de $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ par un climatiseur.

Des irrégularités de fonctionnement de l'appareil ayant causé en plusieurs occasions la perte presque totale de la production phytoplanctonique, la salle est équipée d'un deuxième climatiseur de secours.

1.3.2.4.2. LA SALINITE.

Chaque espèce algale possède ses propres exigences vis à vis de ce paramètre (Faveris, 1976; Styron et al., 1976; Faveris et Lûbet, 1978; Flassch, 1978). Les croissances d'*Isochrysis galbana* et *Platymonas suecica* sont améliorées lorsque les salinités sont respectivement comprise entre 15 - 25‰ et 25 - 30‰ (Laing et Utting, 1980). Une salinité de 15‰ permet une bonne croissance de *Chaetoceros calcitrans* (Laing, 1979).

L'eau de mer servant à la préparation des différents milieux est ramenée à la valeur moyenne de 25‰ + 1‰.

1.3.2.4.3. L'AERATION.

Le brassage des cultures facilite la dissolution des sels nutritifs et limite le dépôt des cellules algales.

Celui-ci est réalisé manuellement 2 fois par jour, pour les stades d'entretien et grossissement de la culture. Bien qu'une croissance plus rapide ait été observée lorsqu'un bullage permanent est maintenu, aucune aération n'est réalisée à ces stades.

Celle-ci n'est appliquée qu'au stade d'utilisation de la culture. De l'air comprimé, dont le débit peut être contrôlé par un double jeu de robinets,

est fourni par un compresseur électrique. L'air est épuré sur cartouches Whatman de 1 μm et 0,2 μm et sur coton stérile à son arrivée dans les ballons.

Un brassage manuel complémentaire est effectué 2 fois par jour pour *Platymonas suecica* car l'aération est insuffisante pour maintenir les cellules en suspension qui adhèrent alors aux parois des ballons freinant la diffusion de la lumière dans la culture.

1.3.2.4.4. LA LUMIERE.

La production extensive de phytoplancton est fortement dépendante de l'intensité lumineuse et de la durée de l'éclairage (Goldman et Ryther, 1976).

En laboratoire l'augmentation de l'intensité d'éclairement ainsi que l'élargissement du spectre lumineux entraînent une croissance plus rapide chez *Cyclotella nana* (Le Borgne et al., 1978).

La majorité des espèces présente une croissance optima à partir de 3000-4000 lux (Quraish et Spencer, 1971). *Platymonas suecica* est plus exigeante car son rendement optimum s'obtient autour de 10.000 lux (Flassch, 1978).

2 tubes néons de type Daylight, d'une longueur individuelle de 1,20 m. et d'une puissance de 40 W assurent un éclairage permanent de chacun des étages de la salle d'algue.

Afin de récupérer l'énergie diffusée dans les angles non utilisés, des réflecteurs en feuille d'aluminium ou plaque d'inox, ont été installés. D'autre part les néons, les erlenmeyers et ballons sont régulièrement nettoyés à l'alcool.

1.3.2.4.5. LE GAZ CARBONIQUE.

Le rôle d'un apport en CO₂ dans un système de production phytoplanctonique est sujet à des résultats très controversés (Myers et al., 1951; Hannan et Patouillet, 1963; Taub et Dollar, 1968; Grant et Turner, 1969; Ukeless, 1973; Taub, 1974; Le Borgne et al., 1978, Laing, et Helm, 1981).

Aucun dispositif d'injection de CO₂ dans les cultures n'est appliqué au laboratoire.

1.3.3. APPLICATION DU SYSTEME A LA NUTRITION LARVAIRE.

Isochrysis galbana et *Chaetoceros calcitrans* sont produites en routine au laboratoire. Ces algues sont apportées journalièrement aux élevages larvaires. Leur petite taille, 3 à 6 µm, fait qu'elles sont facilement ingérées par les jeunes véligères de *Crassostrea gigas* et ceci dès les premières 24 heures.

Platymonas suecica est également produite pour la nutrition des larves. Cependant, vu sa taille, 8 à 12 µm, elle ne peut être absorbée que par des larves

dont la taille est supérieure ou égale à 120 μm (Millican et Helm, 1973). Aussi elle n'est apportée quotidiennement qu'à partir du 8ème jour de vie larvaire. La qualité nutritive de *Pavlova lutheri* étant sujette à des résultats contradictoires (Davis et Guillard, 1958; Bayne, 1965; Fretter et Montgomery, 1968; Walne, 1974; Newkirk et Waugh, 1980), sa production à des fins de nutrition larvaire a été atténuée.

Afin d'éviter la contamination bactérienne des souches, des précautions simples mais permanentes sont adoptées. Elles ont été décrites pour la plupart précédemment et sont résumées de la façon suivante :

- stérilisation au four pasteur de toute la verrerie;
- filtration fine de l'eau et contrôle de sa qualité au compteur de particules;
- montage définitif des ballons à chaud;
- changement régulier des embouts en caoutchouc;
- adjonction stérile des vitamines conservées au réfrigérateur;
- utilisation rapide des milieux, un stockage limité est réalisé;
- repiquages réalisés stérilement;
- triple filtration de l'air assurant l'aération et le brassage des cultures,
- accès dans la salle d'algue limité aux seules personnes assurant l'entretien de celle-ci;
- propreté des mains du manipulateur.

Avant leur utilisation, des prélèvements algaux sont effectués pour observer sous lame creuse une éventuelle contamination (protozoaires, infusoires), la

monospécificité des souches, l'activité pour les algues mobiles, la taille des cellules. Lors de l'utilisation, les prélèvements sont effectués par simple siphonage. Après un prélèvement adéquat, le tube extérieur est "isolé" du ballon par une pince, vidé de son contenu algal, rempli d'alcool et fermé par un coton stérile.

1.3.3.1. ETUDE DE LA CROISSANCE ALGALE.

Afin de standardiser la production phytoplanctonique en ballon de 6 litres, en fonction des besoins déterminés par les élevages larvaires, une étude de la croissance algale de ces quatre espèces a été réalisée.

Ce type d'expérimentation consistait à mettre en production contrôlée, plusieurs cultures d'une même espèce jusqu'à l'obtention de la phase de déclin, correspondant à la sénescence des cellules. Pour être conduit rigoureusement, ce type de travail ne pouvait être mené parallèlement avec des élevages larvaires. Aussi une étude spécifique a été réalisée pendant deux mois, en fonction des paramètres physico-chimiques précédemment décrits.

1.3.3.1.1. MATERIEL ET METHODE.

Six cultures d'*Isochnysis galbana*, six cultures de *Chaetoceros calcitrans*, six cultures de *Platymonas suecica* et trois cultures de *Pavlova lutheri* ont été suivies. La concentration algale a été contrôlée

quotidiennement, ou tous les 2 jours au compteur de particules, ou à la cellule de Mallasez. Au moment des prélèvements et afin d'homogénéiser au mieux les populations, les cultures ont été vigoureusement brassées.

L'utilisation du compteur de particules pour l'étude de la croissance algale présente un intérêt certain lorsque celui-ci est couplé avec un diluteur automatique ainsi qu'un correcteur de coïncidence. Le diluteur automatique permet d'obtenir très rapidement et d'une façon fiable et reproductible, des dilutions au 1/100ème et 1/500ème. Le correcteur universel de coïncidence a pour propriété de corriger automatiquement pendant le comptage, les pertes de particules, dues au passage en coïncidence de celles-ci, au travers de l'orifice.

Sur un compteur de particules, non muni de ce dispositif, le facteur de correction "p" doit être calculé à partir de la formule suivante :

$$p = 2,5 \left(\frac{D}{100} \right)^3 \times \frac{500}{V}$$

où D présente le diamètre de l'orifice exprimé en microns et V le volume de particules. Ce facteur "p" permet de calculer le nombre de particules n" à ajouter au comptage lu sur l'écran du compteur de particules.

$$n'' = p \left(\frac{\bar{n}'}{1.000} \right)^2$$

où \bar{n}' représente le comptage moyen des particules.

L'utilisation du compteur de particules pour la détermination de la concentration d'algues monocellulaires a été décrite (Leroux, 1975). Il faut

cependant souligner que, pour une étude fiable de la concentration cellulaire, la culture à mesurer doit être parfaitement homogène. Ceci est obtenu avec des algues unicellulaires de faible poids, non ou peu mobiles, ne s'agrégeant pas entre elles, aux parois du bécher ou de l'acuvette. Nous avons obtenu des résultats fiables et reproductibles avec *Pavlova lutherii*, *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans*. Le contrôle de la croissance de *Platymonas suecica* au compteur de particules a été abandonné (la colonne d'analyse est rarement homogène) et est effectué à la cellule de Mallasez.

Quelle que soit la technique employée, la concentration algale est établie sur la moyenne de 4 comptages.

Pouvreau (1977) décrit le schéma type de la croissance algale et précise les différents paramètres intervenant à chacune des phases.

Outre l'étude de la vitesse de croissance, la durée des phases exponentielles et stationnaires et la durée de maintien de cette dernière, ont été déterminées pour chaque algue. Les souches ont été suivies sur une période de 40 à 50 jours et les courbes de croissance moyenne et maxima ont été établies. La courbe de croissance moyenne a été représentée à partir des valeurs moyennes des différentes souches aux différentes dates. Les valeurs correspondant à la culture qui a poussé le mieux ont permis l'établissement de la croissance maximum.

1.3.3.1.2. RESULTATS.ISOCHRYSIS GALBANA.

La croissance moyenne (Tableau II, figure 3) permet de dégager :

- une phase d'adaptation brève (2 jours);
- une phase exponentielle d'une durée de 11 jours. La concentration algale passe de : $1,60 \times 10^6$ ϕ /ml à $1,60 \times 10^7$ ϕ /ml, soit un facteur multiplicatif de 10,
- une phase stationnaire très importante (36 jours);
- la phase de déclin n'est pas atteinte au bout de 49 jours de croissance.

Sa croissance maximum (Tableau III, figure 3) permet de dégager :

- une phase d'adaptation brève (3 jours);
- une phase exponentielle d'une durée de 11 jours;
- la phase stationnaire ne peut être déterminée avec précision, cette souche ayant été détruite accidentellement; celle-ci dure au moins 7 jours;
- la phase de déclin n'est pas atteinte au bout de 21 jours de croissance.

TEMPS EN JOURS	NOMBRE DE CELLULES PAR MILLILITRE			
	<i>ISOCHRYSIS GALBANA</i>	<i>CHAETOCEROS CALCITRANS</i>	<i>PSEUDOMONAS SUECICA</i>	<i>PAVLOVA LUTHERI</i>
0	---	$1,00 \times 10^6$	---	---
1	$1,20 \times 10^6$	---	$2,70 \times 10^5$	$1,00 \times 10^6$
2	$1,60 \times 10^6$	$3,50 \times 10^6$	$3,00 \times 10^5$	---
3	$2,80 \times 10^6$	---	$3,10 \times 10^5$	---
4	$4,70 \times 10^6$	$1,00 \times 10^7$	$4,30 \times 10^5$	$5,00 \times 10^6$
5	$6,60 \times 10^6$	---	---	---
6	$8,20 \times 10^6$	$1,50 \times 10^7$	---	$6,20 \times 10^6$
7	$1,00 \times 10^7$	---	$9,60 \times 10^5$	---
8	$1,12 \times 10^7$	$1,70 \times 10^7$	---	$8,50 \times 10^6$
9	---	---	$1,30 \times 10^6$	---
10	---	---	---	---
11	$1,42 \times 10^7$	$2,00 \times 10^7$	$1,65 \times 10^6$	$1,05 \times 10^7$
12	---	---	$1,88 \times 10^6$	---
13	$1,60 \times 10^7$	$2,00 \times 10^7$	$2,00 \times 10^6$	$1,30 \times 10^7$
14	---	---	$2,30 \times 10^6$	---
15	$1,65 \times 10^7$	$2,10 \times 10^7$	---	$1,35 \times 10^7$
16	---	---	$2,60 \times 10^6$	---
17	---	---	---	---
18	$1,75 \times 10^7$	$2,20 \times 10^7$	---	$1,26 \times 10^7$
19	---	---	$2,50 \times 10^6$	---
20	$1,75 \times 10^7$	$2,40 \times 10^7$	---	---
21	---	---	$2,70 \times 10^6$	$1,00 \times 10^7$
22	$1,80 \times 10^7$	$2,20 \times 10^7$	---	---
23	---	---	$2,50 \times 10^6$	---
24	---	---	---	---
25	$1,85 \times 10^7$	$2,30 \times 10^7$	$2,70 \times 10^6$	---
26	---	---	---	---
27	$2,05 \times 10^7$	$2,40 \times 10^7$	---	---
28	---	---	$3,00 \times 10^6$	---
29	$1,70 \times 10^7$	$2,50 \times 10^7$	---	---
30	---	---	$2,50 \times 10^6$	---
31	---	---	---	---
32	$1,85 \times 10^7$	$2,50 \times 10^7$	$2,77 \times 10^6$	---
33	---	---	---	---
34	$2,00 \times 10^7$	$2,50 \times 10^7$	---	---
35	---	---	$2,60 \times 10^6$	---
36	$2,20 \times 10^7$	$2,20 \times 10^7$	---	---
37	---	---	$2,60 \times 10^6$	---
38	---	$1,80 \times 10^7$	---	---
39	$2,20 \times 10^7$	---	$2,60 \times 10^6$	---
40	---	---	---	---
41	$2,20 \times 10^7$	---	---	---
42	---	$1,80 \times 10^7$	---	---
43	$2,20 \times 10^7$	---	---	---
44	---	---	---	---
45	---	---	---	---
46	$2,30 \times 10^7$	---	---	---
47	---	---	---	---
48	---	---	---	---
49	$2,30 \times 10^7$	---	---	---

TABLEAU II: CROISSANCE MOYENNE EXPRIMEE EN CELLULES PAR MILLILITRE
OBSERVEE CHEZ QUATRE ALGUES MONOCYLLULAIRES DE CULTURE.

TEMPS EN JOURS	NOMBRE DE CELLULES PAR MILLILITRE		
	<i>ISOCHRYSIS GALBANA</i>	<i>CHAETOCEROS CALCITRANS</i>	<i>PSEUDOMONAS SUECICA</i>
0	---	$1,10 \times 10^6$	---
1	$1,00 \times 10^6$	$2,30 \times 10^6$	---
2	$1,90 \times 10^6$	$4,60 \times 10^6$	$2,50 \times 10^5$
3	$2,60 \times 10^6$	$9,00 \times 10^6$	---
4	$5,60 \times 10^6$	$1,40 \times 10^7$	$6,10 \times 10^5$
5	$7,30 \times 10^6$	$1,70 \times 10^7$	---
6	$8,50 \times 10^6$	$1,90 \times 10^7$	$1,10 \times 10^6$
7	$1,00 \times 10^7$	---	---
8	$1,20 \times 10^7$	$2,10 \times 10^7$	$1,30 \times 10^6$
9	$1,30 \times 10^7$	$2,20 \times 10^7$	$2,00 \times 10^6$
10	$1,45 \times 10^7$	$2,45 \times 10^7$	---
11	$1,70 \times 10^7$	$2,70 \times 10^7$	$2,80 \times 10^6$
12	$1,80 \times 10^7$	---	---
13	$1,90 \times 10^7$	---	$2,70 \times 10^6$
14	$2,00 \times 10^7$	$2,80 \times 10^7$	---
15	$2,00 \times 10^7$	---	$2,80 \times 10^6$
16	$2,10 \times 10^7$	$2,80 \times 10^7$	$2,80 \times 10^6$
17	$2,10 \times 10^7$	---	---
18	$2,10 \times 10^7$	$2,75 \times 10^7$	$3,70 \times 10^6$
19	---	---	---
20	---	---	$3,70 \times 10^6$
21	$2,10 \times 10^7$	$2,80 \times 10^7$	---
22	---	---	$3,50 \times 10^6$
23	---	$2,75 \times 10^7$	---
24	---	---	---
25	---	$2,80 \times 10^7$	$4,20 \times 10^6$
26	---	---	---
27	---	---	$4,20 \times 10^6$
28	---	$2,90 \times 10^7$	---
29	---	---	$3,22 \times 10^6$
30	---	$2,93 \times 10^7$	---
31	---	---	$3,70 \times 10^6$
32	---	$2,90 \times 10^7$	---
33	---	---	---
34	---	---	$3,90 \times 10^6$
35	---	$3,05 \times 10^7$	---
36	---	---	$4,80 \times 10^6$
37	---	$2,90 \times 10^7$	---
38	---	---	---
39	---	$2,90 \times 10^7$	---
40	---	---	---
41	---	---	---
42	---	$2,46 \times 10^7$	---
43	---	---	---
44	---	$2,20 \times 10^7$	---
45	---	---	---
46	---	$2,20 \times 10^7$	---
47	---	---	---
48	---	---	---
49	---	$2,20 \times 10^7$	---
50	---	---	---
51	---	$1,70 \times 10^7$	---

TABLEAU III : CROISSANCE MAXIMUM EXPRIMEE EN CELLULES PAR MILLILITRE
OBSERVEE CHEZ TROIS ALGUES MONOCELLULAIRES DE CULTURE.

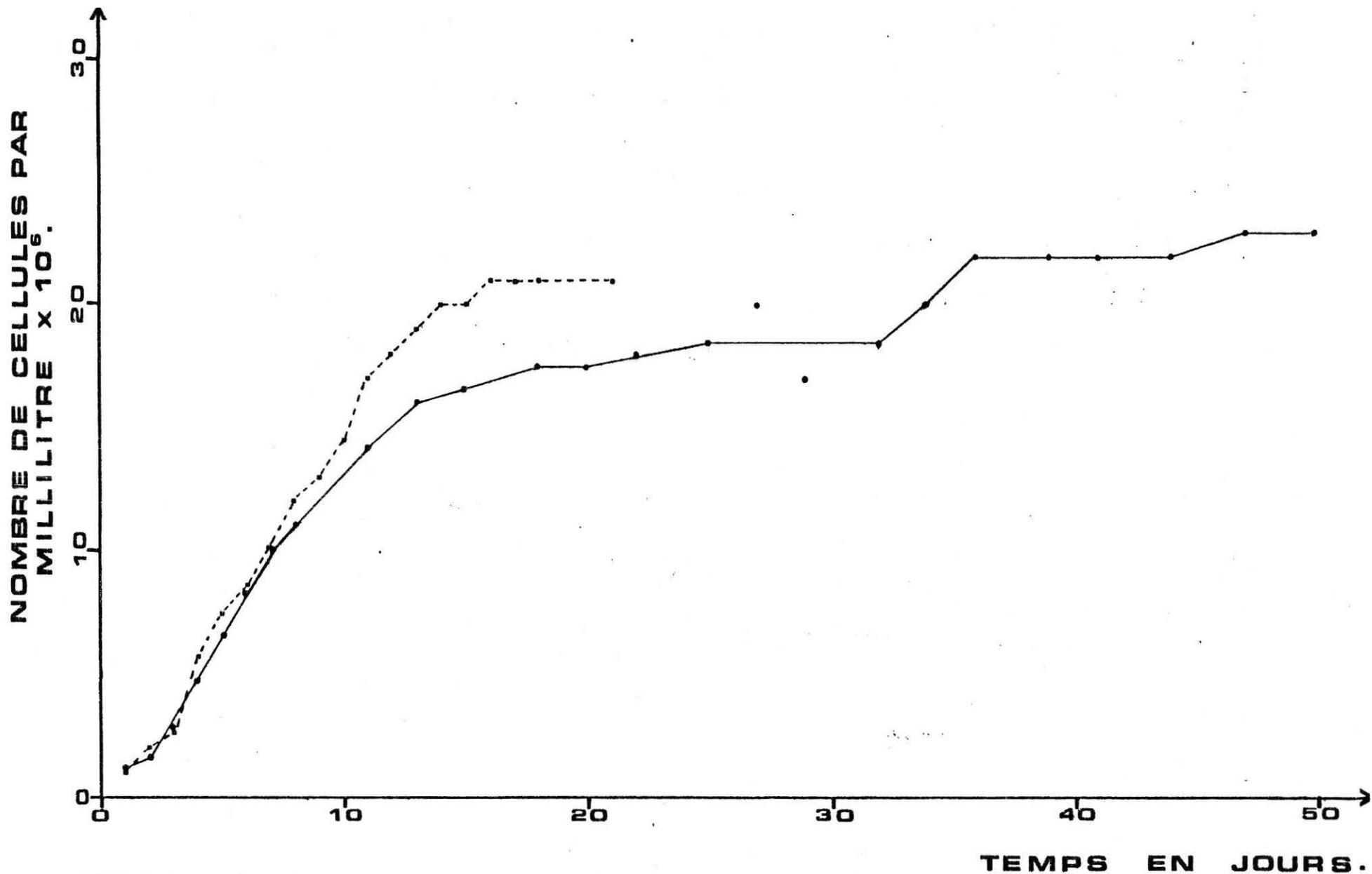


FIG 3: croissances moyenne — et maximum de *Isochrasis galbana*.

TEMPS EN JOURS.

La comparaison des 2 courbes permet d'établir :

- une phase d'adaptation brève, les fortes concentrations des inoculums de départ expliquent ce phénomène (Leroux, 1975);
- une phase exponentielle d'une même durée (11 jours).

Le facteur multiplicatif dans le cas de la croissance maximum est inférieur (rapport de 8) à celui de la croissance moyenne (rapport de 10). En réalité, ce phénomène est masqué par le fait que la phase d'adaptation de la croissance maximum n'est pas très évidente. Ainsi, du 1er jour où on peut considérer que les souches ont les mêmes concentrations cellulaires, jusqu'au 15ème jour, où sont atteintes dans les deux cas les valeurs plateaux, ce facteur multiplicatif est de 20 pour la croissance maximum et simplement de 12 en ce qui concerne la croissance moyenne.

Les croissances sont similaires pendant les sept premiers jours, les pentes des courbes se différencient ultérieurement.

CHAETOCEROS CALCITRANS.

Sa croissance moyenne (Tableau II, figure 4) permet de dégager :

- pas de phase d'adaptation;
- une phase exponentielle d'une durée de 11 jours. La concentration cellulaire passe de :

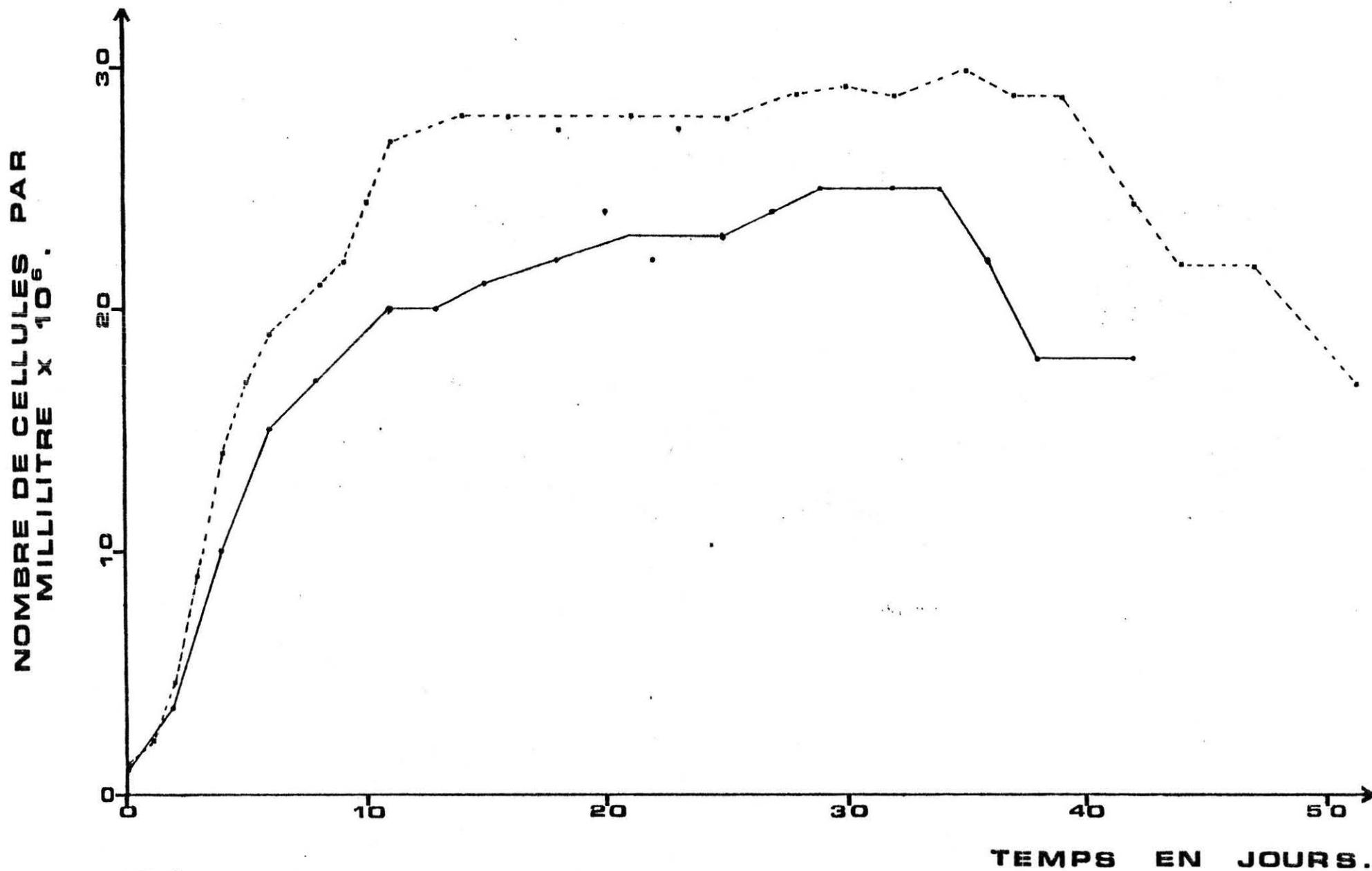


FIG 4 : croissances moyenne _____, et maximum de *Chaetoceros calcitrans* .

$1,00 \times 10^6$ ϕ /ml à $2,00 \times 10^7$ ϕ /ml

soit un rapport multiplicatif de 20,

- une phase stationnaire importante d'une durée de 23 jours,
- une phase de déclin à pente assez raide dans un premier temps, nulle dans un deuxième.

Sa croissance maximum (Tableau III, figure 4) permet de dégager :

- une absence de phase d'adaptation ;
- une phase exponentielle à pente raide d'une durée de 11 jours. La concentration cellulaire passe de : $1,10 \times 10^6$ ϕ /ml à $2,70 \times 10^7$ ϕ /ml soit un facteur multiplicatif de 25;
- une phase stationnaire importante d'une durée de 28 jours;
- une brusque phase de déclin qui peut se décomposer comme suit : pente assez raide dans un premier temps, nulle, puis de nouveau assez raide. Cette dernière est parallèle à la première pente.

La comparaison des 2 courbes permet d'établir :

- une absence de phase d'adaptation ; là aussi, les fortes concentrations des inoculums peuvent expliquer ce phénomène ;
- une phase exponentielle d'une durée de 11 jours;
- les croissances se différencient dès le 1er jour contrairement à celles observées chez *IsochrYSIS galbana*;

- une phase stationnaire importante et plus longue dans le cas de la croissance maximum;
- une phase de déclin apparaissant tardivement (34ème et 39ème jour respectivement) qui se caractérise en son début par une chute en escalier.

PLATYMONAS SUECICA.

Sa croissance moyenne (Tableau II, figure 5) permet de dégager :

- une phase d'adaptation bien marquée de 3 jours : la pente de croissance étant presque nulle;
- une phase exponentielle d'une durée de 13 jours. La concentration cellulaire passe de : $3,10 \times 10^5$ ϕ /ml à $2,60 \times 10^6$ ϕ /ml soit un rapport multiplicatif de 9;
- une phase stationnaire, en dent de scie, d'une durée de 23 jours;
- la phase de déclin n'est pas atteinte au bout de 39 jours de croissance.

Sa croissance maximum (Tableau III, figure 5) est beaucoup plus délicate à interpréter.

Les mesures n'ayant été effectuées qu'au 2ème et 4ème jour, aucune exploitation ne peut être réalisée en ce qui concerne la phase d'adaptation. On peut estimer la durée de croissance exponentielle à 11 jours maximum.

NOMBRE DE CELLULES PAR
MILLILITRE x 10⁵.

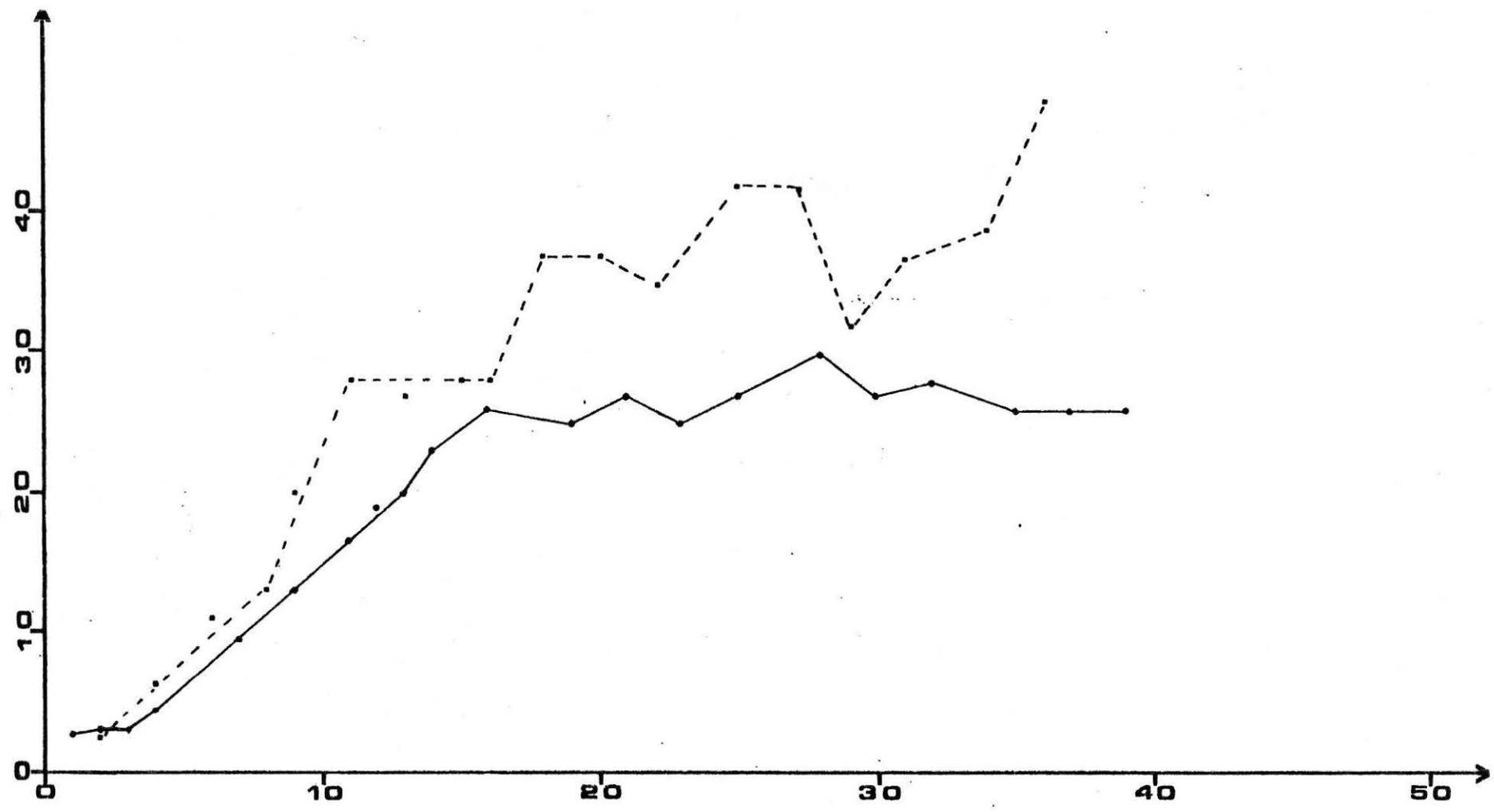


FIG 5 : croissances moyenne — et maximum - - - de
Platymonas suecica .

TEMPS EN JOURS.

Il en est de même en ce qui concerne son rapport multiplicatif de croissance. Il peut cependant être estimé à 11, la concentration cellulaire passant de :

$$2,50 \times 10^5 \text{ } \phi/\text{ml} \text{ à } 2,80 \times 10^6 \text{ } \phi/\text{ml}.$$

D'autre part, la phase stationnaire est difficile à situer. En effet, dès le 11ème jour, on note un premier palier d'une durée de 5 jours, puis une croissance importante démarrant au 16ème jour suivie d'un deuxième palier d'une durée de 4 jours. Enfin, une croissance démarrant au 22ème jour suivie d'un troisième palier d'une durée de 2 jours.

Par la suite, on assiste à une décroissance suivie d'une reprise de croissance importante. La phase de déclin n'apparaît pas au bout de 36 jours de croissance.

La comparaison des 2 courbes permet de dégager :

- une phase exponentielle d'une durée similaire (11 et 13 jours),
- une phase stationnaire d'une durée importante de 23 jours minimum. Celle-ci a un aspect en dent de scie. Pour expliquer ce phénomène, les techniques de comptage de la concentration cellulaire ne peuvent être mises en cause. Comme précédemment mentionné, *Platymonas suecica* a une forte tendance à sédimenter et à s'accrocher aux parois. Ainsi, pour homogénéiser les cultures, le brassage doit

être important et l'agitation doit être faite d'une façon identique, répétitive. Or, ceci n'est réalisé que très rarement. Les propriétés physiques de cette algue expliquent, à notre avis, ces fluctuations.

PAVLOVA LUTHERI.

Cette algue n'étant pas employée de façon routinière pour la nutrition larvaire, seule la croissance moyenne à partir d'un nombre moins important de cultures a été analysée.

La figure 6, ainsi que les données regroupées dans le tableau II permettent de dégager :

- une phase exponentielle d'une durée maximum de 13 jours. Là aussi, les mesures n'ayant été effectuées qu'au 1er et 4ème jour, aucune exploitation ne peut être réalisée en ce qui concerne la phase stationnaire et de ce fait, aucune précision ne peut être apportée en ce qui concerne la durée exacte de la croissance exponentielle. Il en est de même pour le rapport multiplicatif de croissance cellulaire;
- une phase stationnaire très brève d'une durée de 5 jours,
- une phase de déclin apparaissant après 18 jours de culture.

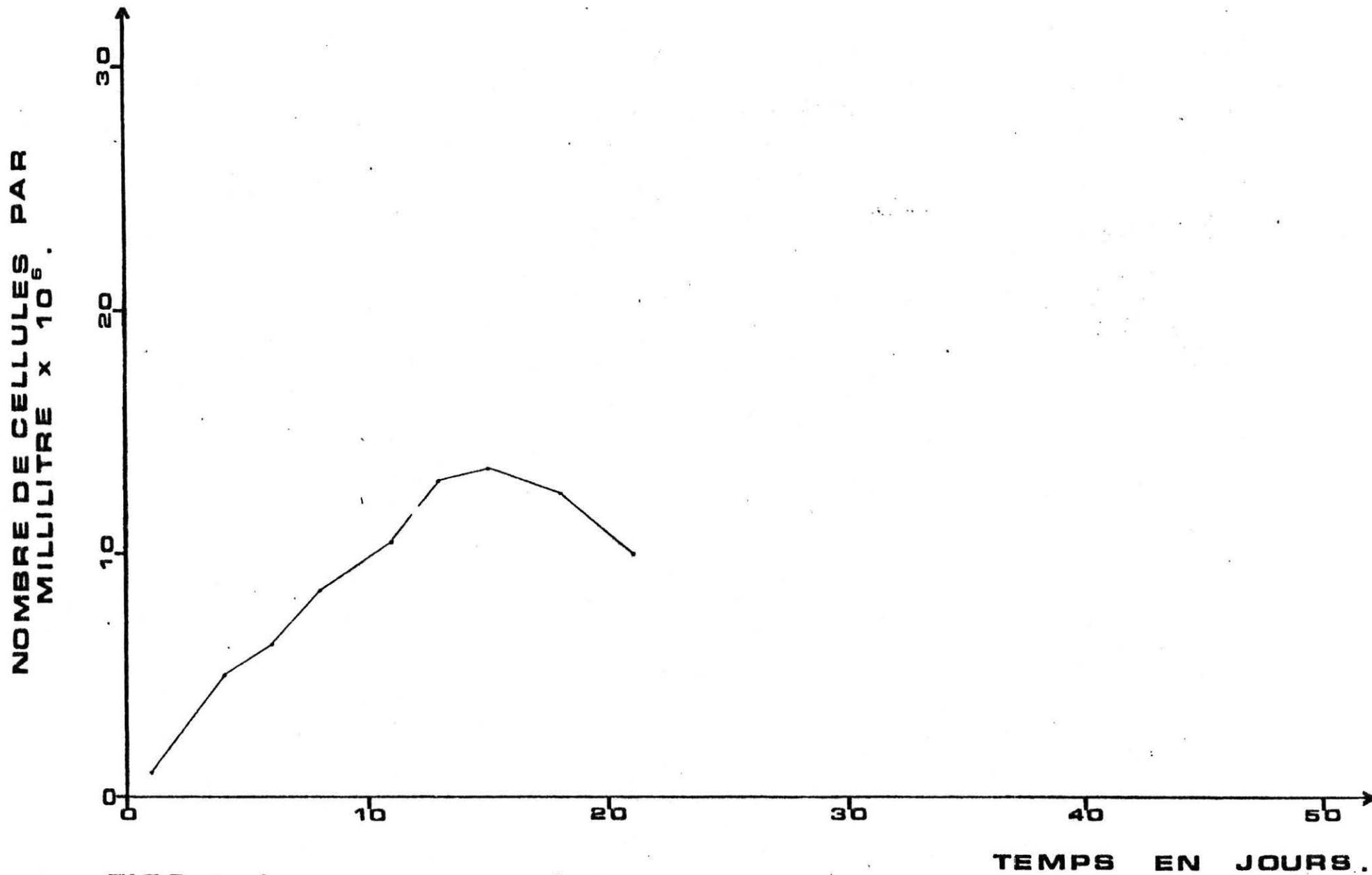


FIG6 : croissance moyenne de
Pavlova lutheri

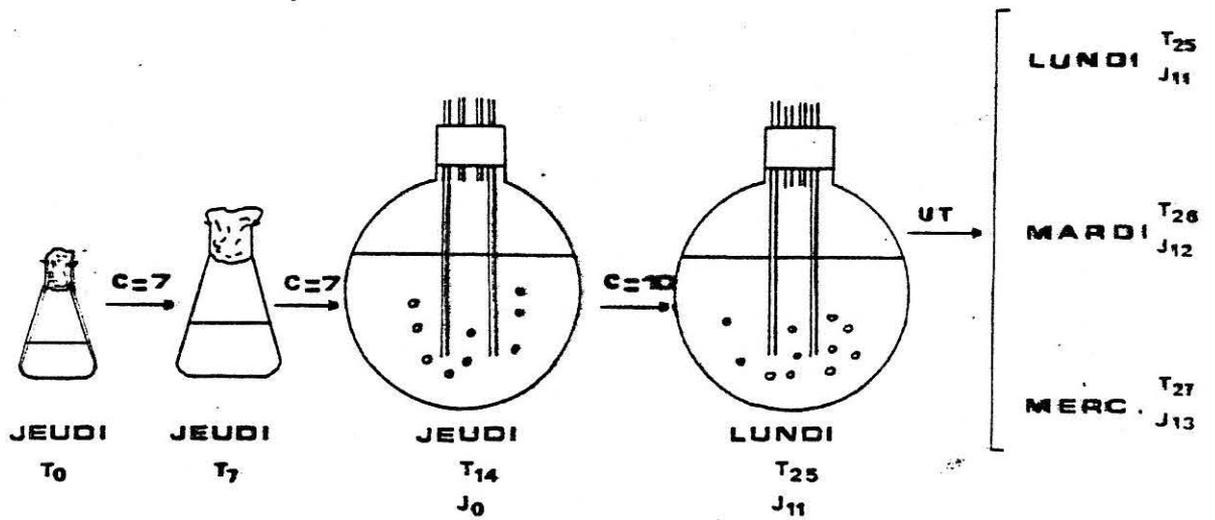
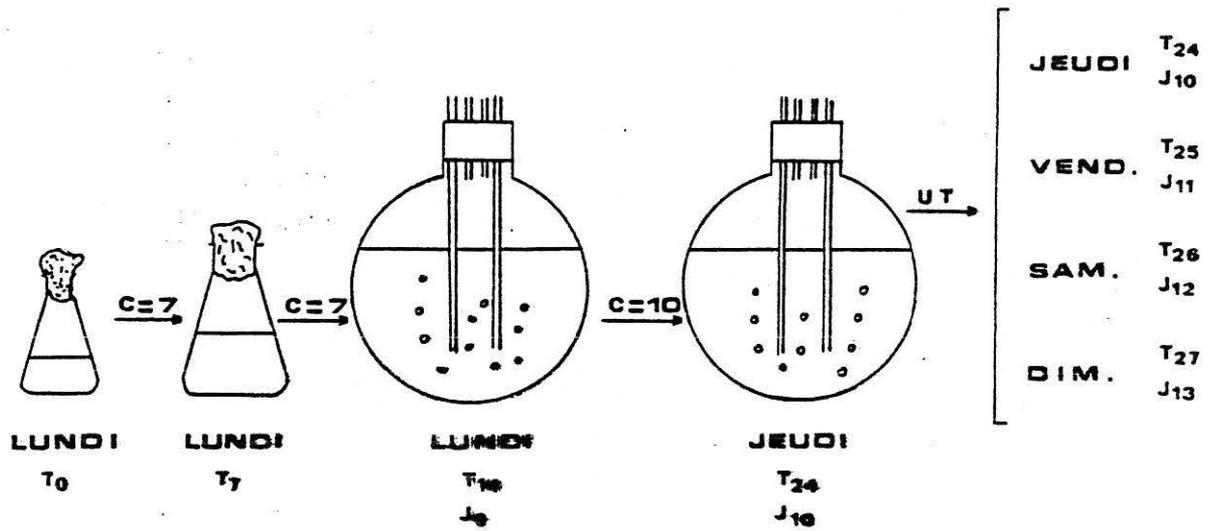
TEMPS EN JOURS.

1.3.3.2. SYSTEME D'UTILISATION DES CULTURES.

Pour mettre au point celui-ci, seules les croissances d'*Isochrysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans* et *Platymonas suecica* ont été prises en compte. Prieur et Leroux (1975), ont montré que la teneur en bactéries, chez quatre souches d'algues unicellulaires, augmente avec l'âge de la culture. Si son niveau bactérien devient trop élevé, la culture devient toxique pour les larves de bivalves (Calabrese et Davis, 1970). L'utilisation des souches âgées n'est donc pas recommandée. Si le broutage larvaire est stimulé par des cultures jeunes (Wilson, 1979), il faut cependant limiter l'apport de sels nutritifs dans les élevages. Pour ce faire, plus les souches sont concentrées, plus cet apport diminue. Le schéma adopté repose sur un compromis entre ces deux observations.

Les souches sont ainsi utilisées, après 10 - 11 jours de croissance dans les ballons, c'est à dire pour les trois algues considérées en fin de phase exponentielle. L'utilisation d'une même souche dure 3 à 4 jours, ce qui correspond au début de sa phase stationnaire. Les ensemencements se font deux fois par semaine, le lundi et le jeudi. Quelles que soient les concentrations atteintes, sauf très mauvaise croissance ou contamination, l'utilisation de l'ensemble des cultures suit au calendrier déterminé, schématisé dans la figure 7.

Deux cultures d'*Isochrysis galbana*, 2 cultures de *Chaetoceros calcitrans*, et 1 à 2 cultures de *Platymonas suecica* sont mises en production et 25 à 30 litres hebdomadaires de phytoplancton sont ainsi obtenus.



C = CROISSANCE.

UT = UTILISATION.

T_x = NOMBRE DE JOURS APRES LA PREMIERE INOCULATION.

J_x = NOMBRE DE JOURS APRES INOCULATION EN BALLON.

FIG 7 : SCHEMA D'UTILISATION DES CULTURES PHYTOPLANCTONNIQUES A DES FINS DE NUTRITION LARVAIRE .

En se plaçant dans des conditions optimum d'utilisation des cultures, nutrition de 30 élevages larvaires de 2 litres (molysmologie) et en considérant que l'apport nutritionnel est de 100 ϕ / μ l d'élevage pour une concentration algale moyenne de $1,5 \times 10^7$ ϕ /ml, la demande phytoplanctonique hebdomadaire est égale à :

$$V_A \times V_E \times N \times T = \frac{100 \times 10^3}{15 \times 10^6} \times 2.000 \times 30 \times 7 = 2.800 \text{ ml}$$

$$V_A = \frac{\text{nombre de } \phi \text{ par ml d'élevage}}{\text{nombre de } \phi \text{ par ml de culture}}$$

V_E = volume des élevages en millilitre

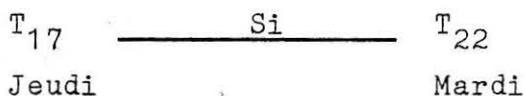
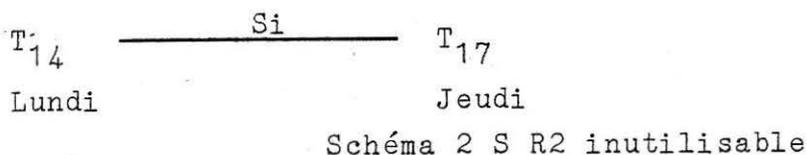
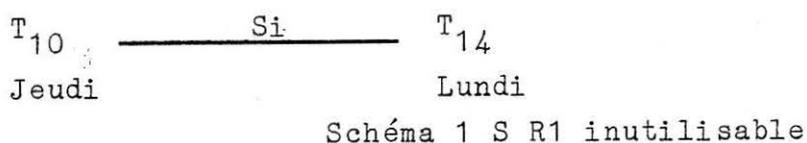
N = nombre d' élevages

T = temps

Entre la production phytoplanctonique et la demande optimum, il existe donc un rapport moyen de 10. Au premier abord, il semblerait donc raisonnable de diminuer la production en ensemençant des cultures qu'une fois par semaine. Ce système est maintenu pour deux raisons :

- possibilité d'augmenter les volumes d'élevages;
- possibilité de modifications du schéma d'utilisation des souches.

L'utilisation de la souche initiale (Si) peut être poursuivie si la (ou les) souche(s) de remplacement (S R1 - S R2) sont inutilisables pour les élevages (contamination bactérienne ou mauvaise croissance).



Ainsi, si l'on considère le schéma 2, une même souche peut être apportée aux élevages larvaires pendant 12 jours, durée moyenne des expériences. L'algue, en fin d'utilisation, est âgée de 22 à 23 jours. Elle se trouve toujours dans sa phase stationnaire et loin de sa phase de déclin. Le schéma 1 a été appliqué quelquefois, le schéma 2 très rarement.

1.3.3.3. REMARQUES.

La méthode en continu a été utilisée mais seulement à titre expérimental et de ce fait n'a jamais été standardisée. Ce type de technique a permis de constater que *Platymonas suecica* est aisée à cultiver, qu'*Isochrysis galbana* et *Pavlova lutheri* sont plus fragiles mais peuvent être produites en continu. Enfin *Chaetoceros calcitrans* est délicate à maintenir ce qui rejoint les résultats avancés par d'autres auteurs (Laing, Flassch, communications personnelles).

Rappelons que l'eau utilisée pour la préparation des milieux de croissance algale est celle du bassin d'Arcachon qui est renouvelée une fois par mois en moyenne.

Tout au long des expérimentations aucun blocage de croissance des cultures d'algues destinées à la nutrition larvaire n'a été observé.

1.3.4. APPLICATION DU SYSTEME A LA MATURATION DES GENITEURS.

1.3.4.1. MATERIEL ET METHODE.

Cette production de masse a été assurée, dans un premier temps, par une production en bloom dans des ballons de 5 à 10 litres. L'ensemencement se faisait tous les jours, les algues utilisées étant *Pavlova lutheri* et *Platymonas suecica*. Le travail de routine étant trop important, cette technique a été abandonnée.

Des essais de blooming dans des cuves rectangulaires ouvertes, de 40 à 60 litres, ayant été négatifs, le système clos apparaissait être le seul fiable dans le contexte de nos installations.

Pour ce faire, des cubiteners plastiques à usage alimentaire d'un volume unitaire de 33 litres ont été adoptés. Ils présentent les avantages suivants :

- taille adéquate à la salle d'algue
- peu onéreux
- solides, maniables, faciles d'entretien.

Avant utilisation, chaque cubitener est abondamment rincé à l'eau bouillante. L'eau de mer simplement filtrée sur cartouche est enrichie de sels minéraux et de vitamines dont l'adjonction s'effectue non stérilement.

Le cubitener est fermé par un bouchon de coton cardé à travers lequel passe 2 tubes d'aération. L'air n'est pas épuré sur coton stérile à son arrivée dans le cubitener.

Platymonas suecica est utilisée pour assurer cette production.

La culture est utilisée après une semaine de croissance. Sa concentration cellulaire moyenne est de 9×10^5 ϕ /ml. Un apport hebdomadaire de 90 litres de phytoplancton est obtenu par l'ensemencement d'un cubitener tous les 2 jours. 1 seule culture maintenue en semi-continu sert d'inoculum.

Nous entendrons par E1 le jour d'ensemencement du premier cubitener, par E3 et E5, les jours d'ensemencement des deuxième et troisième cubiteners.

Après une croissance de 10 jours en ballon de 6 litres, 1,5 litre d'une culture de *Platymonas suecica* à la concentration moyenne de $1,5 \times 10^6$ ϕ /ml est ensemencé à E1. 1 litre de milieu est alors rajouté dans la culture en ballon. Cette dernière sert d'ensemencement à un deuxième cubitener, 2 jours après, à E3. 1 litre de milieu est de nouveau rajouté. 2 jours après, à E5, le même protocole est appliqué. L'utilisation des cultures suit un calendrier déterminé, schématisé dans le figure 8. Puis un nouvel inoculum prend le relais. Si ce dernier présente une mauvaise croissance, la chaîne de production peut être maintenue une semaine supplémentaire. En effet, une même culture en ballon de 6 litres permet d'ensemencer par cette technique 8 cubiteners.

La croissance de *Pavlova lutheri* dans ces volumes ne s'étant pas révélée très satisfaisante, *Skeletonema costatum* a été mise en production. La taille de la salle d'algues ne permettant pas l'installation de nouveaux dispositifs des essais ont été réalisés à proximité de l'unité de conditionnement.

Deux tubes néons (1,20 m - 40 W et 1,60 m - 60 W) ont assuré l'éclairage maintenu en permanence. Des réflecteurs ont également été disposés. Quatre à six bulleurs aquariophiles ont assuré l'aération et le brassage des cultures. La salinité n'a pas été corrigée et la température due à l'absence de climatisation était la température ambiante. Des sacs de polyéthylène

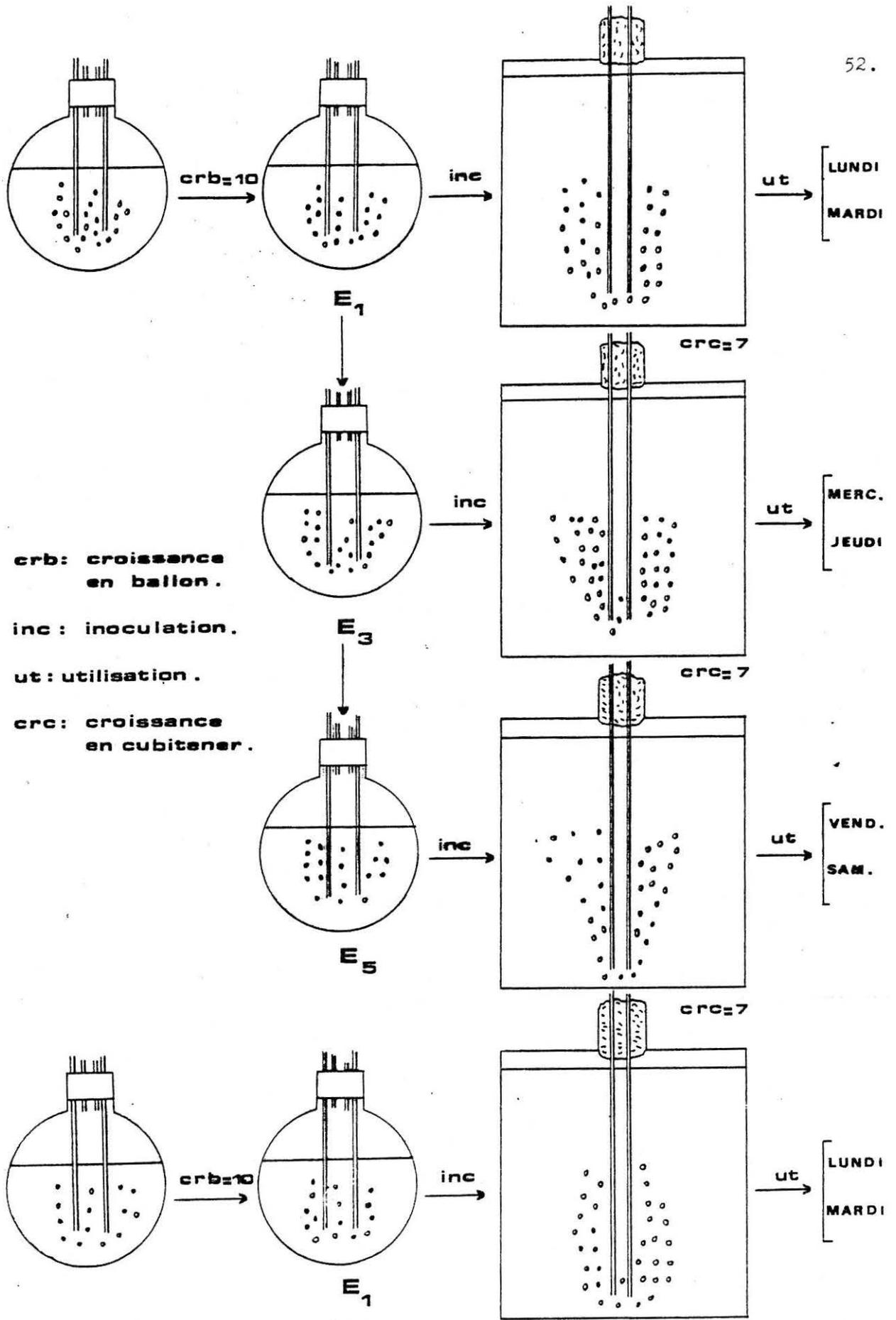


FIG 8 : SCHEMA D'UTILISATION DE LA PRODUCTION PHYTOPLANCTONIQUE DE MASSE .

transparent d'une capacité de 40 à 120 litres ont été utilisés. Ceux-ci ont été simplement suspendus pour les volumes inférieurs à 60 litres ou maintenus dans une gaine de grillage reposant sur un socle de béton.

Des blooms satisfaisants, mais non réguliers, ont été obtenus au bout de 7 jours en moyenne, malgré ces conditions sommaires, de température particulièrement. La croissance était contrôlée à la cellule de Mallasez. *Skeletonema costatum* n'a donc pu être utilisée de façon rationnelle. Elle assurait cependant un complément de nourriture non négligeable.

1.3.4.2. REMARQUES.

Si l'unité de production de masse de *Platymonas suecica* est bien adaptée à la salle d'algues, il n'est pas prudent d'assurer les deux types de production phytoplanctonique dans un même local. Il n'est pas rare, en effet, d'observer des protozoaires et infusoires dans les algues destinées aux géniteurs.

Bien que des précautions soient prises, cette unité est un foyer potentiel d'infection pour l'ensemble des cultures. Il apparaît donc indispensable de séparer matériellement l'unité de production algale destinée aux larves et celle destinée aux géniteurs. Là aussi l'eau du bassin a été utilisée pour préparer les milieux de croissance algale. Tout au long des expérimentations aucun blocage de croissance des cultures d'algues destinées aux géniteurs n'a été observé.

1.4. L'UNITE D'ELEVAGE LARVAIRE.

1.4.1. MATERIEL.

Le traitement de l'eau utilisée pour les élevages larvaires est identique à celui appliqué à la préparation des milieux de croissance algale pour la nutrition des véligères - 1.3.2.1. -. La salinité est abaissée pour les seules expériences de molysmologie.

Ce type de filtration permet d'éliminer le zooplancton, les débris de phytoplancton et les bactéries (Lucas, 1975). D'autre part, Prieur et Carval (1979) ont montré que la filtration ne modifiait en rien les paramètres physico-chimiques de l'eau de mer.

Aussi aucun traitement plus poussé de l'eau de mer n'est effectué - passage aux U.V., stérilisation, pasteurisation-.

Les élevages larvaires sont principalement conduits dans des bocalux fermés, transparents, en pyrex à usage alimentaire. La température moyenne d'élevage est obtenue en disposant les bocalux dans des enceintes fermées préalablement nettoyées et stérilées. Les élevages sont ainsi isolés du milieu extérieur.

Celles-ci sont constituées d'une étuve pré-réglée munie de thermomètres externe et interne dont la température est contrôlée par un thermostat.

Un réfrigérateur muni d'un système inverseur de type incutrol possédant les mêmes caractéristiques que précédemment décrites joue le rôle d'étuve. Ce système est fiable, car aucun dérèglement de la température n'a été observé. La température de la salle est maintenue lors des pontes et des changements d'eau d'élevage à la température de $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ par un chauffage électrique thermostaté ou par un climatiseur.

1.4.2. PONTES ET FECONDATIONS.

Préalablement à la stimulation, les géniteurs prélevés dans l'unité de maturation sont nettoyés à l'eau du robinet. Nous n'avons en aucun cas utilisé de l'eau ozonée (Lucas et al., 1976), ni de solution d'hypochlorite de sodium à 5ppm (Pouvreau, 1977).

Une douzaine d'individus sont placés dans des bacs en matière plastique, préalablement nettoyés et ébouillantés, contenant de l'eau de mer filtrée, maintenue à la température de $28^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ par une résistance de type aquariophile. Au bout de 30 minutes, les géniteurs sont transférés dans un deuxième bac à la température de $15^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, obtenue et maintenue par des pains de glace. 30 minutes plus tard, les huîtres sont de nouveau remises à la température de $28^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Ce choc est alors complété par l'adjonction de produits sexuels issus de géniteurs préalablement sacrifiés et appartenant généralement au même stock.

Cette double stimulation se poursuit jusqu'à l'émission des gamètes. Le temps de réponse de vingt mollusques bivalves à la stimulation thermique a été estimé par Lucas et al. (1976). Selon ces auteurs, il est de 1 à 5 heures pour *Crassostrea gigas*. Celui-ci a été généralement de l'ordre de 2 à 3 heures, les mâles émettant leurs produits les premiers. Le comportement des géniteurs, en début de stimulation (environ $1/2$ heure) permet d'évaluer ce temps de réponse. Au delà de 5 heures, si aucune émission n'est observée, le lot est sacrifié et l'expérience est arrêtée. En aucun cas, la méthode de scarification ou "stripping" n'est utilisée. Des taux importants d'anomalies et de mortalités larvaires sont fréquemment observés selon certains auteurs (Aquacop, 1977; Wilson, 1981) lorsque cette technique est appliquée.

Dès l'émission de produits sexuels, les géniteurs sont placés individuellement dans des béchers stériles contenant 500 à 1.500 ml d'eau de mer filtrée à la température moyenne de $22^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. A ce stade, la difficulté réside dans la concordance des émissions. En effet, comme précédemment mentionné, les mâles émettent leurs produits en premier et parfois, bien avant que les femelles ne répondent. Dans ce dernier cas, les mâles émettant leurs gamètes sont émergés précautionneusement, un seul individu étant maintenu dans le bac pour stimuler chimiquement les femelles. Dès l'émission des premiers ovules, tous les mâles sont immergés individuellement dans des béchers. Leur réponse est généralement immédiate.

En molysmologie, des oeufs en cours de fécondation sont soumis à des teneurs croissantes en toxique et les observations portent entre autres sur les taux de fécondation. Aussi, afin d'éliminer la présence

éventuelle d'oeufs fécondés, la femelle en cours d'émission est préalablement lavée à l'eau de mer filtrée avant son transfert du bac de fécondation vers un bécher. Puis la femelle en cours de ponte est de nouveau lavée et transférée dans un deuxième bécher, où les oeufs émis seront tamisés et éventuellement utilisés après examen.

Des prélèvements sont effectués à la pipette Pasteur. La forme des ovules et l'activité des spermatozoïdes sont contrôlées sous microscope afin de sélectionner le couple parental. Quand un nombre suffisant de gamètes est obtenu, les oeufs sont passés sur un double jeu de tamis : les fécès, pseudofécès et débris sont retenus sur une maille de 100 μm tandis que les ovules sont collectés sur maillage de 29 μm ou 32 μm . Après avoir été rincés avec de l'eau de mer fraîchement filtrée, les oeufs sont mis en suspension dans une éprouvette de 1 l et homogénéisés à l'aide d'un disque ajouré de diamètre légèrement inférieur à celui de l'éprouvette.

Pour faciliter les comptages, une dilution est réalisée. Une proportion a ml de l'éprouvette de 1 litre est transvasée dans une éprouvette graduée de volume b, généralement 250 ou 500 ml. Après homogénéisation, quatre prélèvements de 0,1 ml sont effectués à l'aide d'une pipette automatique Eppendorf et déposés sur lames creuses stériles. Les comptages sont réalisés sous microscope et le nombre d'oeufs émis est obtenu par la formule suivante :

$$N_T = M \cdot 10^4 \frac{b}{a}$$

où M = moyenne des comptages
 b = volume de dilution
 a = volume dilué

Les oeufs, en suspension dans l'éprouvette de 1 litre, sont de nouveau homogénéisés et répartis dans les bocaux à raison de 30.000 par litre. Le volume de la solution en ml à ajouter est calculé à partir de la formule suivante :

$$V = \frac{30.000}{N_T} \cdot 1.000 = \frac{3 \times 10^4 \cdot a \cdot 10^3}{10^4 \cdot m \cdot b} = \frac{3^a \cdot 10^3}{m \cdot b}$$

Les produits génitaux mâles sont passés à travers un tamis de 32 μ m et récupérés dans un bécher. 1,5 ml/l d'élevage d'une solution dense de sperme sont ajoutés pour réaliser les fécondations qui se déroulent à la température ambiante de 20°C \pm 1°C. Dès l'obtention d'un nombre suffisant de gamètes, l'ensemble des manipulations, tamisage, homogénéisation, comptage, répartition et fécondation, dure en moyenne 15 minutes mais est réalisé avec précaution. En effet, selon Lucas et al. (1976), ce type de manipulation n'est pas sans danger pour les ovocytes quand il est mené trop brutalement. D'autre part, si la fécondation n'est effectuée qu'au bout de 60 à 90 minutes après l'émission des gamètes, le taux de larves D, obtenu en 24 heures, diminue fortement (Helm et Millican, 1977). Les élevages sont placés en étuve à la température de 24°C \pm 1°C, 30 à 60 minutes après l'adjonction du sperme (photo 5).

1.4.3. TECHNIQUES D'ELEVAGE LARVAIRE.

Les larves D sont formées 24 heures après les fécondations à la température de 24°C.

1.4.3.1. DENSITE LARVAIRE ET VOLUME D'ELEVAGE.

Après un certain nombre d'observations décrites ultérieurement, un comptage larvaire est effectué et les véligères sont réparties à raison de 8.000 par litre. Les élevages sont conduits en double exemplaire dans des bocaux stériles de 2 litres contenant de l'eau de mer fraîchement filtrée.

1.4.3.2. RENOUELEMENT DE L'EAU DES ELEVAGES.

Le renouvellement de l'eau d'élevage qui a pour but l'élimination des toxines, matières organiques et bactéries est effectué toutes les 24 à 48 heures dans les écloseries commerciales (Lucas, 1980). Un changement journalier de l'eau des élevages de *Crassostrea gigas* affecte la croissance larvaire (Helm et Millican, 1977).

L'eau des élevages est renouvelée toutes les 48 heures pour les expériences d'écophysiologie larvaire.

Au cours des expériences de molysmologie un changement journalier de l'eau est généralement réalisé afin d'appréhender plus précisément l'action du toxique sur les mortalités larvaires.

1.4.3.3. TEMPERATURE.

La température de l'eau est un paramètre limitant la croissance larvaire des mollusques bivalves, (Loosanoff et al., 1951; Sagara, 1958 b; Davis et Calabrese, 1964, 1969; Stickney, 1964; Walne, 1965; Calabrese et Davis, 1970; Dupuy, 1975; Bayne, 1976; Pruder et al., 1977).

En éclosérie, la température des élevages larvaires est comprise entre 20°C et 28°C (Lucas, 1980).

Pour un déroulement normal de la reproduction naturelle dans le bassin d'Arcachon, 22°C est une température satisfaisante (His, 1976).

Les élevages sont conduits à la température de 24°C correspondant à un compromis entre ces deux observations.

1.4.3.4. AUTRES FACTEURS PHYSIQUES.

L'influence de la salinité sur la croissance larvaire de certains mollusques bivalves a été démontrée (Davis, 1958; Sagara, 1958 b; Davis et Ansell, 1962; Stickney, 1964; Davis et Calabrese, 1964).

Afin de s'approcher au mieux des conditions naturelles, ce paramètre n'a pas été modifié et la salinité de l'eau des élevages correspond à celle de l'eau de mer au moment des prélèvements.

Dans le cadre des seules expériences de molysmologie, la salinité est ramenée à la valeur de 28‰, qui représente avec la température de 24°C, une bonne combinaison pour la croissance larvaire de *Crassostrea gigas* (Helm et Millican, 1977).

Aucune oxygénation n'est apportée, celle-ci ayant une action néfaste sur les jeunes véligères de *Crassostrea gigas*, en faible volume, par action mécanique (Helm et Spencer, 1972).

L'action du pH de l'eau des élevages sur le développement larvaire n'est pas prise en compte bien qu'elle ait été démontrée chez *Crassostrea virginica* (Calabrese 1972). Aucun traitement chimique de l'eau de mer, à savoir l'adjonction de base ou d'acide, n'est réalisée pour tenter de fixer celui-ci.

Il en est de même pour l'action éventuelle du facteur lumière. Les élevages sont conduits à l'obscurité.

1.4.3.5. L'ALIMENTATION.

L'apport nutritionnel journalier est de 100 cellules par microlitre d'élevage (Walne 1965, 1966). Le pourcentage de pertes, dues aux différentes manipulations, a été estimée à 25% sur une période de 12 jours. La quantité d'algues disponible par larve est donc 1,33 plus forte en fin d'expérience, compensant ainsi l'augmentation des besoins nutritionnels des véligères en fonction de l'âge. (Rhodes et Lander, 1973).

Une nourriture plurialgale favorise la croissance larvaire (Davis et Guillard, 1958).

Dès les premières 24 heures et durant la première semaine les élevages reçoivent 50 cellules d'*IsochrYSIS galbana* et 50 cellules de *Chaetoceros calcitrans* par microlitre d'élevage, comme le préconise Millican et Helm (1973). Lorsque les larves présentent une taille supérieure à 120 μm , le régime alimentaire est alors complété par l'adjonction de *Platymonas suecica*. Celui-ci est alors de 33 cellules d'*IsochrYSIS galbana*, 33 cellules de *Chaetoceros calcitrans* et 3,3 cellules de *Platymonas suecica* par microlitre d'élevage. La qualité de la nourriture varie donc en fonction de l'âge des larves comme le recommande Dupuy (1975).

L'adjonction du phytoplancton est effectuée stérilement et le calcul des différents volumes algaux à apporter aux élevages est réalisé quotidiennement selon les techniques décrites par Pouvreau (1977). Lors des non-renouvellements d'eau, nous ne tenons pas compte de la quantité de nourriture encore disponible dans les élevages pour déterminer cet apport.

1.4.3.6. PRECAUTIONS BACTERIOLOGIQUES.

Les élevages de larves de bivalves marins sont fréquemment décimés par des infections bactériennes (Prieur, 1975). Si l'adjonction d'antibiotique permet de freiner le bloom bactérien, elle n'immunise pas totalement les élevages (Guillard, 1959; Tubiash et al., 1965; Helm et Smith, 1971).

Aucun antibiotique n'est utilisé ; certains d'entre eux se sont avérés néfastes sur des véligères de

Crassostrea gigas (Helm et Millican, 1977). Des précautions simples et classiques sont prises et ceci d'une façon permanente :

- filtration de l'eau de mer à 0,2 μm et contrôle de sa qualité au compteur de particules;
- changement journalier ou toutes les 48 heures de l'eau des élevages;
- nettoyage et stérilisation de l'ensemble du matériel de manipulation;
- distribution de la nourriture réalisée stérilement.

Elles sont suffisantes pour des élevages effectués en petits volumes. Aucune mortalité de type bactérien, caractérisée par la disparition totale du stock larvaire en moins de 24 heures (Lucas, 1970) n'a été observée tout au long des expérimentations.

1.4.4. PROTOCOLES D'ETUDE ET DE MESURE.

Contrairement aux techniques employées dans les écloseries industrielles ou semi-industrielles, aucune élimination de larves n'est effectuée par tamisage sélectif.

L'étude du comportement des populations dans leur ensemble est réalisée. Ainsi à chaque renouvellement d'eau, les larves sont retenues sur un tamis de 40 μm . Elles sont alors rincées avec de l'eau de mer fraîchement

filtrée et le tamis les contenant est suspendu sur un bécher rempli d'eau de mer de telle sorte que les larves ne soient jamais sec. Puis elles sont concentrées en inclinant et tapotant le tamis. Un prélèvement assez important de la population larvaire est ensuite réalisé à la pipette pasteur et déposé sur lame creuse. Après examen et prises de clichés photographiques du matériel vivant, toutes les larves sont remises en élevage.

Les larves de bivalves passent successivement par les mêmes stades morphologiques (Lucas, 1982). Les laboratoires de recherche appliquée en biologie conchylicole utilisent une terminologie différente basée à la fois sur la morphologie générale de la vélliconche et sur sa taille, les examens étant réalisés sur échantillons formolés. Le tableau IV permet de comparer les deux types de classification larvaire.

Temps (en jours) après fécondation	Stades. Appellation biologique	Hauteur en μm .	Stades. Appellation conchylicole.	Hauteur en μm .
1-6	Véligère larve D	57-105	Petite	57-105
6 à	Véligère umbonée	105-260	Evoluée Moyenne	105-150 150-235
18			Grosse	235-260
18-22	Véligère oeuillée	260-280	Oeuillée	260-280
22-24	Pédivéli-gère	280-300	Larves en fixation	280-300
> 24	Plantigrade	> 300	Naissain	> 300

TABLEAU IV : EVOLUTION LARVAIRE DE *CRASSOSTREA GIGAS* A LA TEMPERATURE DE 24°C.

La terminologie "évoluée", "moyenne", "grosse", permettant d'obtenir une meilleure précision quant à la taille des véligères, sera adoptée ci-après. Cependant, dans certains cas où les 3 catégories sont présentes ensemble, le terme umboné sera employé.

1.4.4.1. EXPERIENCE D'ECOPHYSIOLOGIE.

1.4.4.1.1. DUREE DES EXPERIENCES.

Les observations antérieures ont montré la disparition progressive dans le bassin d'Arcachon des véligères sans passage au stade "évolué" (His, 1976, 1980). Habituellement, celui-ci se réalisait une semaine après l'émission des gamètes dans le milieu.

Une étude spécifique de la croissance larvaire de *Crassostrea gigas* en laboratoire a permis de constater qu'au 12ème jour d'élevage, les véligères étaient toutes umbonées et la population était principalement constituée de "moyennes".

C'est pourquoi les élevages ont généralement été conduits sur une durée de 12 jours.

Le stade pédivéligère et la fixation des larves ont été obtenus dans certaines expériences mais ne seront pas exploités dans ce travail.

1.4.4.1.2. TAUX DE FECONDATION, D'ANOMALIE ET DE MORTALITE

Le taux de fécondation n'est pas régulièrement suivi, celui-ci s'étant avéré important dans les premières expérimentations, supérieur ou égal à 90%.

Le taux de mortalité est obtenu par comptage d'un échantillon pris au hasard de 200 larves par élevage.

Il en est de même pour le taux d'anomalie. Les anomalies morphologiques rencontrées ont été décrites par d'autres auteurs (Brereton et al., 1973, Le Pennec et Le Roux, 1979; Calabrese et al., 1977). Les anomalies de comportement étant généralement liées à des anomalies morphologiques (Brereton et al., 1973), celles-ci ne sont pas prises en compte. Afin d'évaluer rapidement la qualité des élevages, le comportement de la population larvaire est observé, mais le taux d'anomalie relevé correspond au seul taux d'anomalie morphologique.

Les larves ayant subi des dommages (coquille brisée) ne sont pas intégrées dans le taux d'anomalie. Celles-ci sont amenées à disparaître et entrent donc dans le pourcentage de pertes dues aux manipulations.

1.4.4.1.3. CROISSANCE ET ANALYSE DEMOGRAPHIQUE.

Les mensurations sont réalisées à 1,5 μm près par mesure à la loupe binoculaire stéréoscopique sur clichés

photographiques. Les données sur la taille et la croissance larvaire sont obtenues par détermination de la hauteur, correspondant à la plus grande distance du sommet de l'umbo au bord ventral, d'un échantillon de 50 larves par élevage. Ceux-ci étant menés en double exemplaire, 100 mesures sont effectuées pour l'exploitation statistique des résultats. Les tailles moyennes avec intervalle de confiance au seuil de sécurité de 95% permettent l'établissement des tableaux et des courbes de croissance en fonction des différentes conditions expérimentales.

L'analyse démographique réalisée sur 100 larves permet d'après la hauteur individuelle de regrouper et de classer les véligères selon l'échelle adoptée en biologie conchylicole présentée antérieurement (Tableau IV).

1.4.4.2. EXPERIENCES DE MOLYSMOLOGIE.

Les élevages en milieu contrôlé ont rapidement permis de tester l'influence des polluants sur le développement embryonnaire et larvaire des lamellibranches marins (Davis, 1961).

1.4.4.2.1. LES PRECAUTIONS NECESSAIRES.

Avant de réaliser des études de ce type, une bonne maîtrise des élevages des témoins est nécessaire. Il faut en effet placer les oeufs et les larves dans de très

bonnes conditions expérimentales (température, salinité, densité, nutrition) de telle sorte que seul le polluant soit responsable des phénomènes observés. Il est totalement erroné de vouloir tirer des conclusions judicieuses si les témoins présentent des taux d'anomalie ou de mortalité élevés. Aussi les expériences sont elles abandonnées lorsque les taux d'anomalie ou de mortalité larvaire des témoins sont supérieurs à 15%.

La tolérance vis à vis des paramètres température et salinité de larves D de *Crassostrea virginica* soumises à l'action du chlorure de cuivre est altérée (Mac Innes et Calabrese, 1979). La reproduction des paramètres physicochimiques doit donc être impérative.

Afin d'éviter une éventuelle contamination des autres élevages par le produit testé, un jeu spécifique de tamis est utilisé et les élevages sont passés par teneur croissante en toxique, à savoir des témoins jusqu'à la plus forte concentration en polluant. Entre chaque élevage, les tamis sont abondamment rincés à l'eau douce, ébouillantés pendant quelques minutes et rincés de nouveau à l'eau de mer filtrée. Ceci permet d'éliminer les larves coincées dans les mailles du tamis et qui pourraient se retrouver fortuitement dans un autre élevage, faussant ainsi les observations.

1.4.4.2.2. CHOIX DU TOXIQUE ET DE L'ESPECE.

Il apparaît indispensable de connaître les effets des produits utilisés dans les zones conchylicoles et plus particulièrement dans les zones à vocation de captage naturel. Jenkins, (1971) retient *Mytilus edulis*

et *Crassostrea gigas*, espèces, d'intérêt commercial, sensibles vis à vis des conditions adverses du milieu. Leur utilisation comme tests biologiques est donc représentative. Compte tenu de la vocation ostreicole du bassin d'Arcachon, les observations portent principalement sur *Crassostrea gigas*. Des expériences ont été également réalisées sur *Mytilus galloprovincialis*, mais celles-ci ne seront pas étudiées en détail dans le cadre de ce travail.

1.4.4.2.3. DUREE DES EXPERIENCES ET ECHELLE DES CONCENTRATIONS EN TOXIQUE.

Il est rare que les expériences de molysmologie sur les larves puissent être poursuivies au delà de 10-15 jours sans que les résultats ne perdent toute signification (Lucas, 1975). Aussi les expériences n'ont-elles jamais excédé 12 jours.

Une approche du seuil de sensibilité des oeufs en cours de fécondation vis à vis du toxique est réalisée par une série d'expériences préliminaires. Elle permet d'établir l'échelle des concentrations en polluant à tester. Il faut, cependant rester dans des valeurs compatibles avec celles qui pourraient être rencontrées dans le milieu marin, aussi celles-ci n'excèdent pas 500 µg/l, teneur très élevée.

1.4.4.2.4. TRAITEMENT DES OEUFS ET DES LARVES.

Plusieurs auteurs admettent que, dans la majorité des cas, le seuil de sensibilité le plus bas

vis-à-vis d'un toxique se situe au niveau du développement embryonnaire (Brown et Ahsanullah, 1971; Bryan, 1971; Granmo, 1972; Brereton et al., 1973; Calabrese et al., 1973; Calabrese et Nelson, 1974; Man Innes et Calabrese, 1979).

Les fécondations sont réalisées en présence du produit testé et son influence sur les développements embryonnaire et larvaire est analysée.

Afin d'étudier le devenir d'un stock larvaire formé en milieu indemne de toxique qui serait brusquement soumis à une pollution, des velligères de 24 heures sont exposées à l'action de ce même composé. Un nombre suffisant de larves D de 24 heures est obtenu en plaçant les oeufs fécondés dans des seaux de 5 litres en matière plastique préalablement amarins. Le traitement des oeufs et des larves est permanent mais, afin de préciser certaines observations, un traitement temporaire des gamètes est parfois réalisé. En effet le développement d'oeufs fécondés peut être perturbé par un bref contact avec un toxique (Le Pennec et Le Roux, 1979). Le changement journalier de l'eau des élevages s'accompagne d'un renouvellement des différentes teneurs en toxique effectué à partir d'une même solution mère.

1.4.4.2.5. OBSERVATIONS.

Aucun dosage chimique n'est réalisé. La teneur initiale de l'eau de mer, à priori dénuée de polluant, ainsi que l'éventuelle dégradation ou

transformation du produit ne sont donc pas prises en compte.

Les effets tératogènes au niveau du développement embryonnaire sont analysés 24 à 48 heures après fécondation sous microscope photonique. Les observations portent sur le pourcentage d'oeufs fécondés, d'oeufs segmentés, de trochophores et de larves D. Il est délicat de noter la présence de la membrane de fécondation au simple microscope photonique, aussi la forme des oeufs constitue un critère intéressant et a été retenu. Des ovules mûrs et non fécondés de *Crassostrea gigas* présentent une forme ovoïde, en gourde, rarement sphérique. Par contre, les ovules fécondés sont sphériques et réguliers.

Les anomalies sont observées au stade trochophores où la forme caractéristique de l'embryon est prise en compte pour évaluer ce taux, ainsi qu'au stade véligère où elles sont définies comme précédemment (1.4.4.1.2.).

Il en est de même pour le taux de mortalité larvaire. En aucun cas le T.L. 100 ou le T.L. 50 ne sont déterminés car ils ne permettent pas d'apprécier la qualité des élevages témoins. D'autre part, ces indices toxicologiques sont établis à partir d'expériences d'une durée de 48 heures. Or les produits que nous avons testés ont des effets létaux importants dépassé ce délais.

Les observations et l'exploitation statistique des données de taille et de croissance ainsi que l'analyse démographique des populations larvaires sont identiques à celles précédemment décrites (1.4.4.1.3.). Ces

données sont importantes car un frein de la croissance larvaire est souvent observé à de faibles concentrations en toxique qui n'ont, à ces valeurs peu d'effet sur le développement embryonnaire (Calabrese et Davis, 1970).

Lorsque la mortalité atteint 50% de l'élevage, l'étude de la croissance est suspendue.

C H A P I T R E I I .

ACTION DE CERTAINS COMPOSES ANTISALISSURES

SUR LA FECONDATION ET LA VIE LARVAIRE DE

CRASSOSTREA GIGAS.

CHAPITRE II.

ACTION DE CERTAINS COMPOSES ANTISALISSURES SUR LA FECONDATION ET LA VIE LARVAIRE DE *CRASSOSTREA GIGAS*.

Le bassin d'Arcachon ne possède qu'une seule communication avec l'Océan. Malgré l'importance des masses d'eau en mouvement, le renouvellement de celles-ci se fait plus ou moins aisément dans les différentes parties du bassin. Les conditions hydrographiques particulières de celui-ci font qu'un apport de polluants représente un danger pour cette zone conchylicole.

La sylviculture et la maïssiculture constituent l'essentiel des activités agricoles ceinturant le bassin d'Arcachon. Des composés organostanniques dus à leurs propriétés antifongiques sont utilisés pour le traitement du bois.

L'activité nautique, et tout particulièrement la plaisance s'est fortement développée ces dernières années sur le bassin d'Arcachon s'accompagnant corrélativement d'une forte utilisation de peintures antisalissures à base d'étain.

"On appelle salissures toutes ces fixations qui, outre les algues, comprennent des mollusques (moules, huîtres), des cirripèdes, des tubes calcaires d'annélides, des bryozoaires, des ascidies. Ces

organismes, si l'on ne s'en protège pas, envahissent rapidement les oeuvres vives des navires. Ils les hérissent d'aspérités qui ont pour effet une résistance de frottement accrue. Pour inhiber la fixation de ces organismes, la méthode la plus usitée consiste à utiliser des revêtements antisalissures contenant un ou plusieurs composants toxiques susceptibles de se dissoudre dans l'eau de mer, de façon à entretenir, au niveau des organismes en voie de fixation, une concentration suffisante du toxique. La mise en solution du toxique est indispensable et, de ce fait, les peintures antisalissures sont des revêtements solubles. L'oxyde de cuivre a été le pigment le plus utilisé à cette fin. Depuis peu, des composés organiques de l'étain ont remplacé celui-ci. Pour assurer une protection efficace des carènes des navires, il est nécessaire de détruire les larves des organismes au moment de leur fixation" (Callames, 1976).

L'utilisation des composés organostanniques dans le bassin d'Arcachon a motivé la recherche de leur seuil de toxicité. L'action de l'acétate de tributyle étain ou T.B.T. sur les oeufs et les larves D de *Crassostrea gigas* et de *Mytilus galloprovincialis* a été analysée, mais seuls les résultats obtenus sur *Crassostrea gigas* seront développés dans ce travail. La substitution des composés cuivriques par des composés organostanniques dans les peintures antisalissures a conduit à étudier l'influence du chlorure de cuivre sur les développements embryonnaire et larvaire de *Crassostrea gigas*.

Enfin le comportement de populations larvaires dans de l'eau du port de plaisance du bassin

d'Arcachon a été analysé afin de vérifier si les anomalies de la reproduction de l'huître japonaise pouvaient être imputables à l'emploi des peintures antisalissures.

2.1. ACTION DE L'ACETATE DE TRIBUTYLE ETAIN.

L'action des organostanniques a été étudiée chez certains mammifères (Smith, 1977) et espèces aquatiques (Anonyme, 1978 a; Alabaster, 1969; Chliamovitch et Kuhn, 1977) mais à notre connaissance ses effets sur les larves de mollusques bivalves n'avaient pas encore été étudiés.

2.1.1. MATERIEL ET METHODE.

L'eau de l'Océan utilisée pour la conduite des élevages a été prélevée à 7 milles marins de la presqu'île du Cap Ferret. La salinité a été ramenée à la valeur de 28‰ par adjonction d'eau distillée. Les gamètes utilisés provenaient de 3 stocks de géniteurs, n'intégrant pas celui utilisé pour les expériences préliminaires, prélevés à Cancale et Quiberon. La maturation a duré de 3 à 5 semaines. Pour chaque expérience un seul couple parental a été sélectionné. *Pavlova lutheri* ou un mélange d'*Isochrysis galbana* et *Chaetoceros calcitrans* ont été apportées aux élevages. Les expériences ont été conduites pendant 12 jours durant lesquels l'eau des élevages a été changée journalièrement la première semaine, puis tous les 2 jours ultérieurement.

Des solutions mères de 50 mg/l et 20 mg/l ont été utilisées pour la préparation des différentes

concentrations comprises entre 0 et 100 $\mu\text{g}/\text{l}$. Afin d'accélérer la dissolution de ce produit, nous avons utilisé de l'acide chlorhydrique à raison de 2 ml/l. Aucune modification sensible du pH de l'eau des élevages n'a été observée. Trois expériences ont été réalisées :

- Action d'un traitement permanent à partir de la fécondation à des concentrations de 0, 1, 3, 5, 10, 25, 50 et 100 $\mu\text{g}/\text{l}$;
- Action d'un traitement permanent à partir du stade véligère à des concentrations de 0, 1, 3, 5, 10, 25, 50, et 100 $\mu\text{g}/\text{l}$;
- Action d'un traitement temporaire à la concentration de 50 $\mu\text{g}/\text{l}$;

Afin de préciser la toxicité de l'acétate de tributyle étain des oeufs et des spermatozoïdes fraîchement émis ont été placées séparément pendant une demi-heure dans une solution à 0 $\mu\text{g}/\text{l}$ et 50 $\mu\text{g}/\text{l}$. Après traitement, des ovules ont été fécondés avec une suspension de sperme non traité.

Des ovules sains ont été fécondés avec une suspension de sperme traité.

La fécondation de gamètes non traités a permis l'obtention d'élevage témoin.

Les observations ont été réalisées 3 heures et 18 heures après fécondation.

2.1.2. RESULTATS.

2.1.2.1. ACTION D'UN TRAITEMENT PERMANENT DE T.B.T. A PARTIR DE LA FECONDATION.

Vingt quatre heures après l'adjonction des gamètes mâles, 100% des oeufs ne sont pas fécondés à la concentration de 100 µg/l.

A la concentration de 50 µg/l, 99% des oeufs ne sont pas segmentés. Seules quelques rares émissions du ou des globules polaires sont observées. Le pourcentage d'oeufs segmentés croît progressivement lorsque la teneur en acétate de tributyle étain diminue (Tableau V).

Aux doses de 25 et 10 µg/l, les différents stades de la segmentation sont observés au bout de 24 heures -stade 2 à morula- mais, en aucun cas, le stade trochophore n'est atteint. A ces quatre concentrations, les élevages sont en décomposition 48 heures après la fécondation.

Aux teneurs de 5 et 3 µg/l, le stade trochophore est obtenu dès les premières 24 heures. Les embryons sont, aux deux concentrations considérées, anormaux à 100%*. Ces élevages sont constitués d'amas cellulaires totalement difformes mais mobiles. Au 2ème jour, aucune évolution vers le stade véligère n'est observée. Les élevages sont là aussi en décomposition dès le 3ème jour.

* photo 6

AGE DES LARVES DEPUIS LA FECONDATION (JOURS)	TENEUR EN ACETATE DE TRIBUTYLE ETAIN ($\mu\text{g}/\text{l}$)							
	0	1	3	5	10	25	50	100
1	100	100	100	100	80	60	1	0

TABLEAU V : Pourcentage d'oeufs segmentés de *Crassostrea gigas* soumis à des concentrations croissantes en acétate de tributyle étain à partir de la fécondation.

A la concentration de 1 $\mu\text{g}/\text{l}$, le stade véligère est atteint dès les premières 24 heures (98%) (photo 7). La véliconche est cependant incomplètement formée dans tous les cas. De ce fait, le taux d'anomalie n'a pas été établi. Au second jour, celui-ci est de 100%. Outre la concavité du bord dorsal, des échancrures à la commissures des valves, l'anomalie la plus fréquente se situe au niveau du vélum qui est boursouflé, hypertrophié. Dans de nombreux cas, il présente des excroissances de type "trompe d'éléphant" par lesquelles les véligères s'accrochent entre elles. Sur le plan du comportement, la nage est désordonnée : de très nombreuses larves tournent rapidement sur elles-mêmes. A ce jour, la mortalité est cependant faible, 2%.

Comparativement, les élevages témoins sont constitués de larves D parfaitement normales dès les premières 24 heures (photo 8). Au second jour, les taux d'anomalie et de mortalité sont de 2 %.

L'action de l'acétate de tributyle étain sur le développement larvaire ne concerne que les élevages soumis à la concentration de 1 $\mu\text{g}/\text{l}$. Les mortalités, faibles au départ, frappent rapidement et progressivement ces élevages (Tableau VI). Au 6ème jour, ceux-ci sont totalement décimés.

Dès les premières 24 heures, les larves D traitées ont une taille nettement inférieure, $54,90 \pm 1,24 \mu\text{m}$, à celle des élevages témoins, $61,07 \pm 0,50 \mu\text{m}$. Cependant, la véliconche étant incomplètement formée, nous ne prendrons en considération les données de taille qu'à partir du second jour (Tableau VI).

AGE DES LARVES DEPUIS LA FECONDATION (JOURS)	TENEUR EN ACETATE DE TRIBUTYLE ETAIN ($\mu\text{g}/\text{l}$)	
	0	1
1	61,07 \pm 0,50 (0)	"54,90 \pm 1,24" (0)
2	71,49 \pm 0,59 (2)	56,19 \pm 0,77 (2)
3	75,72 \pm 0,74 (1,5)	56,96 \pm 0,76 (5)
4	83,04 \pm 0,66 (2,5)	56,57 \pm 0,75 (11)
5	94,11 \pm 0,95 (3)	57,14 \pm 0,86 (25)
6	99,18 \pm 1,49 (6)	- (100)

TABLEAU VI : Hauteurs moyennes en μm exprimées au seuil de 95% et mortalité larvaire exprimée en % () de *Crassostrea gigas* exposée à des concentrations d'acétate de tributyle étain à partir de la fécondation.

Ainsi une différence de 15 μm est observée entre les larves témoins et les véligères contaminées. Chez ces dernières, aucune croissance significative n'est observée ultérieurement. Au 5ème jour, cette différence de taille atteint 37 μm .

2.1.2.2. ACTION D'UN TRAITEMENT PERMANENT DE T.B.T. A PARTIR DU STADE VELIGERE.

La valeur de 5 $\mu\text{g/l}$ d'acétate de tributyle étain représente une limite au dessus de laquelle les véligères meurent rapidement. La précocité et l'intensité des mortalités sont fonction de la concentration en toxique (Tableau VII).

Pour les concentrations supérieures ou égales à 25 $\mu\text{g/l}$, les élevages sont décimés 24 heures après exposition.

Aux valeurs de 10 et 5 $\mu\text{g/l}$, les élevages sont décimés respectivement le 4ème et 5ème jour.

Aux concentrations inférieures, les mortalités totales affectent plus tardivement les élevages : le 7ème jour à 3 $\mu\text{g/l}$ et le 12ème jour à 1 $\mu\text{g/l}$.

Les anomalies morphologiques sont peu importantes, si ce n'est à 5 $\mu\text{g/l}$ où l'on observe à partir du 4ème jour une rétraction de la masse viscérale qui prend peu à peu l'apparence d'une boule à l'intérieur des valves.

AGE DES LARVES DEPUIS LA FECONDATION (JOURS)	TENEUR EN ACETATE DE TRIBUTYLE ETAIN ($\mu\text{g}/\text{l}$)							
	0	1	3	5	10	25	50	100
1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	1	0,5	0,5	7	40	95	95	100
3	2	0,5	0,5	8	70	****	****	****
4	2,5	0,5	1,5	25	100	****	****	****
5	3	2	17	100	****	****	****	****
6	3	5	70	****	****	****	****	****
8	5	25	****	****	****	****	****	****
10	7	65	****	****	****	****	****	****
12	7	100	****	****	****	****	****	****

**** Arrêt des élevages

TABLEAU VII : Mortalité exprimée en % des larves de *Crassostrea gigas* exposées à des concentrations croissantes en acétate de tributyle étain à partir du stade véligère.

Contrairement aux observations habituelles de comportement, les larves ne sont pas tourbillonnantes mais au contraire inactives.

Les données sur les hauteurs moyennes pour les concentrations inférieures ou égales à 5 µg/l sont consignées dans le tableau VIII. Les courbes de croissance sont représentées dans la figure 9 pour les valeurs inférieures ou égales à 3 µg/l.

Aucune croissance n'est observée à 3 µg/l et 1 µg/l au delà des premières 24 heures d'exposition. A ces teneurs respectives, les taux de croissance du premier au 5ème jour (soit dans les deux cas avant intensification des mortalités) sont égaux à 6,5% et 8% de celui des témoins.

2.1.2.3. ACTION D'UN TRAITEMENT TEMPORAIRE DE T.B.T. SUR DES GAMETES.

Une inhibition de la segmentation est observée lorsque les ovules subissent un traitement temporaire à la teneur de 50 µg/l. A cette concentration les spermatozoïdes sont peu sensibles à l'action du T.B.T. L'ensemble des résultats est consigné dans le tableau IX.

AGE DES LARVES DEPUIS LA FECONDATION (JOURS)	TENEUR EN ACETATE DE TRIBUTYLE ETAIN ($\mu\text{g}/\text{l}$)			
	0	1	3	5
1	60,93 \pm 0,33	60,93 \pm 0,33	60,93 \pm 0,33	60,93 \pm 0,33
2	70,18 \pm 0,49	67,46 \pm 0,45	62,60 \pm 0,62	60,75 \pm 0,50
3	78,38 \pm 0,64	67,69 \pm 0,53	62,99 \pm 0,59	62,48 \pm 0,46
4	83,71 \pm 0,79	66,90 \pm 0,66	62,35 \pm 0,73	62,26 \pm 0,34
5	92,75 \pm 1,05	67,77 \pm 0,74	62,98 \pm 0,58	oooooooooooo
6	97,82 \pm 1,52	67,54 \pm 0,61	oooooooooooo	*****
8	129,80 \pm 2,79	66,54 \pm 0,58	*****	*****
10	152,70 \pm 3,58	oooooooooooo	*****	*****
12	170,28 \pm 4,05	oooooooooooo	*****	*****

oooooo Arrêt des mesures de croissance

***** Arrêt des élevages.

TABLEAU VIII : Hauteurs moyennes en μm exprimées au seuil de 95% des larves de *Crassostrea gigas* exposées à des concentrations croissantes en acétate de tributyle étain à partir du stade véligrè.

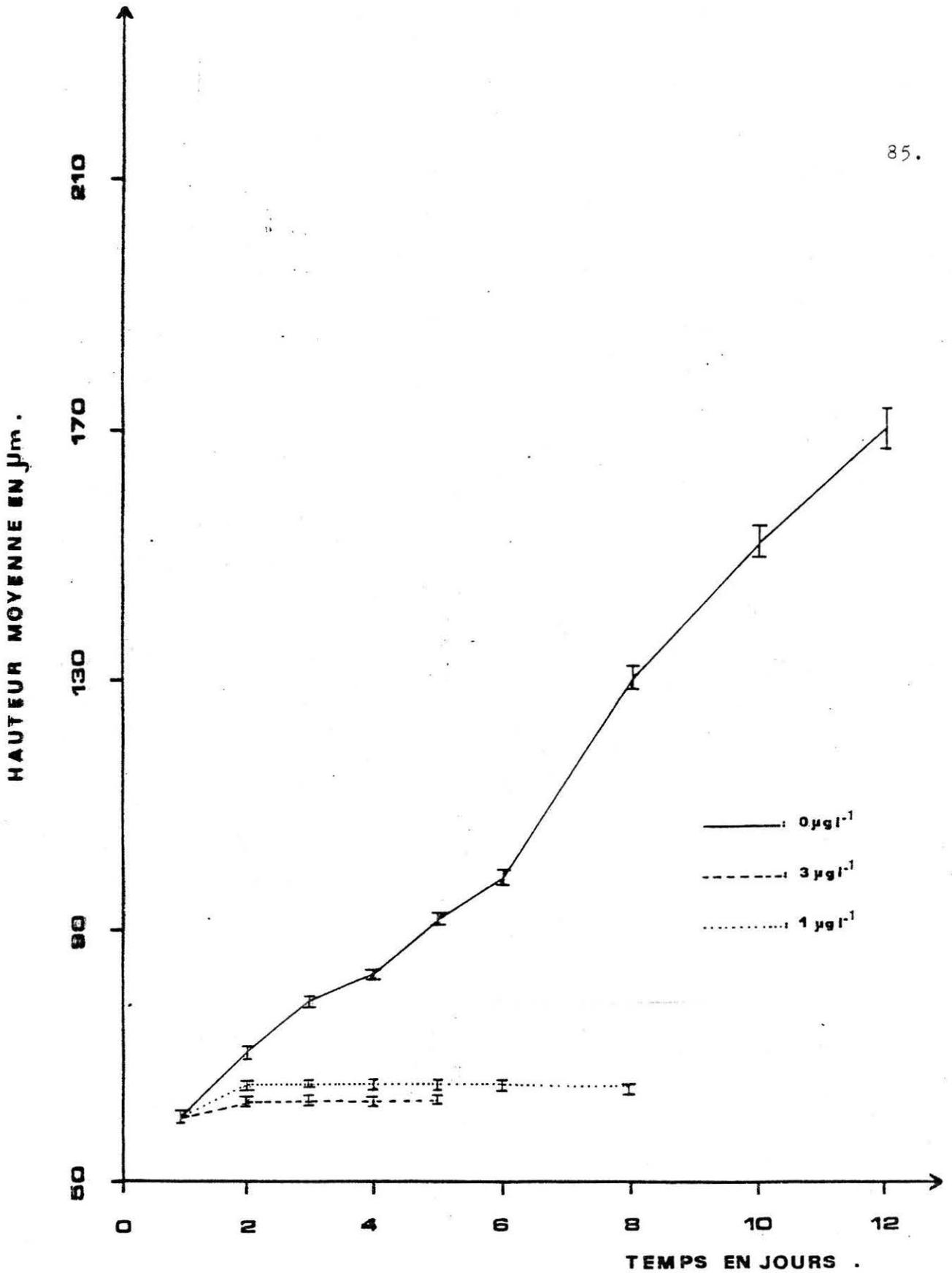


FIG 9 : CROISSANCE LARVAIRE DE CRASSOSTREA GIGAS EXPOSÉE A DES TENEURS CROISSANTES EN TBT .

TEMPS APRES FECONDATION (HEURES)	TEMOINS	SPERME TRAITE	OVULES TRAITEES
3	100% d'oeufs segmentés : stades 8 à 32	100% d'oeufs segmentés : stades 8 maximum	100% d'oeufs non segmentés
18	70% de larves normales. 30% de Trochophores	98% de larves D : 12% d'anormales	5% d'oeufs segmentés : stades 2 et 4

TABLEAU IX : Action de l'acétate de tributyle étain sur l'embryogénèse de *Crassostrea gigas* lorsque des ovules et des spermatozoïdes ont subi séparément avant fécondation un traitement d'une demie heure dans une solution à 50 µg/l de toxique. Les gamètes complémentaires non traités ont assuré la fécondation. Cette dernière, ainsi que le développement embryonnaire ont été réalisés en eau de mer non traitée.

2.1.3. DISCUSSION.

L'acétate de tributyle étain est toxique pour le développement embryonnaire de *Crassostrea gigas*. Son action s'exprime par :

- a) un blocage total de la fécondation à 100 µg/l;
- b) un blocage total de la segmentation à 50 µg/l qui peut être obtenu par un simple traitement temporaire des ovules pendant une demi-heure;
- c) des perturbations importantes de la segmentation jusqu'à une valeur de 3 µg/l où en aucun cas le stade véligère n'a été observé;
- d) formation de larves D toutes anormales à la teneur de 1 µg/l.

L'action d'un traitement permanent de T.B.T. à partir de la fécondation sur le développement larvaire de *Crassostrea gigas* s'exprime par :

- a) la non-viabilité des élevages au-delà de la première semaine;
- b) un blocage total de la croissance larvaire.

L'action d'un traitement permanent de T.B.T. à partir du stade véligère s'exprime par :

- a) une mortalité de masse après 24 heures d'exposition au toxique pour des valeurs supérieures ou égales à 25 µg/l ;
- b) Aux concentrations inférieures la précocité des mortalités est fonction de la teneur en toxique ;
- c) un blocage très marqué de la croissance larvaire dès la teneur de 1 µg/l.

Ces résultats sont compatibles avec ceux obtenus selon les mêmes techniques chez *Mytilus galloprovincialis* (Robert et His, 1981). Rappelons que nous avons tenu compte des exigences particulières de cette espèce et de ce fait, les élevages ont été conduits à la température de $19^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ et à la salinité de $32\text{‰} \pm 1\text{‰}$.

L'action d'un traitement permanent de T.B.T. chez *Mytilus galloprovincialis* à partir de la fécondation s'exprime par :

l'inhibition de la segmentation à $50 \mu\text{g/l}$.

A $5 \mu\text{g/l}$ et $3 \mu\text{g/l}$, 100% de trochophores monstrueuses sont obtenues dès les premières 24 heures et les élevages n'atteignent pas ultérieurement le stade véligère.

Dès la valeur de $1 \mu\text{g/l}$, l'acétate de tributyle étain intervient sur la formation des larves D. Vingt quatre heures après fécondation, 50% des véligères sont anormales.

D'autre part, toujours dans cette même expérience et à la valeur de $1 \mu\text{g/l}$, les élevages de *Mytilus galloprovincialis* sont totalement décimés le 6ème jour, comme observé chez *Crassostrea gigas*.

La croissance, quant à elle, est également inhibée.

L'action d'un traitement permanent de T.B.T. chez *Mytilus galloprovincialis* à partir du stade véligère s'exprime par :

- a) un blocage de la croissance larvaire à toutes les concentrations;
- b) une mortalité proportionnelle à la concentration en toxique qui est cependant moins importante que celle observée comparativement chez *Crassostrea gigas*. Ainsi, à 1 µg/l, la mortalité n'affecte que 6% des élevages chez *Mytilus* le 10ème jour, tandis qu'elle atteint 70% chez *Crassostrea*.

2.1.4. CONCLUSION.

L'acétate de tributyle étain est un produit d'une toxicité élevée pour les oeufs et les larves D de *Crassostrea gigas*.

Le seuil de sensibilité des larves de *Crassostrea gigas* se situe en dessous de 1 µg/l.

2.2. ACTION DU CHLORURE DE CUIVRE.

Le seuil de toxicité de ce sel métallique sur les embryons et les véligères de *Crassostrea virginica* a été démontré (Calabrese et al., 1973, 1977; Mac Innes et Calabrese, 1979).

Sa toxicité vis-à-vis de *Crassostrea gigas* a été recherché (Lewis et Cave, 1979).

La durée de ces expériences n'excédant pas 48 heures, peu de données sont apportées sur la croissance des véligères.

2.2.1. MATERIEL ET METHODE.

L'eau de l'Océan prélevée à 6 miles nautiques de la presqu'île du Cap Ferret a été ramenée à la salinité de 28‰.

Les gamètes utilisés provenaient de géniteurs de Normandie maturés à la S.A.T.M.A.R. et maintenus dans notre unité de conditionnement pendant une semaine.

Un seul couple parental a été sélectionné.

Les expériences ont été conduites pendant 7 jours durant lesquels un changement quotidien de l'eau et un apport de *Pavlova lutheri* ont été réalisés.

Une solution mère de 50 mg/l de chlorure de cuivre, facilement soluble dans l'eau de mer, a été utilisée pour la préparation des différentes solutions comprises entre 0 et 500 µg/l. Deux séries d'expériences ont été réalisées :

- Action d'un traitement permanent à partir de la fécondation à des concentrations de 0,5, 10, 25, 50 et 100 µg/l.

- Action d'un traitement permanent à partir du stade véligère à des concentrations de 0, 25, 50, 100, 250 et 500 µg/l.

2.2.2. RESULTATS.

2.2.2.1. ACTION D'UN TRAITEMENT PERMANENT DE CHLORURE DE CUIVRE A PARTIR DE LA FECONDATION.

Vingt quatre heures après l'adjonction des gamètes mâles, 65% des ovules ne sont pas segmentés à la concentration de 100 µg/l. Parmi les oeufs segmentés, 5% sont au stade stéroblastule ou morula et 30% au stade trochophore. Seuls 7% de ces trochophores sont normales. Les anomalies caractérisées par la présence de protubérances cellulaires donnent à ces trochophores des formes aberrantes. Des accolements de plusieurs individus par des "bras" cellulaires sont observés. Quarante huit heures après, les élevages sont décomposés. Quelques rares trochophores sont cependant notées.

Les larves D sont formées aux teneurs inférieures ou égales à 50 µg/l dès les premières 24 heures. Les taux d'anomalie et de mortalité larvaires à ces concentrations sont représentés dans le tableau X.

AGE DES LARVES DEPUIS LA FECONDATION (JOURS)	TENEUR EN CHLORURE DE CUIVRE ($\mu\text{g}/\text{l}$)				
	0	5	10	25	50
1	0,5 (0)	9 (0)	10 (0)	35 (0)	(0)
2	1 (0,5)	9 (1)	13 (2)	36 (1)	95 (0)
3	1 (1)	9 (1,5)	15 (2)	36 (1)	****

**** Arrêt des élevages

TABLEAU X : Taux d'anomalie et de mortalité larvaire exprimée en % () de *Crassostrea gigas* soumises à des concentrations croissantes en chlorure de cuivre à partir de la fécondation.

A la valeur de 50 $\mu\text{g}/\text{l}$, les larves D sont incomplètement formées dès les premières 24 heures : les 2 valves ne sont pas suffisamment développées pour entourer la masse viscérale. 48 heures après fécondation, le taux d'anomalie est égale à 95%. Les véligères présentent un bord dorsal concave, des échancrures à la commissure des valves et des boursoufflures plus ou moins marquées du vélum (verruve ou forme de crêpe).

Comme nous l'avons observé dans des expériences antérieures -2.1.2.1.- ce type d'élevage est amené à disparaître et n'a donc pas été maintenu.

Le taux d'anomalie est égal à 35% à 25 $\mu\text{g}/\text{l}$, 24 heures après la fécondation.

Celui-ci décroît aux concentrations inférieures; notons qu'il est sensiblement le même aux valeurs de 5 et 10 $\mu\text{g}/\text{l}$.

Les taux de mortalité sont presque nuls dans tous les élevages 24 et 48 heures après la fécondation. Celui-ci restera faible (inférieur ou égal à 7%) jusqu'à la fin des expérimentations.

L'action du chlorure de cuivre sur la croissance larvaire pour les concentrations inférieures ou égales à 25 $\mu\text{g}/\text{l}$ est représentée dans la figure 10, les données sur la taille des véligères étant regroupées dans le tableau XI.

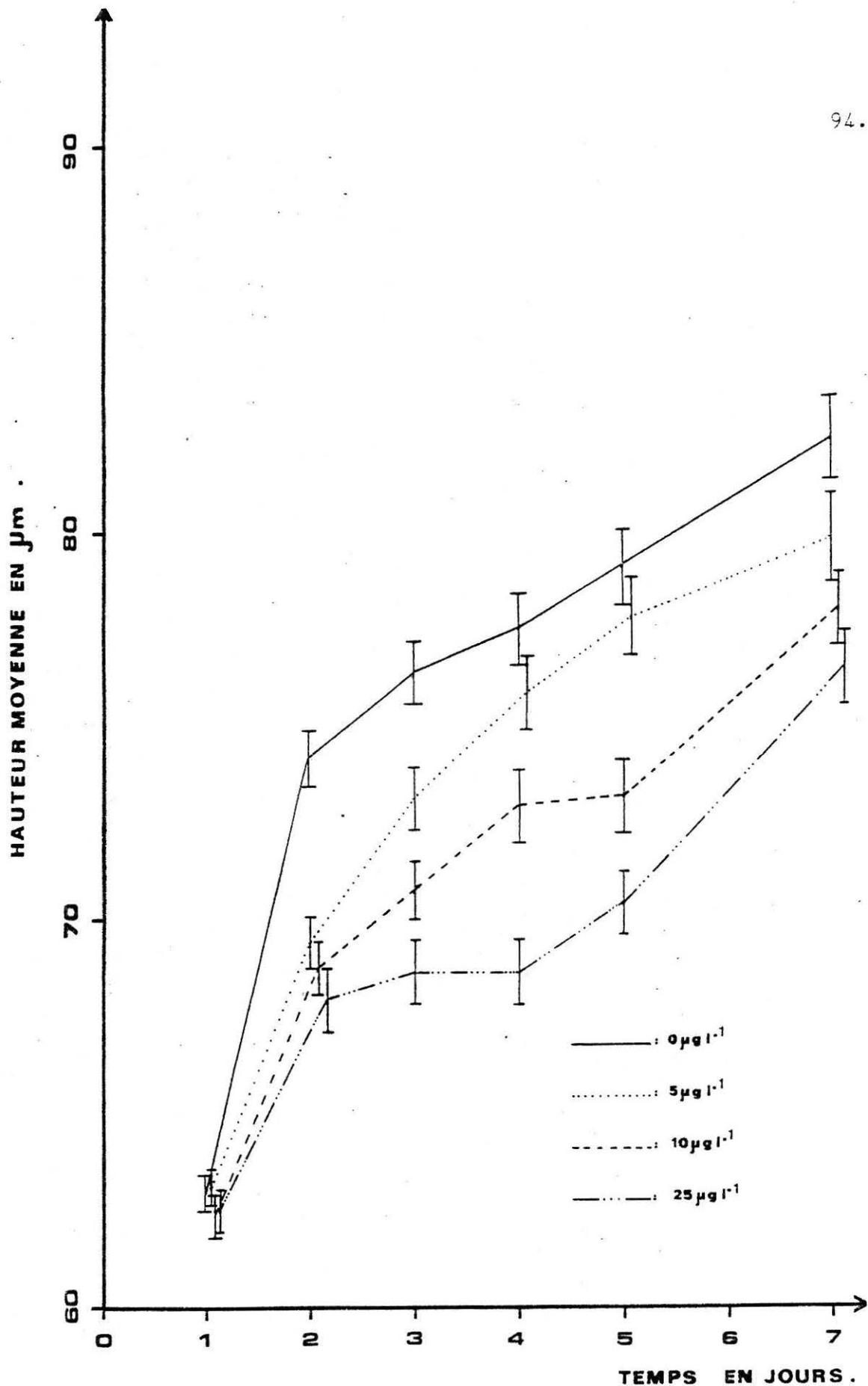


FIG10 : CROISSANCE LARVAIRE DE CRASSOSTREA GIGAS SOUMISE A DES TENEURS CROISSANTES EN CuCl_2 PENDANT ET APRÈS LA FÉCONDATION .

AGE DES LARVES DEPUIS LA FECONDATION (JOURS)	TENEUR EN CHLORURE DE CUIVRE ($\mu\text{g/l}$)			
	0	5	10	25
1	62,98 \pm 0,45	63,02 \pm 0,44	62,30 \pm 0,58	62,45 \pm 0,57
2	74,11 \pm 0,75	69,30 \pm 0,66	68,64 \pm 0,67	67,85 \pm 0,85
3	76,32 \pm 0,81	73,02 \pm 0,83	70,66 \pm 0,72	68,64 \pm 0,83
4	77,49 \pm 0,90	75,77 \pm 0,92	72,78 \pm 0,89	68,64 \pm 0,80
5	79,10 \pm 0,94	77,72 \pm 1,02	73,02 \pm 0,96	70,35 \pm 0,78
7	82,35 \pm 1,04	79,68 \pm 1,14	77,83 \pm 0,93	76,44 \pm 0,94

TABLEAU XI : Hauteurs moyennes en μm exprimées au seuil de 95% des larves de *Crassostrea gigas* exposées à des concentrations croissantes à partir de la fécondation.

Aucune différence significative de taille, au seuil de 95%, n'est observée 24 heures après la fécondation -jour 1-. Dès le 2ème jour, les larves témoins présentent une taille supérieure à l'ensemble des élevages traités au chlorure de cuivre. Ces derniers, par contre, à ce même jour, ne présentent entre eux aucune différence significative quant à leurs hauteurs moyennes. A partir du 3ème jour, les larves D répondent différemment et leur taille est fonction de la concentration en toxique.

2.2.2.2. ACTION D'UN TRAITEMENT PERMANENT
DE CHLORURE DE CUIVRE A PARTIR
DU STADE VELIGERE.

Comme dans l'expérience précédente -2.2.2.1.-, la valeur de 50 µg/l de chlorure de cuivre représente un seuil limite au-dessus duquel les véligères meurent rapidement. Ces mortalités sont fonction de la concentration en toxique (Tableau XII). Ainsi, au 3ème jour à 500 µg/l, les élevages sont totalement décimés, tandis que 70% de mortalité frappent les élevages à 250 µg/l. Au 4ème jour, 70% et 60% de mortalité atteignent respectivement les élevages à 150 µg/l et 100 µg/l.

Des contractions plus ou moins importantes de la masse viscérale affectent les véligères. Dans certains cas, celle-ci se détache et tourne alors sur elle-même à l'intérieur ou à l'extérieur des 2 valves. Le comportement larvaire est en outre fortement affecté. Les larves effectuent des mouvements rotatoires très rapides ; elles tournent sur elles mêmes comme des toupies.

AGE DES LARVES DEPUIS LA FECONDATION (JOURS)	TENEUR EN CHLORURE DE CUIVRE ($\mu\text{g}/\text{l}$)						
	0	25	50	100	150	250	500
1	0	0	0	0	0	0	0
2	0,5	0	3	2,5	1	4	88
3	1 (3,4)	1 (10,7)	3 (50,6)	8 (77,4)	6	70	100
4	6,5	11	13	60	70	****	****
5	8	16	26	91	****	****	****
7	10	18	45	****	****	****	****

**** Arrêt des élevages

TABLEAU XIII : Taux de mortalité larvaire exprimés en % de *Crassostrea gigas* soumises à des concentrations croissantes en chlorure de cuivre à partir du stade véligère. Les valeurs notées entre parenthèse correspondent aux taux de mortalité larvaire exprimés en % de *Crassostrea virginica* exposés à ce même toxique dans des conditions expérimentales similaires pendant 48 heures (Extrait de Mac Innes et Calabrese, 1979).

A ces concentrations, la croissance larvaire peut être considérée comme nulle (Tableau XIII).

Les courbes de croissance moyenne sont représentées dans la figure 11 pour les concentrations inférieures à 50 µg/l, et les données sur la taille sont représentées dans le tableau XIII.

Les véligères de 24 heures exposées au polluant, présentent rapidement un frein de croissance dont l'intensité est fonction de la concentration en toxique. Un plateau plus ou moins important caractérise la courbe de croissance des larves traitées.

2.2.3. DISCUSSION.

La toxicité du chlorure cuivrique sur le développement embryonnaire de *Crassostrea gigas* s'exprime par :

- a) un blocage de la segmentation dès la valeur de 100 µg/l;
- b) un retard dans la segmentation et la formation de larves D toutes anormales à 50 µg/l;
- c) un taux d'anomalie encore élevé à 25 µg/l.

Ces résultats sont compatibles avec ceux obtenus sur *Crassostrea virginica* (Mac Innes et Calabrese, 1979). Ainsi pour une température de 25°C, une salinité de 27,5‰ et des concentrations

AGE DES LARVES DEPUIS LA FECONDA-TION (JOURS)	TENEUR EN CHLORURE DE CUIVRE ($\mu\text{g/l}$)						
	0	25	50	100	150	250	500
1	62,98 \pm 0,45	62,98 \pm 0,45	62,98 \pm 0,45	62,98 \pm 0,45	62,98 \pm 0,45	62,98 \pm 0,45	62,98 \pm 0,45
2	74,11 \pm 0,75	69,30 \pm 0,73	65,30 \pm 0,65	65,02 \pm 0,90	63,78 \pm 0,52	62,45 \pm 0,47	63,35 \pm 0,52
3	76,32 \pm 0,81	69,38 \pm 0,70	66,54 \pm 0,57	64,35 \pm 0,63	63,73 \pm 0,55	62,62 \pm 0,82	*****
4	77,49 \pm 0,90	69,59 \pm 0,82	66,31 \pm 0,72	64,54 \pm 0,58	*****	*****	*****
5	79,10 \pm 0,94	69,68 \pm 0,77	67,30 \pm 0,85	65,97 \pm 0,25	*****	*****	*****
7	82,35 \pm 1,04	75,40 \pm 0,94	67,83 \pm 0,80	*****	*****	*****	*****

***** Arrêt des élevages

TABLEAU XIII : Hauteurs moyennes en μm exprimées au seuil de 95% des larves de *Crassostrea gigas* exposées à des concentrations croissantes en chlorure de cuivre à partir du stade véligère.

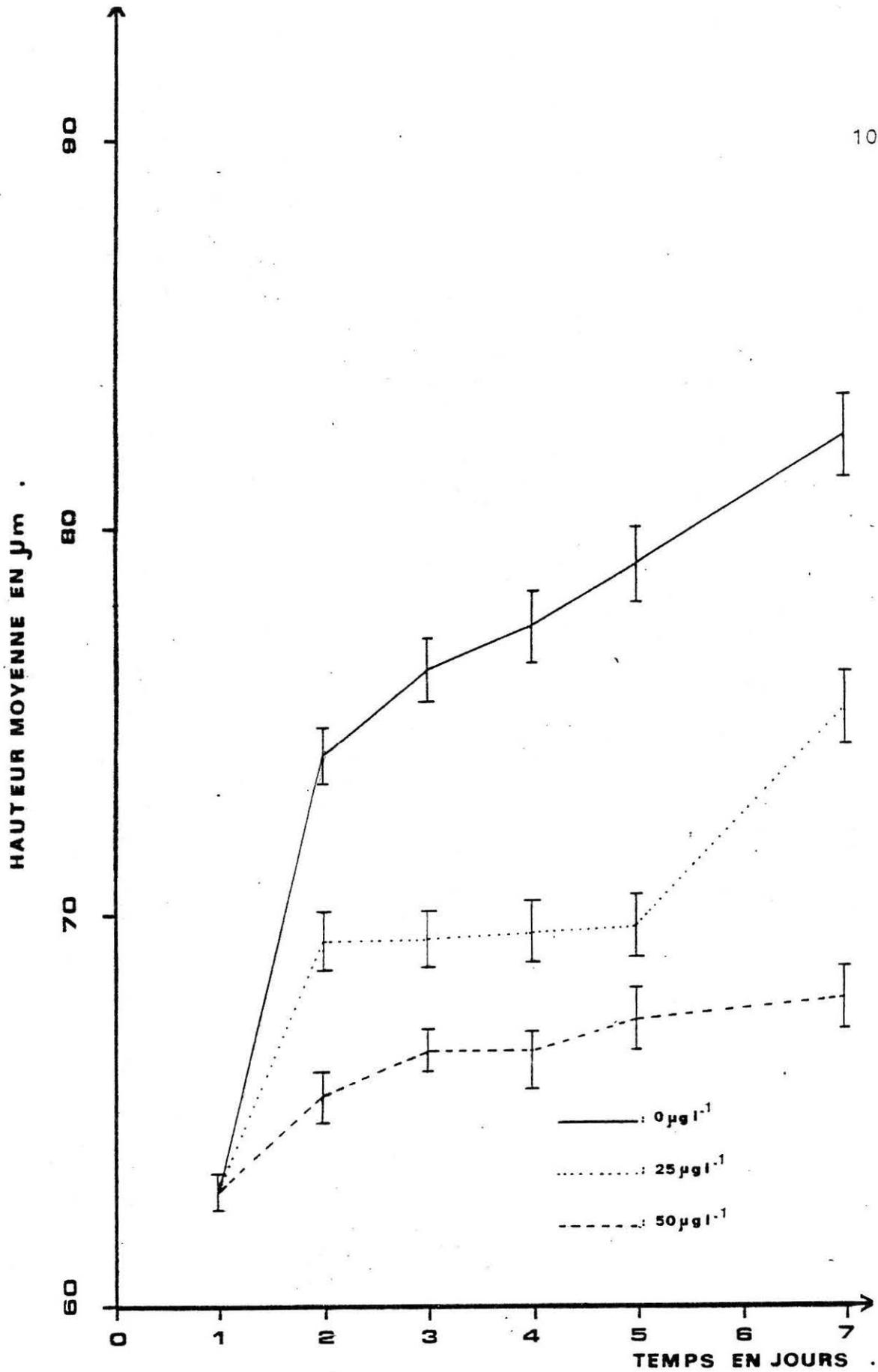


FIG 11 : CROISSANCE LARVAIRE DE CRASSOSTREA GIGAS SOUMISE A DES TENEURS CROISSANTES EN CuCl_2 24 HEURES APRES LA FÉCONDATION .

en chlorure de cuivre de 0, 5, 10, et 20 $\mu\text{g}/\text{l}$, le pourcentage de larves anormales 48 heures après fécondation est respectivement de 1,4, 2,6, 4,4 et 30,8. Ces taux légèrement inférieurs pourraient s'expliquer par le traitement d'oeufs fécondés. Rappelons qu'au laboratoire, le traitement est effectué sur des gamètes en cours de fécondation.

Ils s'opposent par contre à ceux de Lewis et Cave (1979) qui considèrent qu'aucun embryon de *Crassostrea gigas* ne survivrait au delà de 48 heures à la teneur de 20 $\mu\text{g}/\text{l}$ de cuivre.

L'action d'un traitement permanent de chlorure de cuivre à partir du stade véligère s'exprime par :

- a) une mortalité massive des élevages proportionnelle à la concentration en toxique pour des valeurs supérieures ou égales à 50 $\mu\text{g}/\text{l}$. Pour des concentrations inférieures, ces mortalités moins importantes sont similaires à celles obtenues par Mac Innes et Calabrèse (1979), tableau XII. Cependant, celles-ci sont différées dans nos élevages d'un jour en ce qui concerne les valeurs de 25 $\mu\text{g}/\text{l}$ et 100 $\mu\text{g}/\text{l}$ et de 3 jours en ce qui concerne 50 $\mu\text{g}/\text{l}$;
- b) un frein très marqué de la croissance larvaire. A 50 $\mu\text{g}/\text{l}$, la croissance larvaire est inhibée après 2 jours d'exposition au toxique et la reprise de croissance apparente en fin d'expérience est probablement due à la disparition des véligères de petite taille par mortalité (45%). A 25 $\mu\text{g}/\text{l}$, la courbe de croissance larvaire est similaire à celle obtenue dans l'expérience précédente (2.2.2.1., figure 11).

L'action de ce toxique comparée à celle de l'acétate de tributyle étain, permet de remarquer que :

A la valeur de 100 µg/l, le chlorure de cuivre inhibe la segmentation chez 65% des ovules, le T.B.T. à cette teneur inhibe totalement la fécondation.

En donnant naissance à des véligères anormales, le chlorure de cuivre perturbe la segmentation à 50 µg/l. A cette concentration, un simple traitement temporaire des ovules par le T.B.T. (une demi-heure) inhibe la segmentation.

Aux teneurs inférieures, 25 µg/l, 10 µg/l, 5 µg/l, le CuCl_2 n'empêche pas la formation de larves D et permet une croissance larvaire qui est cependant affectée. A ces mêmes concentrations en acétate de tributyle étain, le stade véligère n'est jamais atteint. Des larves D de 24 heures, plus résistantes, sont rapidement foudroyées.

2.2.4. CONCLUSION.

L'action du CuCl_2 s'exprime par des perturbations importantes de l'embryogénèse de *Crassostrea gigas* à des faibles teneurs.

La croissance de larves D, obtenues en présence du toxique au moment de la fécondation ou après, est fortement affectée. L'allongement de la vie larvaire favorise la disparition des véligères

par prédation. D'autre part, Losee (1979) montre l'existence d'une corrélation directe entre la croissance larvaire et la croissance du naissain. Des larves mises en présence de ce toxique donneront de ce fait du naissain de mauvaise qualité. Enfin, outre l'action directe du CuCl_2 , Mac Innes et Calabrèse (1979) ont montré que des larves traitées avec ce polluant sont rendues fragiles vis-à-vis des conditions adverses du milieu (température, salinité).

Pour l'ensemble de ces raisons, la valeur de 10 $\mu\text{g}/\text{l}$ apparaît être le seuil de sensibilité des oeufs et des larves D de *Crassostrea gigas* au chlorure de cuivre.

Cependant, ce composé est beaucoup moins toxique que l'acétate de tributyle étain dont le seuil de sensibilité est inférieur à 1 $\mu\text{g}/\text{l}$.

2.3. APPLICATION A L'ETUDE DE LA "QUALITE BIOLOGIQUE" DE L'EAU DU PORT DE PLAISANCE DU BASSIN D'ARCACHON.

Le T.B.T. dont la forte toxicité vient d'être démontrée, rentre dans la composition de nombreuses peintures antisalissures très utilisées sur le bassin d'Arcachon (Alzieu, 1981).

Les principaux organostanniques ne présentent pas la même vitesse de dégradation (de la Court et Vries, 1976). Concernant l'acétate de tributyle étain, sa persistance dans le milieu peut être estimée à 8 - 9 mois (Alzieu, 1981).

Or la détection de ce toxique dans l'environnement se heurtait à des difficultés techniques -identification, dosage-. Les méthodes utilisées à cette époque ne permettaient pas de déterminer des teneurs en T.B.T. inférieures à 10 µg/l (Callame, communication personnelle).

L'ensemble de ces observations a conduit à supposer que l'emploi des peintures antisalissures à base d'étain pouvait être responsable des perturbations de la reproduction de l'huître japonaise du bassin d'Arcachon.

Si la teneur moyenne en organostannique dans le bassin d'Arcachon due à la lixiviation des peintures antisalissures était responsable des anomalies du développement larvaire, ces dernières devraient être similaires ou mieux caractérisées dans le port de plaisance où la concentration en bateaux est la plus importante.

2.3.1. MATERIEL ET METHODE.

Des pontes et des élevages larvaires ont été réalisés en laboratoire avec de l'eau prélevée dans le port de plaisance d'Arcachon à mi-marée descendante au mois de juillet 1981 où l'activité nautique était importante.

Les élevages témoins ont été conduits avec de l'eau de l'Océan prélevée à 7 milles marins

du Cap Ferret. Les salinités étaient similaires, 32‰ ± 1‰, et n'ont donc pas été corrigées. Les gamètes utilisés provenaient de géniteurs du bassin d'Arcachon mis en conditionnement pendant 3 semaines. Les pontes obtenues en juillet furent abondantes.

Cette expérience était intégrée à une série nécessitant un nombre important d'oeufs.

Aussi les gamètes issus de trois femelles ont été répartis après homogénéisation et fécondés avec une suspension de sperme provenant d'un seul mâle. Une seule expérience a été réalisée. Elle consistait à déterminer l'influence de la "qualité biologique" de l'eau du port de plaisance sur la fécondation, l'embryogénèse et la croissance des véligères.

2.3.2. RESULTATS.

Vingt quatre heures après la fécondation, le stade véligère est atteint aussi bien dans l'eau de l'océan que dans celle du port de plaisance. Les larves D obtenues dans cette dernière présentent cependant un taux important d'anomalie (tableau XIV), caractérisé par des concavités du bord dorsal, des échancrures à la commissure des valves et des boursoufflures plus ou moins marquées du vélum. Au second et troisième jours, 40% de larves anormales sont dénombrées.

Comparativement, le taux d'anomalie est de 12% au premier jour dans les élevages conduits en eau de l'Océan. Il atteint 15% au second et troisième jour.

Les mortalités affectent rapidement les élevages conduits en eau du port de plaisance (Tableau XIV). Ainsi, au 4ème jour, 11% de mortalités sont décelées. Au-delà du 10ème jour. Ces mortalités ne frappent qu'une partie spécifique de la population, principalement les larves anormales et les véligères de plus petites tailles. En eau de l'Océan, le taux de mortalité reste faible la première semaine, 2% mais atteint 15% au 12ème jour d'élevage.

L'action de la "qualité biologique" de l'eau du port de plaisance sur la croissance larvaire est représentée dans la figure 12, les données sur les hauteurs moyennes des véligères étant consignées dans le tableau XV.

Les élevages conduits dans l'eau du port de plaisance présentent une croissance plus faible que ceux de l'eau de l'Océan. Ainsi, au 10ème jour, où les mortalités sont similaires, le taux de croissance des véligères élevées en eau du port de plaisance est égal à 60% de celui des larves témoins.

L'analyse démographique des différentes populations permet de constater que, dès le 6ème jour, les élevages conduits avec de l'eau du port de plaisance présentent deux populations larvaires distinctes (superposition des Figures 13 et 14) :

- une population à taille normale,
- une population à taille nettement inférieure.

Ainsi, au 6ème jour, 26% de la population larvaire du port de plaisance a une moyenne de taille inférieure à la normale. Au 8ème jour, 50% de la

AGE DES LARVES DEPUIS LA FECONDATION (JOURS)	ORIGINE DE L'EAU D'ELEVAGE	
	PORT DE PLAISANCE D'ARCACHON	OCEAN
1	0 (38)	0 (12)
2	1 (40)	0 (15)
4	11 (40)	2 (15)
6	11,5	2
8	11	10
10	14	8
12	40	15

TABLEAU XIV : Taux de mortalité et d'anormalie larvaire () exprimés en % de *Crassostrea gigas* élevée dans des eaux de différentes origines.

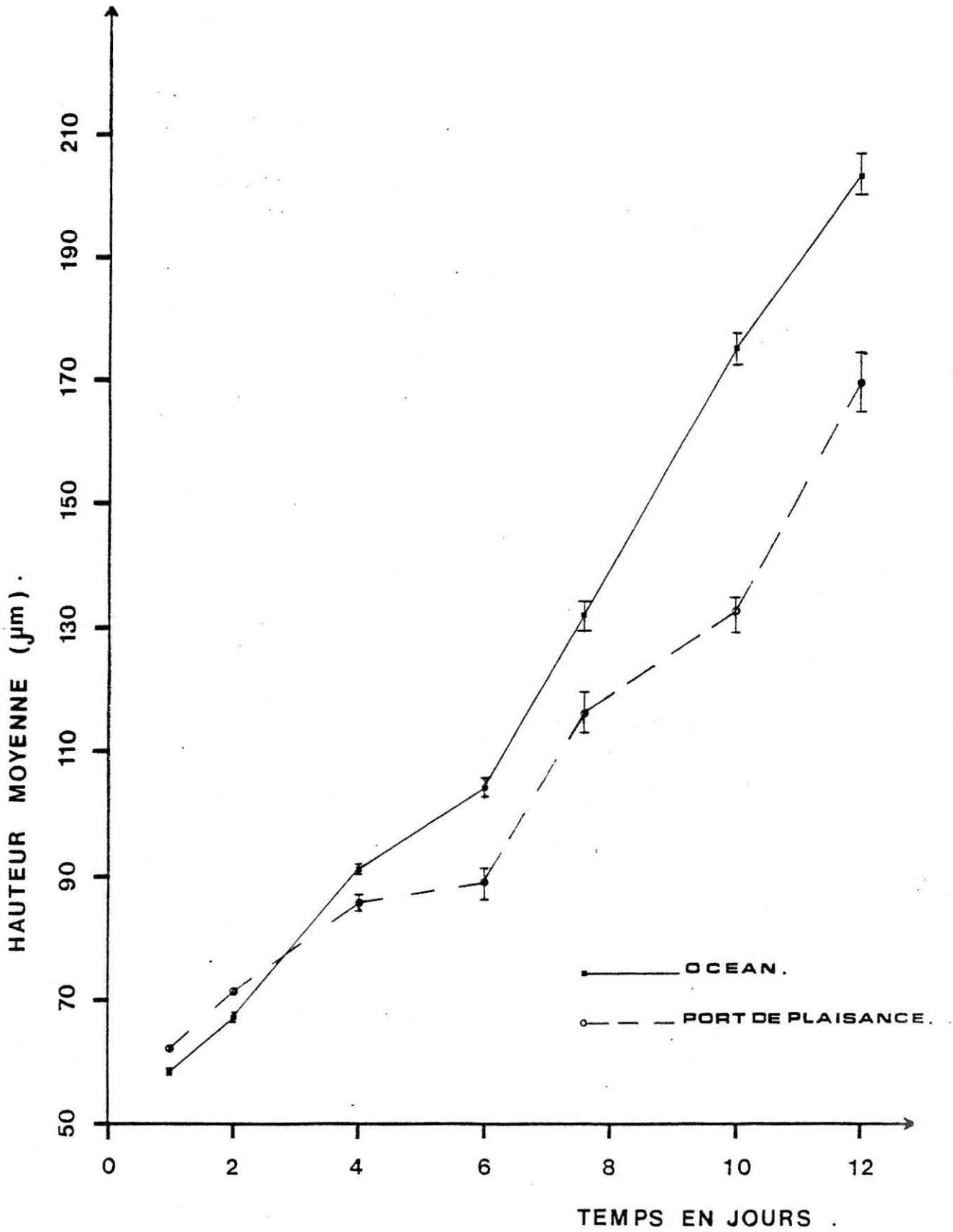


FIG 12: CROISSANCE LARVAIRE DE CRASSOSTREA GIGAS EN EAU DE DIFFÉRENTES ORIGINES .

AGE DES LARVES DEPUIS LA FECONDATION (JOURS)	ORIGINE DE L'EAU DE L'ELEVAGE	
	PORT DE PLAISANCE D'ARCACHON	OCEAN
1	62,65 \pm 0,68	58,70 \pm 0,88
2	71,88 \pm 0,80	67,27 \pm 0,99
4	85,21 \pm 1,74	91,12 \pm 1,44
6	88,31 \pm 3,74	105,45 \pm 2,44
8	116,71 \pm 5,16	132,41 \pm 3,95
10	132,58 \pm 4,71	174,51 \pm 4,08
12	169,13 \pm 7,57	202,83 \pm 5,21

TABLEAU XV : Hauteurs moyennes en μm exprimées au seuil de 95% de *Crassostrea gigas* élevée dans des eaux de différentes origines.

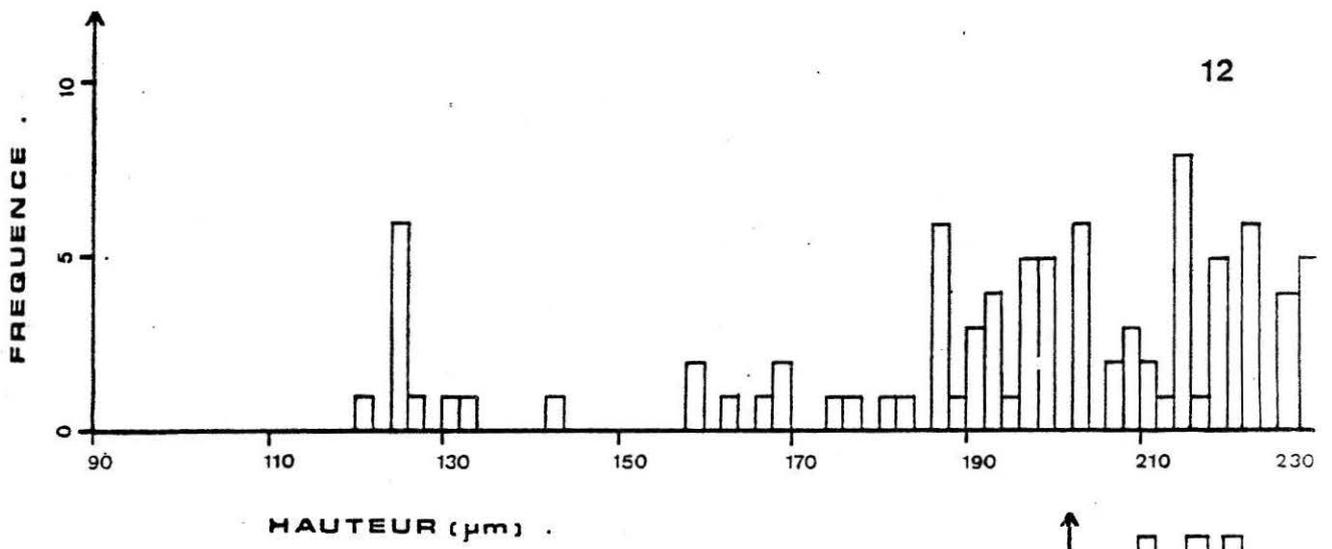
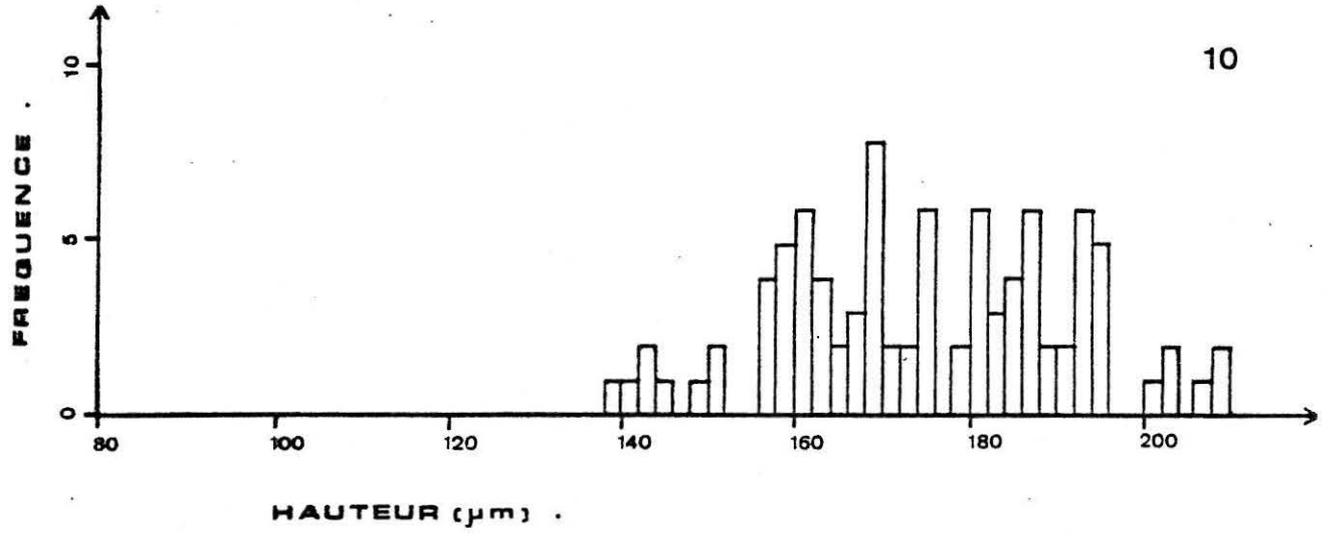
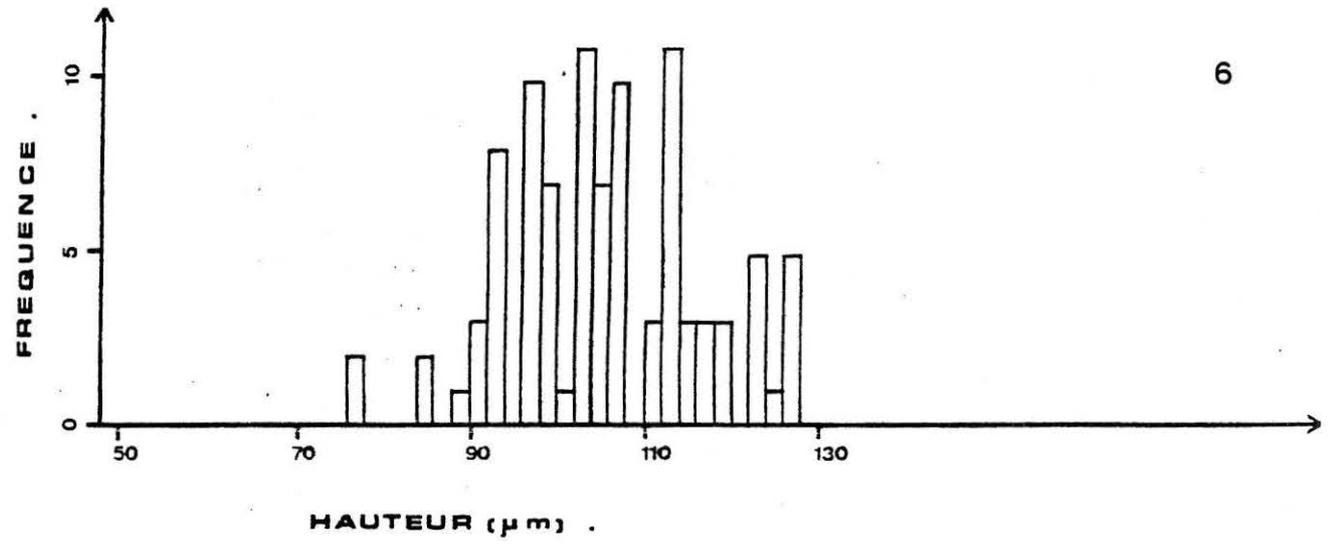
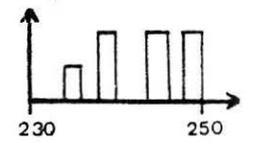
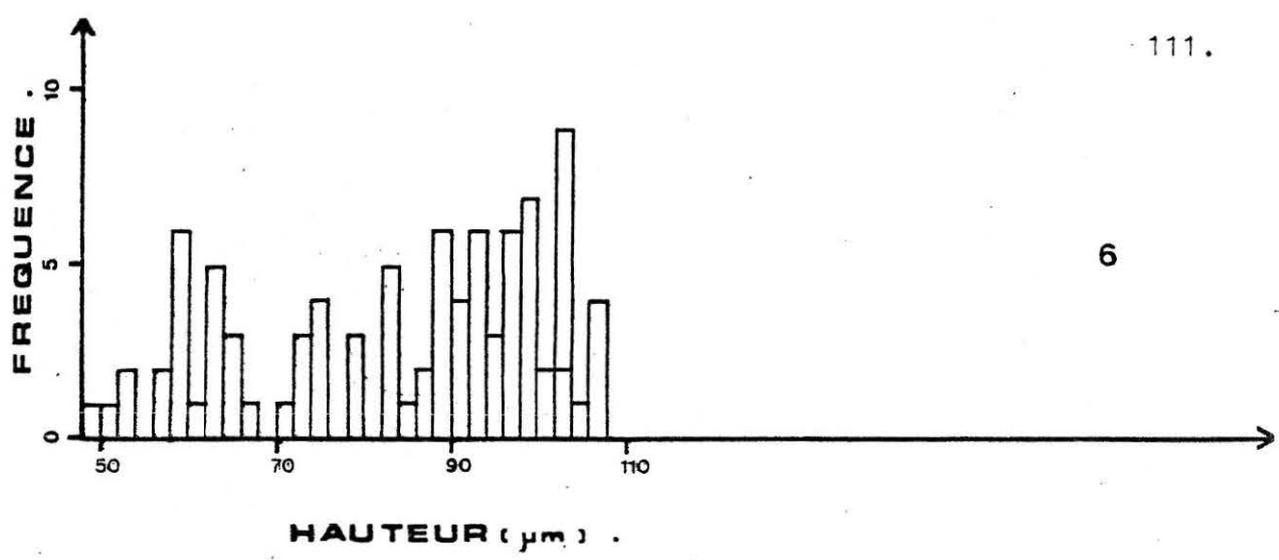
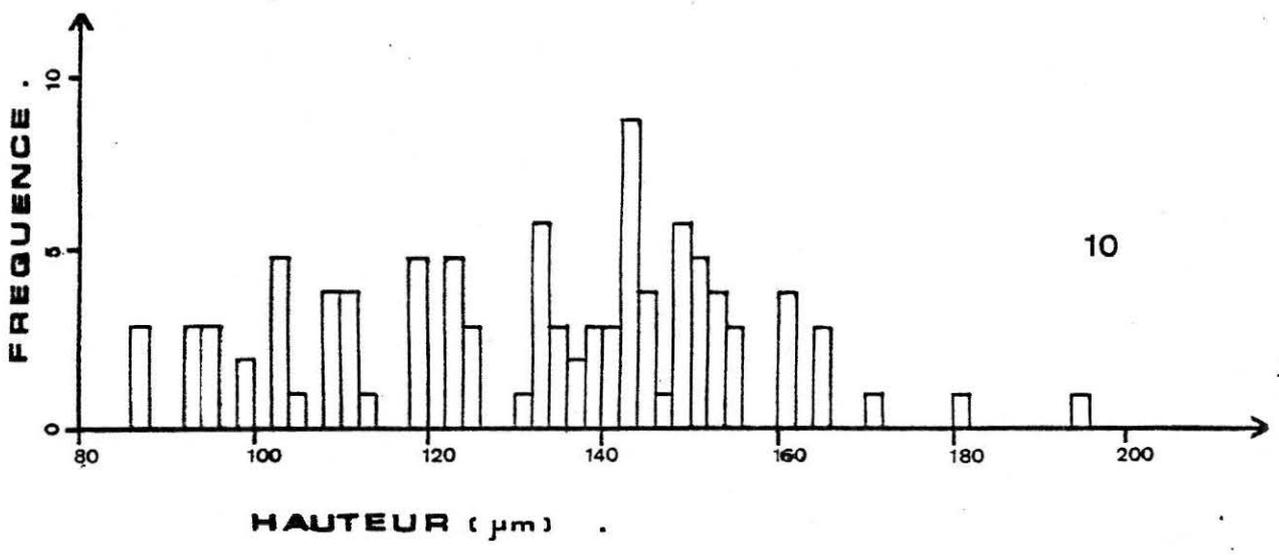


FIG13: DISTRIBUTION DES HAUTEURS LARVAIRES DE CRASSOSTREA GIGAS ÉLEVÉE EN EAU DE L'OcéAN AU SIXIÈME.6., DIXIÈME.10. ET DOUXIÈME.12. JOURS .

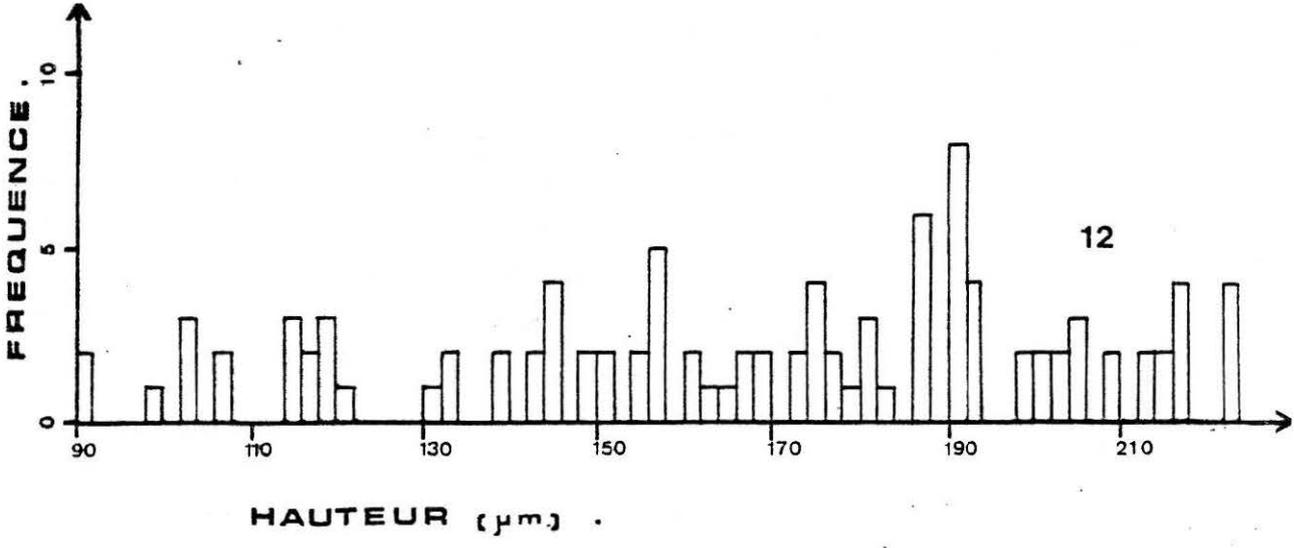




6



10



12

FIG14: DISTRIBUTION DES HAUTEURS LARVAIRES DE CRASSOSTREA GIGAS ÉLEVÉE EN EAU DU PORT DE PLAISANCE AU SIXIÈME -6-, DIXIÈME -10- ET DOUXIÈME -12- JOURS .

population est anormalement petite. Les mortalités frappent ultérieurement les véligères de petite taille, aussi ce phénomène s'atténue le 12ème jour.

2.3.3. DISCUSSION ET CONCLUSION.

L'influence de la "qualité biologique" de l'eau du port de plaisance d'Arcachon sur le développement embryonnaire s'exprime par une perturbation de la segmentation donnant naissance à un taux important de véligères anormales. En aucun cas des blocages de la fécondation ni de la segmentation ne sont observés. Son action sur le développement larvaire s'exprime par :

- a) une mortalité sélective non négligeable après 12 jours d'élevage;
- b) un frein de la croissance larvaire;
- c) la mise en évidence de 2 populations larvaires distinctes par la taille.

Ce dernier phénomène caractérise certains milieux pollués (Robert et His, 1981; His et Robert, 1982).

L'eau du port de plaisance d'Arcachon ne permet pas un développement embryonnaire ni un développement larvaire normal chez *Crassostrea gigas*. Cependant, en aucun cas les phénomènes observés, lorsque des oeufs en cours de fécondation sont exposés à une concentration aussi basse que 1 µg/l

d'acétate de tributyle étain, ne sont retrouvés. Si la teneur en T.B.T. présente dans le port de plaisance est responsable des phénomènes ci-dessus décrits, celle-ci est inférieure à 1 $\mu\text{g}/\text{l}$.

D'autre part, en aucun cas les phénomènes décrits dans le bassin d'Arcachon ne sont retrouvés. Si des perturbations sont observées lorsque des élevages sont conduits avec de l'eau du port de plaisance, cette dernière permet cependant un développement larvaire. Le stade des "évoluées" est atteint dès le 6ème jour. Au 12ème jour, 66% de "moyennes" et 3% de "grosses" sont dénombrées.

Il semble difficile dans ces conditions d'imputer aux peintures antisalissures la responsabilité des échecs de la reproduction dans le bassin d'Arcachon par action directe sur les véligères.

C H A P I T R E I I I .

DEVELOPPEMENTS LARVAIRES DES HUITRES DU BASSIN

D'ARCACHON EN EAU DU BASSIN D'ARCACHON.

INFLUENCE DE LA TEMPERATURE.

CHAPITRE III.

DEVELOPPEMENTS LARVAIRES DES HUITRES DU BASSIN D'ARCACHON EN EAU DU BASSIN D'ARCACHON. INFLUENCE DE LA TEMPERATURE.

Plusieurs hypothèses ont été émises et abordées dans ce travail pour tenter d'expliquer les échecs répétés du captage dans le bassin d'Arcachon ces dernières années :

- la mauvaise "qualité" des géniteurs du bassin d'Arcachon;
- la mauvaise "qualité biologique" de l'eau du bassin d'Arcachon;
- le facteur température à la suite des étés relativement frais.

Rappelons que dans le milieu naturel il n'y a pas développement des larves D qui se forment normalement. L'étude des croissances larvaires et l'analyse démographique des populations sont donc des moyens d'aborder le phénomène. Celles-ci ont été réalisées sur des larves produites en écloserie et sur des véligères récoltées dans le bassin au moment des pontes.

3.1. EXPERIENCES REALISEES AVEC DES LARVES PRODUITES EN ECLOSERIE.

Des huîtres, captées sur collecteur dans le bassin d'Arcachon et mises en élevage sur place plus ou moins longtemps, ont été utilisées comme géniteurs. Ces derniers originaires du bassin d'Arcachon seront appelés par la suite, géniteurs du bassin.

3.1.1. CARACTERISTIQUES DES LARVES ISSUES DE GENITEURS DU BASSIN D'ARCACHON.

L'accumulation de toxiques pendant la gamétogénèse ou la formation de réserves vitellines insuffisantes pourraient se traduire ultérieurement par la non viabilité des larves formées. Les géniteurs, ayant la même origine, seule la "qualité" de leur maturation dans le bassin d'Arcachon a été appréhendée.

Après captage et demi élevage dans le bassin d'Arcachon, des huîtres y sont élevées en permanence. Elles y développent leurs produits génitaux. Elles représentent donc des géniteurs du bassin maturés dans le bassin d'Arcachon.

D'autres sont transférés dans des parcs d'élevage situés dans différents centres ostréicoles (Bretagne, Normandie ...) où se déroule leur gamétogénèse. Elles représentent donc des géniteurs du bassin maturés à l'extérieur. Les stocks larvaires issus de ces derniers serviront de témoins.

Dans tous les cas, la maturation a été achevée en circuit fermé selon les techniques précédemment décrites -Chapitre I, paragraphe 1.2.-. Pontes, développements embryonnaires et larvaires ont été réalisés avec de l'eau de l'Océan.

3.1.1.1. CARACTERISTIQUES DES LARVES ISSUES
DE GENITEURS DU BASSIN D'ARCACHON
MATURES A L'EXTERIEUR.

Deux stocks de géniteurs ont été utilisés. Le premier mis en élevage à Cancale, appelé par la suite Cancale 1, a abondamment pondu le 1er avril 1981.

Les pourcentages d'anomalie et de mortalité sont restés faibles, respectivement 5% et 7% au 12ème jour d'élevage.

La croissance moyenne est représentée dans la figure 15, les données sur les hauteurs moyennes étant consignées dans le tableau XVI. Au sixième jour, 11% des larves sont "évoluées". Au huitième jour ce taux est égal à 87,5% et 4,5% de "moyennes" sont dénombrées.

Au douzième jour, toutes les larves sont umbonées. La population est constituée de 17,5% d'"évoluées" et 82,5% de "moyennes".

Ces élevages ont été poursuivis jusqu'aux stades pédivéligère et plantigrade.

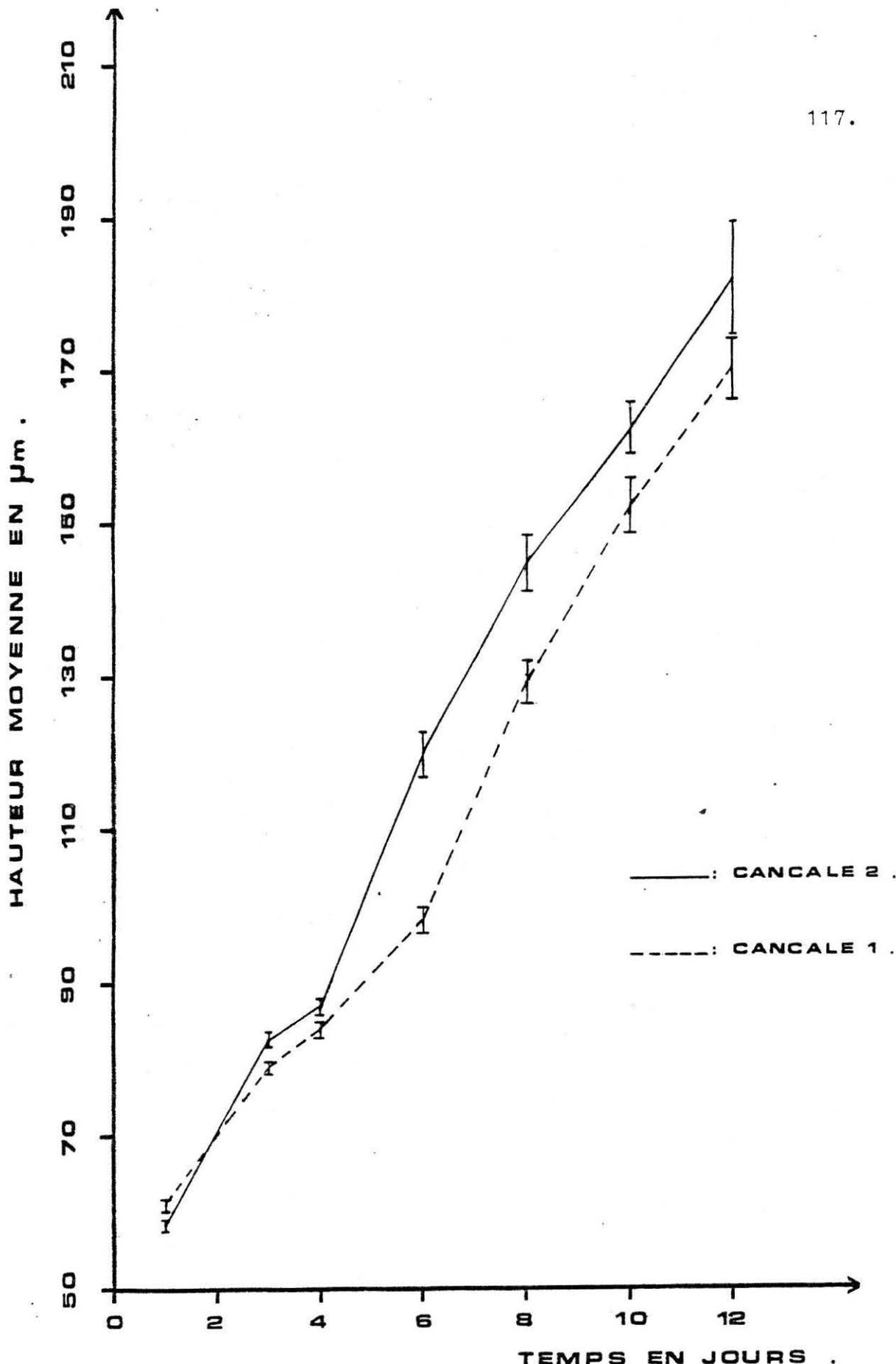


FIG 15 : croissance larvaire en eau de l'océan de *Crassostrea gigas* maturée à l'extérieur du bassin d Arcachon .

TEMPS DEPUIS LA FECONDATION (JOURS)	LIEU DE LA MATURATION DES GENITEURS	
	CANCALE 1	CANCALE 2
1	60,93 \pm 0,33	58,28 \pm 0,39
3	78,38 \pm 0,64	82,29 \pm 0,92
4	83,71 \pm 0,79	86,46 \pm 1,12
6	97,82 \pm 1,52	119,73 \pm 2,96
8	129,80 \pm 2,79	144,87 \pm 3,68
10	152,70 \pm 3,58	162,30 \pm 3,43
12	170,28 \pm 4,05	182,07 \pm 5,15

TABLEAU XVI : Hauteurs moyennes, exprimées en μm , au seuil de 95%, de véligères de *Crassostrea gigas* prélevées dans le bassin d'Arcachon et maturées à l'extérieur -Cancale-. Les développements embryonnaires et larvaires ont été réalisés avec de l'eau de l'Océan.

Les gamètes utilisés lors de la 2ème série d'expériences étaient issus d'un stock de géniteurs maturés également à Cancale appelé ultérieurement Cancale 2. Bien que plus difficile à obtenir, une ponte abondante a eu lieu le 10 juin 1981. La salinité de l'eau était de 32‰.

Les pourcentages d'anomalie et de mortalité sont restés faibles, respectivement 8% et 2% en fin d'expérience.

La courbe de croissance larvaire est représentée dans la figure 15 et les hauteurs moyennes sont indiquées dans le tableau XVI.

Dès le sixième jour, 86% de la population est umbonée dont 84% d'"évoluées" et 2% de "moyennes".

Au huitième jour ce pourcentage atteint 96% dont 57% d'"évoluées" et 39% de "moyennes".

Au douzième jour, toutes les larves sont "umbonées". La population est alors composée de 9,5% d'"évoluées", 86% de "moyennes" et 4,5% de "grosses".

Le développement de véligères issues de géniteurs du bassin d'Arcachon maturés à l'extérieur est très satisfaisant.

3.1.1.2. CARACTERISTIQUES DES LARVES ISSUES
DE GENITEURS DU BASSIN MATURES DANS
LE BASSIN D'ARCACHON.

Deux stocks de géniteurs ont été utilisés.

Le premier prélevé à la Villa Algérienne (Figure 1), appelé par la suite Villa Algérienne 3, a rapidement et abondamment pondu le 6 mai 1981.

Les pourcentages d'anomalie et de mortalité sont faibles, 2% au 12ème jour d'élevage.

La figure 16 représente la croissance larvaire, les données sur les hauteurs moyennes étant présentées dans le tableau XVII.

Au sixième jour, 59% des larves sont "évoluées".

Dès le huitième jour, toutes les larves sont umbonnées dont 98% d'évoluées" et 2% de "moyennes".

Au douzième jour, les "moyennes" représentent 82% de la population.

Les gamètes utilisés lors de la 2ème série d'expériences étaient issus d'un stock de géniteurs prélevé au Cap Ferret (Figure 1) appelé ultérieurement Cap Ferret 4. Bien qu'abondante, la ponte du 15 Juillet 1981 fut plus difficile à obtenir.

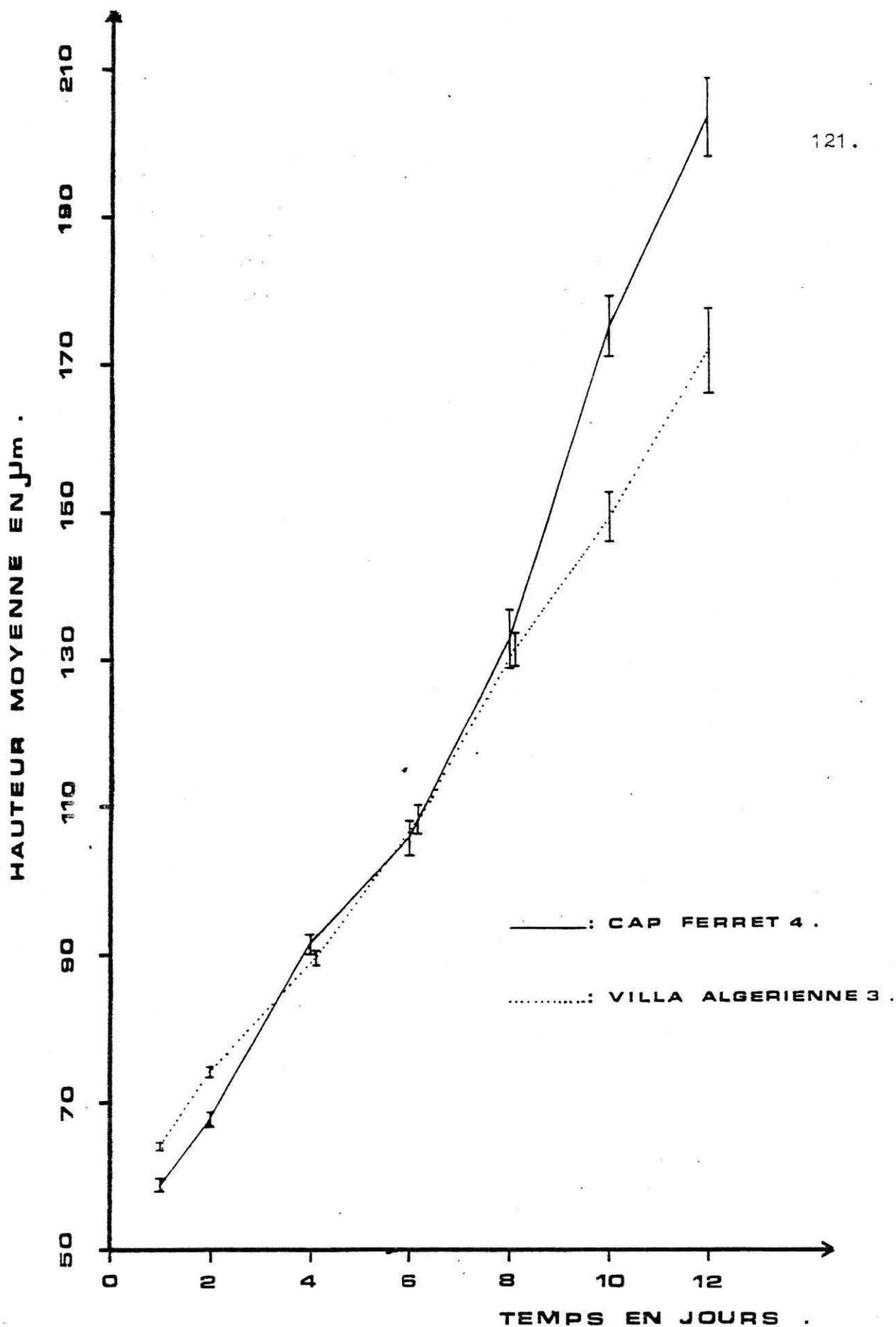


FIG 16 : croissance larvaire en eau de l'océan de *Crassostrea gigas* maturée dans le bassin d'arcachon .

TEMPS DEPUIS LA FECONDATION (JOURS)	LIEU DE LA MATURATION DES GENITEURS.	
	VILLA ALGERIENNE 3	CAP FERRET 4
1	63,91 ± 0,46	58,70 ± 0,88
2	74,13 ± 0,63	67,27 ± 0,99
4	89,32 ± 0,96	91,12 ± 1,44
6	107,88 ± 1,90	105,45 ± 2,44
8	130,95 ± 2,35	132,41 ± 3,95
10	148,87 ± 3,55	174,51 ± 4,08
12	171,70 ± 5,74	202,83 ± 5,21

TABLEAU XVII : Hauteurs moyennes, exprimées en μm , au seuil de 95%, de véligères de *Crassostrea gigas* maturées dans le bassin d'Arcachon. Les développements embryonnaires et larvaires ont été réalisés avec de l'eau de l'Océan.

Vingt quatre heures après la fécondation, 15% de véligères anormales sont dénombrées et ceci jusqu'au 8ème jour d'élevage. Ultérieurement ce taux diminue et ne présente que 5% en fin d'expérience.

La mortalité faible la première semaine (2%) augmente ultérieurement (15% au 12ème jour d'élevage) et touche principalement les larves anormales.

La courbe de croissance larvaire est représentée dans la figure 16, les données sur les hauteurs moyennes étant transcrites dans le tableau XVII.

Au sixième jour, 52% des larves sont "évoluées".

Elles représentent 75% de la population au 8ème jour où 19% de "moyennes" sont également dénombrées.

Au douzième jour, toutes les larves sont umbonnées dont 5% d'"évoluées", 87% de "moyennes" et 8% de "grosses".

Le développement de véligères issues de géniteurs du bassin d'Arcachon est très satisfaisant. Il n'existe ni blocage ni frein de croissance larvaire. Après une semaine de croissance, 94% de la population larvaire est umbonnée.

La comparaison des figures 15 et 16 montre que des véligères issues de géniteurs du bassin d'Arcachon maturés à l'extérieur ou dans le bassin d'Arcachon présentent des croissances similaires.

Les 2 courbes inférieures (Cancale 1 et Villa Algérienne 3) correspondent à des élevages menés avec un changement d'eau quotidien la première semaine. Ceci entraîne une perturbation plus fréquente des larves (Helm et Millican, 1977).

Dans le second cas (Cancale 2 et Cap Ferret 4) les véligères issues de géniteurs maturés dans le bassin présentent une meilleure croissance au delà du 8ème jour. Les quelques mortalités enregistrées (15% au 12ème jour) ne peuvent expliquer cet écart important de croissance.

Les *Crassostrea gigas* du bassin d'Arcachon constituent donc un stock de géniteurs en bon état. La maturation des huîtres dans le bassin d'Arcachon est suffisante pour donner naissance à des larves viables dont le développement est très satisfaisant sous les conditions expérimentales.

Aucun des phénomènes observés in situ dans le bassin d'Arcachon n'est retrouvé. Ceux-ci ne peuvent donc être expliqués par une mauvaise "qualité" des géniteurs du bassin d'Arcachon.

3.1.2. CARACTERISTIQUES DES LARVES ELEVEES EN EAU DU BASSIN PRELEVEE EN DIFFERENTS SECTEURS.

La présence de micro-polluants dans l'eau des élevages est susceptible de freiner ou

d'inhiber la croissance de véligères et de provoquer des mortalités larvaires (Chapitre II). La notion de la "qualité biologique" de l'eau du bassin d'Arcachon a été abordée en induisant des développements embryonnaire et larvaire avec de l'eau du bassin prélevées en différents secteurs.

Les géniteurs utilisés étaient des géniteurs du bassin maturés à l'extérieur (Cancale) et l'eau était prélevée dans le milieu quelques jours avant le déclenchement des pontes.

Un premier stock a permis la mise en élevage de véligères en avril 1981 et l'eau utilisée était celle du Tes (Figure 1). Les conditions expérimentales étant différentes de celles appliquées en routine, les résultats obtenus ne seront pas détaillés. Précisons cependant, que le développement larvaire était satisfaisant puisque 93% des véligères étaient umbonées dès le 8ème jour et que la mortalité est restée faible (5% le 12ème jour).

Un deuxième stock de géniteurs a été utilisé pour mettre en élevage en juin 1981 des véligères en eau du bassin prélevée au Banc, au Tes et à Comprian (Figure 1) et nommée par la suite Banc 2, Tes 2, Comprian 2. Les salinités, respectivement de 32,8‰, 30,6‰ et de 24,3‰, décroissant très sensiblement lorsque l'on s'éloigne des passes du bassin, n'ont pas été corrigées.

Pour les trois secteurs considérés, les taux d'anomalie et de mortalité sont faibles : inférieurs ou égaux à 5% au 12ème jour d'élevage.

Les croissances larvaires sont représentées dans la figure 17 et les données sur les hauteurs moyennes sont transcrites dans le tableau XVIII.

Le tableau XIX exprime le pourcentage de larves appartenant à chaque stade au 6ème, 8ème et 12ème jour de vie larvaire.

Tous ces élevages ont été poursuivis jusqu'aux stades pédivéligère et plantigrade.

La "qualité biologique" de l'eau du bassin d'Arcachon permet un développement larvaire satisfaisant dans les trois secteurs considérés. Les différences de croissances observées entre Banc 2, Tes 2, Comprian 2 s'expliquent par l'abaissement de la salinité quand on remonte vers le secteur continental au moment des prélèvements. La croissance des véligères de *Crassostrea gigas* est optimale à la valeur de 25‰ à la température utilisée dans nos élevages (Helm et Millican, 1977).

Des véligères issues des mêmes géniteurs conduites en eau de l'Océan ont été décrites antérieurement (Chapitre III, paragraphe 3.1.1.1., Cancale 2). La comparaison des figures 15 et 17 permet d'établir que la croissance des véligères est similaire en eau du bassin et de l'Océan et est même meilleure lorsque l'eau de Comprian 2 est utilisée. Là également l'écart de salinité explique cette différence.

Aucun des phénomènes observés in situ dans le bassin d'Arcachon n'est retrouvé. Ceux-ci ne peuvent donc être expliqués par une mauvaise "qualité biologique" de l'eau du bassin d'Arcachon.

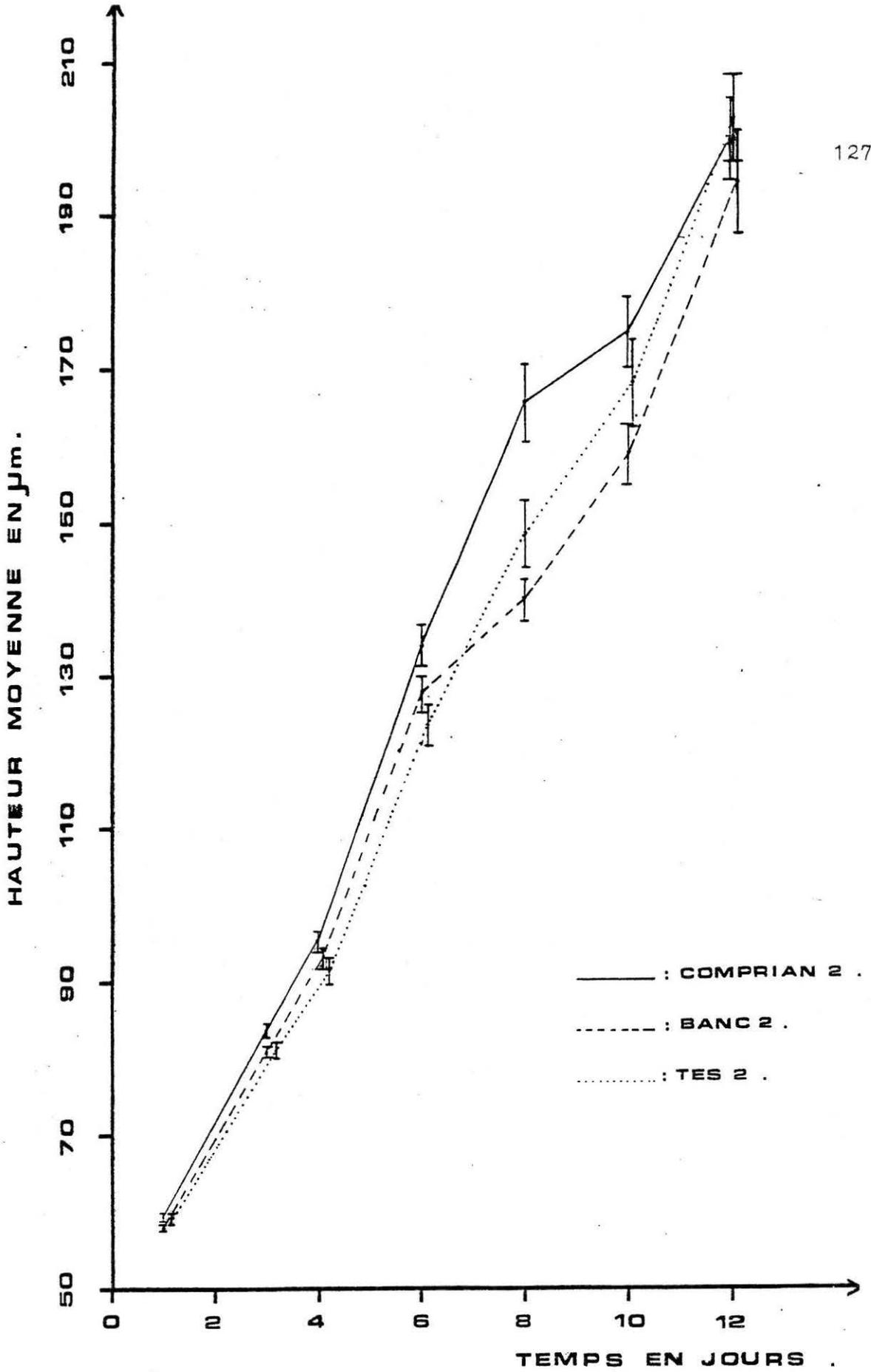


FIG 17 : croissance larvaire, en eau de différents secteurs du bassin d'arcachon, de *Crassostrea gigas* maturée à l'extérieur .

TEMPS DEPUIS LA FECONDATION (JOURS)	ORIGINE DE L'EAU D'ELEVAGE		
	BANC 2	TES 2	COMPRIAN 2
1	57,98 ± 0,36	58,91 ± 0,62	59,17 ± 0,47
3	80,54 ± 0,84	80,82 ± 1,03	83,48 ± 0,84
4	92,81 ± 1,22	91,27 ± 1,60	94,94 ± 1,27
6	127,00 ± 2,27	123,48 ± 2,78	133,66 ± 2,65
8	139,51 ± 2,61	148,29 ± 4,35	165,34 ± 4,99
10	158,47 ± 3,88	168,03 ± 5,78	174,55 ± 4,64
12	194,33 ± 6,69	202,49 ± 5,58	199,88 ± 5,51

TABLEAU XVIII : Hauteurs moyennes, exprimées en μm , au seuil de 95%, de véligères de *Crassostrea gigas* issues du bassin d'Arcachon et maturées à l'extérieur -Cancale-. Les développements embryonnaires et larvaires ont été réalisés dans de l'eau du bassin prélevée en différents secteurs.

TEMPS DEPUIS LA FECONDA- TION (JOURS)	ORIGINE DE L'EAU DES ELEVAGES											
	BANC 2				TES 2				COMPRIAN 2			
	P	E	M	G	P	E	M	G	P	E	M	G
6	3	97	0	0	10	89	1	0	0	93	7	0
8	3	68	29	0	0	52	48	0	0	21	79	0
12	0	9	71	20	0	0	87,5	12,5	0	0	86	14

TABLEAU XIX : Pourcentage de véligères de *Crassostrea gigas* au stade petite (P), évoluées (E), moyennes (M) et grosses (G). Les géniteurs ont été maturés à l'extérieur de la baie -Cancalle-. Les développements embryonnaires et larvaires ont été réalisés avec de l'eau du bassin prélevée en différents secteurs.

3.1.3. CARACTERISTIQUES DES LARVES ISSUES DE
GENITEURS DU BASSIN MATURES DANS LE
BASSIN D'ARCACHON ET ELEVEES EN EAU DU
BASSIN PRELEVEE EN DIFFERENTS SECTEURS.

Cette série d'expériences fait la synthèse des résultats précédemment acquis.

Des géniteurs du bassin maturés dans le bassin d'Arcachon ont donné naissance à des gamètes dont les développements embryonnaire et larvaire ont été réalisés dans de l'eau du bassin d'Arcachon prélevée en avril 1981 au Banc et à Comprian (Figure 1) pendant les premières heures du jusant et appelée ultérieurement Banc 2 et Comprian 2. Les salinités n'ont pas été corrigées.

Les pourcentages d'anomalie et de mortalité sont restés faibles, 5% au 12ème jour d'élevage.

Les croissances larvaires sont représentées dans la figure 18, les données sur les hauteurs moyennes étant consignées dans le tableau XX.

Dès le sixième jour, les élevages conduits en eau du Banc 2 et en celle de Comprian 2 présentent respectivement 71% et 57% de larves "évoluées".

Au 8ème jour, ces dernières constituent 95% des populations.

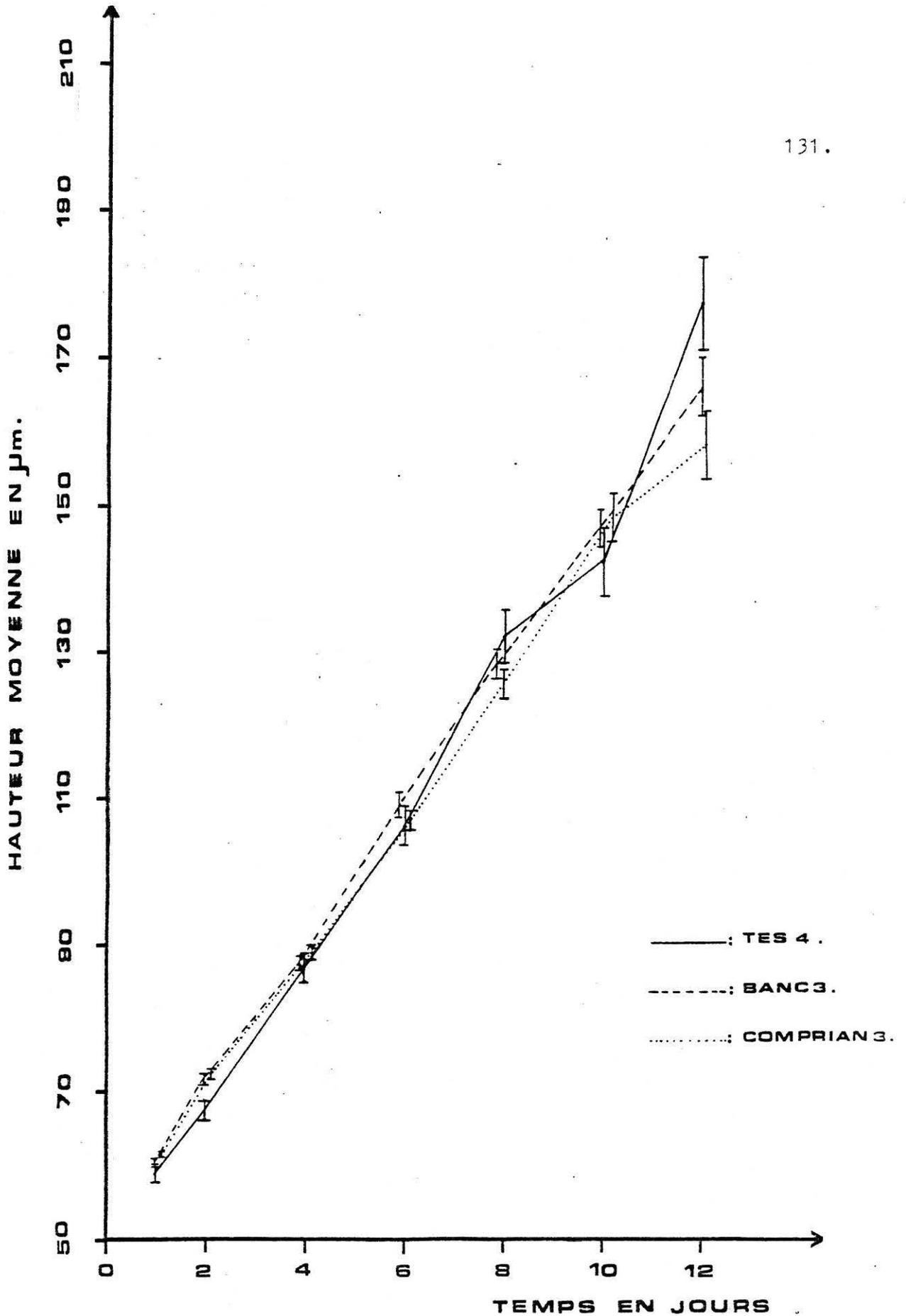


FIG 18 : croissance larvaire, en eau de différents secteurs du bassin d'Arcachon, de *Crassostrea gigas* maturée dans la baie .

TEMPS DEPUIS LA FECONDATION (JOURS)	ORIGINE DE L'EAU D'ELEVAGE		
	BANC 3	COMPRIAN 3	TES 4
1	60,42 ± 0,35	61,42 ± 0,31	58,70 ± 0,88
2	71,76 ± 0,59	72,26 ± 0,63	67,39 ± 1,15
4	87,22 ± 0,94	88,76 ± 1,07	86,45 ± 1,91
6	108,60 ± 1,59	106,06 ± 1,50	105,79 ± 2,69
8	127,68 ± 1,95	125,19 ± 2,12	132,16 ± 3,60
10	146,49 ± 2,59	147,90 ± 3,21	142,18 ± 4,54
12	165,80 ± 4,17	158,31 ± 5,07	177,21 ± 6,21

TABLEAU XX : Hauteurs moyennes, exprimées en μm , au seuil de 95%, de véligères de *Crassostrea gigas* maturées dans le bassin d'Arcachon. Les développements embryonnaires et larvaires ont été réalisés avec de l'eau du bassin prélevée en différents secteurs.

Le douzième jour, toutes les véligères sont umbonées. La population larvaire élevée en eau du Banc 2 est composée de 22% d'"évoluées" et 78% de "moyenne". Celle conduite en eau de Comprian 2 comprend 42% d'"évoluées" et 58% de "moyennes".

Un deuxième stock de géniteurs du bassin mûré dans le bassin d'Arcachon a donné naissance à des gamètes dont les développements embryonnaire et larvaire ont été réalisés en eau du bassin prélevée, en Juillet 1981 peu de temps après une ponte naturelle dans le milieu, au Tes et appelée ci après Tes 4.

Vingt quatre heures après la fécondation, le taux d'anomalie est égal à 12%.

La mortalité quant à elle est faible, 8% au 12ème jour.

La croissance larvaire est représentée dans la figure 18 et les données sur les hauteurs moyennes sont transcrites dans le tableau XX.

Quarante six pour cent des véligères sont "évoluées" le 6ème jour. 91% d'umbonées sont dénombrées le 8ème jour dont 76% d'"évoluées" et 15% de "moyennes".

Toutes les larves sont umbonées le 12ème jour avec 3% d'"évoluées", 95% de "moyennes" et 2% de "grosses".

Ces élevages ont été poursuivis jusqu'aux stades pédivéligère et plantigrade.

Le développement de véligères, issues de géniteurs du bassin maturés dans le bassin d'Arcachon et conduites en eau du bassin prélevée en différents secteurs est satisfaisant. Les mortalités restent faibles. Aucune inhibition de la croissance n'est observée. Au huitième jour plus de 90% de la population atteint le stade des "évoluées" et peut être amenée à la métamorphose.

Des mois d'avril à juillet 1981, la "qualité biologique" de l'eau du bassin d'Arcachon ne peut être mise en cause pour expliquer les phénomènes observés dans le milieu naturel. L'eau du bassin d'Arcachon a une "qualité biologique" suffisante pour assurer la maturation des produits sexuels des huîtres et un développement larvaire satisfaisant.

3.1.4. DISCUSSION.

La technique des élevages contrôlés a permis d'obtenir en écloserie des véligères de *Crassostrea gigas* qui ont été soumises à différentes expérimentations. Il a ainsi été démontré que les échecs répétés de la reproduction dans le bassin d'Arcachon ne peuvent s'expliquer par

- 1) la "qualité" des géniteurs du bassin d'Arcachon;
- 2) la "qualité biologique" de l'eau du bassin d'Arcachon.

Afin de vérifier la validité de ces résultats et d'appréhender l'influence du facteur thermique sur le développement larvaire, des véligères ont été récoltées au cours de la saison de reproduction dans le bassin d'Arcachon et mises en élevage contrôlé. Parallèlement, le comportement des populations larvaires en milieu naturel était étudié.

3.2. EXPERIENCES REALISEES AVEC DES LARVES RECOLTEES DANS LE BASSIN D'ARCACHON.

Au cours de la saison estivale de 1981, deux émissions larvaires ont eu lieu dans le bassin d'Arcachon. L'émission des produits sexuels a donné naissance à une coloration opaque de l'eau du bassin dans les secteurs de frai. D'autre part, pendant les mois de juillet et août 1981, des pêches planctoniques, en vue de suivre l'évolution larvaire dans le milieu, étaient effectuées quatre fois par semaine : le lundi, le mardi, le jeudi et le vendredi. Ces deux critères ont été appliqués afin de déterminer la date des pontes et l'âge des larves au moment de leur récolte.

La première ponte s'est déclenchée le 7 juillet et des véligères ont été récoltées 48 heures après. Celles-ci étaient donc âgées de deux jours. Le trente juillet une deuxième ponte a permis la récolte de véligères dès les premières 24 heures.

La collecte des larves a été réalisée selon les techniques décrites par His (1976).

L'obtention d'élevage "pur" a eu lieu comme suit : le zooplancton, à l'exception des véligères de *Crassostrea gigas*, et le phytoplancton ont pu être

éliminés par tamisage sur maille de 100 μm . Les larves de *Crassostrea gigas* ont été retenues sur un tamis de 32 μm . Les détritiques, fèces, et pseudo-fèces ont été éliminés par rinçages successifs et par différence de densité. Seules les larves de *Tapes* peu nombreuses, n'ont pu être éliminées.

Après homogénéisation et observations, les véligères ont été réparties et élevées jusqu'à l'âge de 12 jours selon les techniques précédemment décrites (Chapitre I, paragraphe 1.4.3.).

L'isolation des larves du milieu ayant été parfaitement maîtrisée, seules les expériences réalisées à partir des véligères collectées lors de la 2ème ponte dans le milieu naturel seront exploitées ci-après. Ces véligères issues de la ponte du 30 juillet 1981 seront appelées par la suite, larves ou véligères récoltées.

3.2.1. CARACTERISTIQUES DES LARVES RECOLTEES DANS LE BASSIN D'ARCACHON ET ELEVEES EN EAU DU BASSIN ET DE L'OCEAN.

Des véligères récoltées ont été élevées en eau du bassin à la salinité de 32,8‰. L'eau a été prélevée au Tes (Figure 1) au moment des pêches des larves.

Les taux d'anomalie et de mortalité sont restés faibles respectivement égaux à 2% et 5% le 12ème jour.

La croissance larvaire est représentée dans la figure 19 et les données sur les hauteurs moyennes sont consignées dans le tableau XXI.

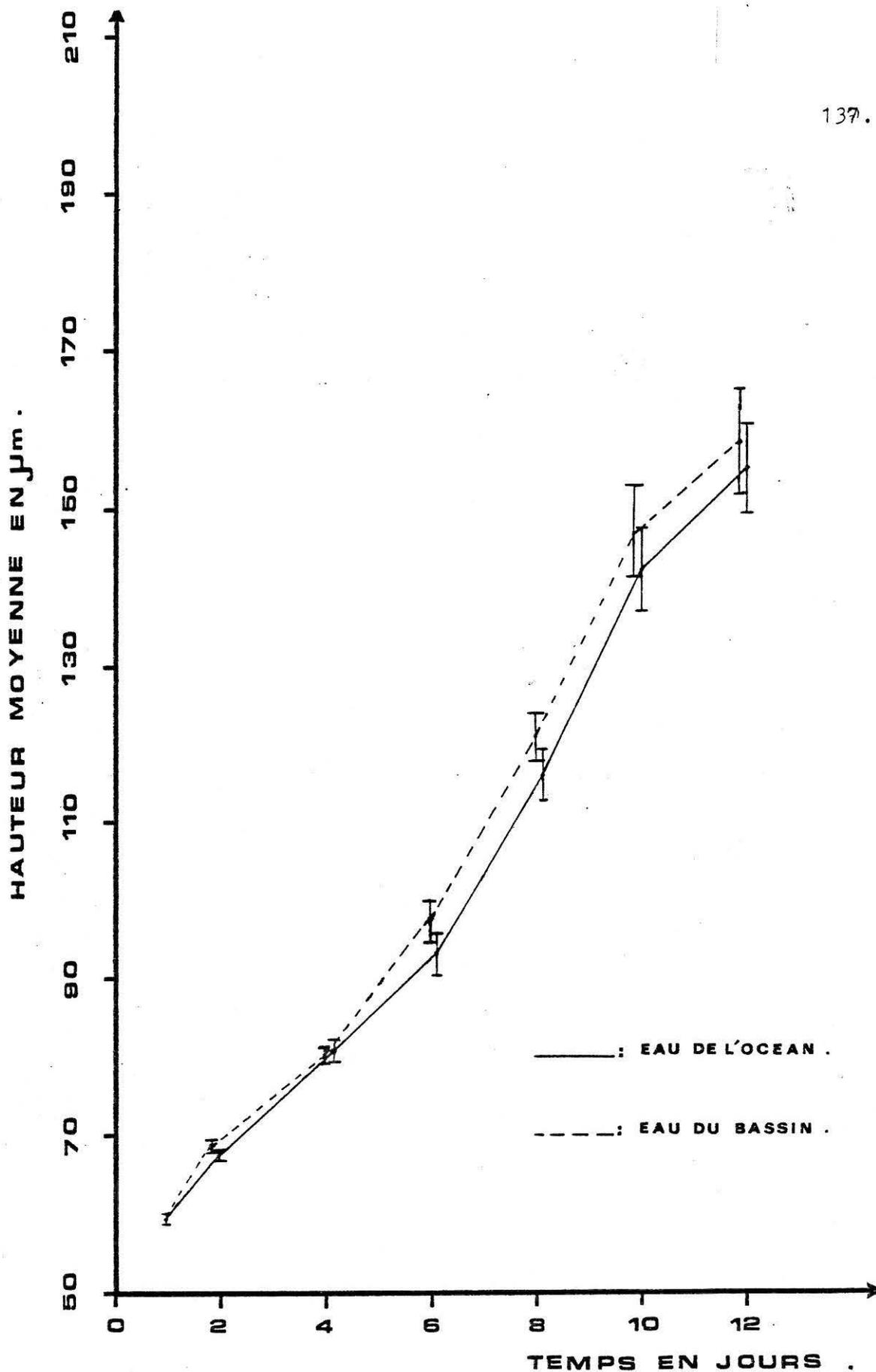


FIG 19 : croissance de veligères de *Crassostrea gigas*, prélevées dans le bassin d'Arcachon lors de l'émission du 30/7/81, en eau de différentes origines .

TEMPS DEPUIS LA FECONDATION (JOURS)	ORIGINE DE L'EAU D'ELEVAGE	
	BASSIN	OCEAN
1	59,43 \pm 0,87	59,43 \pm 0,87
2	68,56 \pm 0,68	67,31 \pm 0,65
4	80,10 \pm 1,16	80,82 \pm 1,33
6	97,46 \pm 2,80	92,98 \pm 2,56
8	120,95 \pm 2,98	115,90 \pm 3,41
10	147,07 \pm 5,66	142,16 \pm 5,18
12	158,37 \pm 6,36	154,96 \pm 5,49

TABLEAU XXI : Hauteurs moyennes, exprimées en μm , au seuil de 95% de véligères de *Crassostrea gigas* formées in situ dans le bassin d'Arcachon après la ponte du 30 juillet 1981 et élevées en laboratoire en eau du bassin et de l'Océan.

L'analyse démographique des populations permet de constater qu'au 6ème jour, 35% des larves sont "évoluées". Ce taux est égal à 85% le 8ème jour.

Au douzième jour, 96% des larves sont umbonées dont 31% d'"évoluées" et 65% de "moyennes".

Le développement de véligères récoltées dans le bassin d'Arcachon et élevées en eau du bassin d'Arcachon est très satisfaisant. Après une semaine de croissance, 85% des larves ont franchi le stade des "évoluées".

Comparativement, des véligères de même origine ont été élevées en eau de l'Océan à la salinité de 33,3‰.

Le taux d'anomalie est également resté faible jusqu'au 12ème jour : 2%. La mortalité larvaire légèrement supérieure n'excède pas 10% en fin d'expérience.

La croissance larvaire et les hauteurs moyennes sont représentées dans la figure 19 et dans le tableau XXI.

Au sixième jour, 18% de larves "évoluées" sont dénombrées. Ce taux est égal à 74% le 8ème jour.

Au douzième jour, 94% des larves sont umbonées dont 35% d'"évoluées" et 59% de "moyennes".

Les croissances de véligères récoltées dans le bassin d'Arcachon élevées en eau de l'Océan et du bassin sont similaires. La "qualité biologique" de l'eau du bassin

ne peut donc être suspectée. Il en est de même pour la "qualité" des géniteurs. Ces résultats confirment ceux déjà avancés. (Chapitre III, paragraphes 3.1.1., 3.1.2. et 3.1.3.)

3.2.2. DEVELOPPEMENT DE POPULATIONS LARVAIRES SOUMISES A UNE BASSE TEMPERATURE.

Les conditions thermiques estivales peu favorables ces dernières années, à savoir une température de l'eau du bassin d'Arcachon comprise entre 19°C et 21°C, ont conduit à penser que ce facteur physique pouvait être responsable des perturbations de la reproduction dans le bassin d'Arcachon.

Des véligères récoltées ont été élevées en eau de l'Océan à la température de 18°C, température particulièrement basse, rencontrée très exceptionnellement dans le bassin d'Arcachon en été. La salinité de l'eau était de 33,3‰. Cette température a été obtenue en plaçant les élevages dans la salle de production algale à proximité du climatiseur. Ils étaient recouverts d'un linge afin de les maintenir à l'obscurité.

Les mortalités sont restées faibles et n'ont pas excédé 5% en fin d'observation. La croissance larvaire est représentée dans la figure 20. Les données sur les hauteurs moyennes sont consignées dans le tableau XXII.

L'analyse démographique des populations permet de constater qu'au 6ème jour, aucune véligère n'est "évoluée".

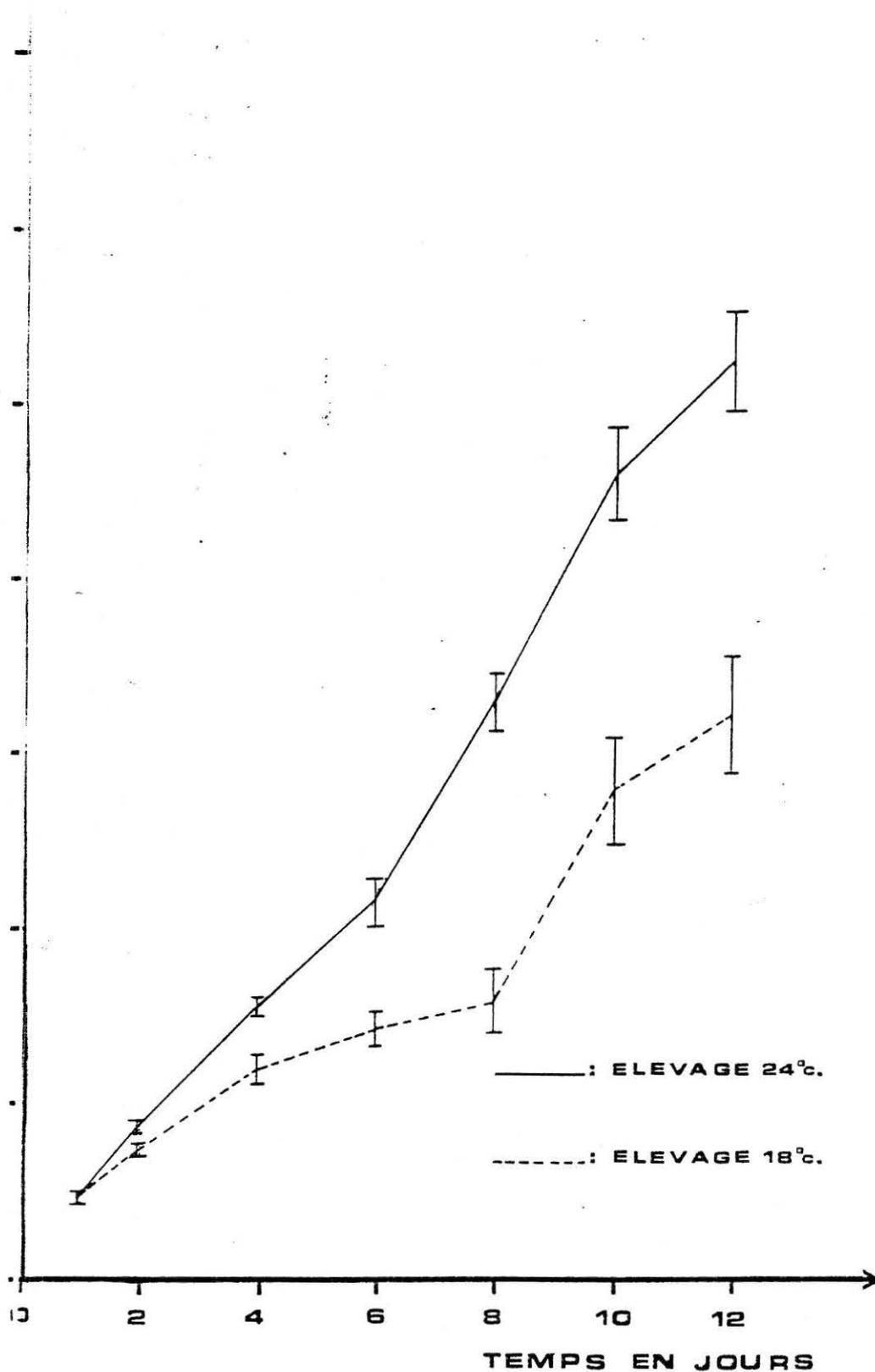


FIG 20 : influence d'une température basse sur la croissance de véligrés de *C. gigas* prélevées dans le milieu lors de l'émission du 30/7/81 .

TEMPS DEPUIS LA FECONDATION (JOURS)	TEMPERATURE D'ELEVAGE EN DEGRE CELCIUS	
	18	24
1	59,43 ± 0,87	59,43 ± 0,87
2	64,88 ± 0,84	67,31 ± 0,65
4	74,06 ± 1,73	80,82 ± 1,33
6	78,65 ± 1,93	92,88 ± 2,56
8	81,86 ± 3,62	115,90 ± 3,41
10	106,19 ± 5,89	142,16 ± 5,18
12	114,56 ± 6,60	154,96 ± 5,49

TABLEAU XXII : Hauteurs moyennes, exprimées en μm , au seuil de 95%, de véligères de *Crassostrea gigas*, formées in situ dans le bassin d'Arcachon lors de l'émission du 30 juillet 1981, et élevées en laboratoire en eau de l'Océan à différentes températures.

Au huitième jour, seules 4% d'"évoluées" sont dénombrées.

Par contre, au douzième jour, 60% des larves sont umbonées. La population est alors constituée de 52% d'"évoluées" et 8% de "moyennes".

Le comportement de populations larvaires soumises aux mêmes conditions mais élevées à la température de 24°C ont été décrites antérieurement (Chapitre III, paragraphe 3.2.1.). La croissance larvaire et les hauteurs moyennes de ces élevages témoins sont représentées à nouveau dans la figure 20 et dans le tableau XXII.

Ainsi des véligères de *Crassostrea gigas* élevées à la température de 18°C présentent une réduction sensible de croissance. Leur taux de croissance du 1er au 12ème jour d'élevage n'est égal qu'à 58% de celui des larves témoins.

Bien qu'un ralentissement du développement larvaire soit observé lorsque des élevages sont soumis à une basse température, des véligères de *Crassostrea gigas* sont susceptibles de se développer. D'autre part les mortalités larvaires sont faibles.

Ces résultats confirment ceux avancés par d'autres auteurs.

Ainsi le taux de croissance de larves D de *Crassostrea gigas* à la température de 20°C et pour des salinités comprises entre 30‰ et 34‰ est égal à 49,7% de celui des témoins conduits à la température de 28°C et à la salinité de 25‰. La mortalité, quant à elle est insignifiante, 1% (Helm et Millican, 1977).

D'autre part dans certaines écloséries commerciales des élevages larvaires de *Crassostrea gigas* sont conduits jusqu'au stade plantigrade à la température de 20°C (Lucas, 1980).

Il est difficile dans ces conditions d'imputer aux faibles températures observées ces dernières années la responsabilité des échecs de la reproduction de l'huître japonaise dans le bassin d'Arcachon. Rappelons enfin que ces perturbations ont été retrouvées dans le milieu en août 1981 malgré des températures de l'eau du bassin supérieures ou égales à 22° C.

Ainsi 100.000 larves D/m³ ne permettaient de dénombrer après une semaine que 50 "évoluées"/m³, soit un rapport de 0,5%.

Comparativement en juillet 1972 pour des conditions thermiques similaires des émissions diffuses permettaient de dénombrer après une semaine de croissance dans le milieu naturel 1.200 larves "évoluées"/m³ sur les 11.000 larves D/m³ du départ, soit un rapport de 110% (His, 1973).

3.2.3. DEVELOPPEMENT LARVAIRE EN ECLOSERIE DE VELIGERES RECOLTEES DANS LE MILIEU A L'AGE DE 2 JOURS ET 4 JOURS EN EAU DU BASSIN PRELEVEE AU MOMENT DE LA PONTE.

Des véligères dont l'embryogénèse s'est déroulée dans le bassin d'Arcachon évoluent normalement en laboratoire.

Afin de vérifier si des larves ayant séjourné dans le milieu sont susceptibles de se développer ultérieurement en eau du bassin mais en élevage contrôlé, des pêches planctoniques ont été réalisées 2 jours et 4 jours après la ponte du 30 juillet 1981 dans le bassin d'Arcachon. Peu de véligères ont été récoltées le 4ème jour, c'est pourquoi seules 4.000 larves/l ont été mises en élevage.

La population de véligères prélevées dans le bassin à l'âge de 2 jours présente, au moment de leur récolte, des faibles taux d'anomalie et de mortalité, respectivement 2% et 3%. La mortalité atteint 6% en fin d'expérience.

Sa croissance larvaire est représentée dans la figure 21 (Jour 2) et les hauteurs moyennes sont consignées dans le tableau XXIII.

L'analyse démographique de cette population permet de constater qu'au 6ème jour, 12% des larves sont "évoluées". Le huitième jour 46% des véligères ont atteint ce stade. Le douzième jour 95% des larves sont umbonées dont 60% "évoluées" et 35% "moyennes".

La mortalité des véligères récoltées à l'âge de 4 jours est égale à 6% au moment des prélèvements. Elle atteint 26% en fin d'expérience et touche principalement les petites larves.

La croissance larvaire de cette population et les données sur les hauteurs moyennes sont respectivement présentées dans la figure 21 (Jour 4) et le tableau XXIII.

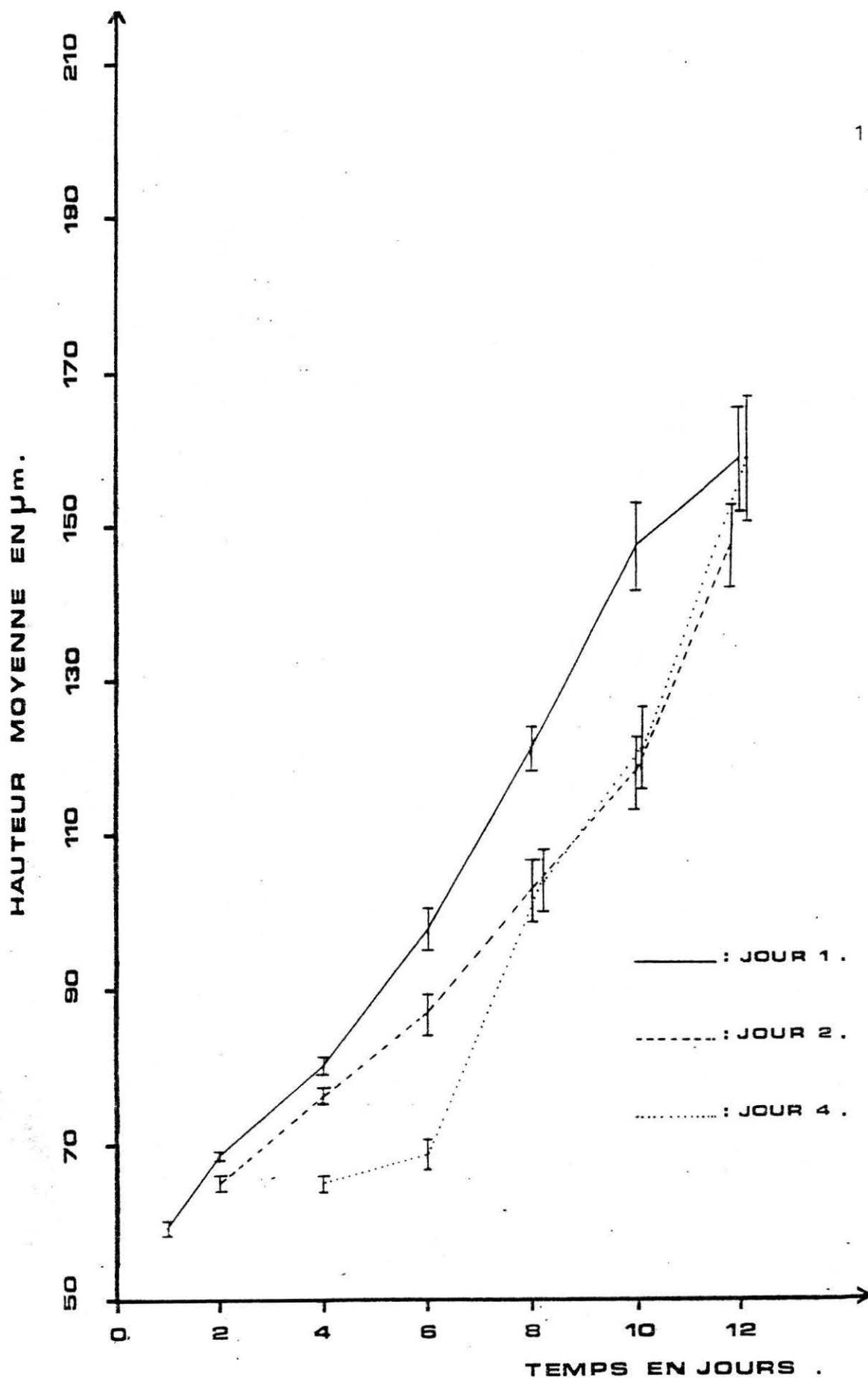


FIG 21: croissance des vélignes, prélevées dans le milieu lors de l'émission du 30/7/81 à l'âge de un jour, deux jours et quatre jours en eau du bassin .

TEMPS DEPUIS LA FECONDATION (JOURS)	DATE DES PRELEVEMENTS IN SITU DEPUIS LA FECONDATION (JOURS)		
	1	2	4
1	59,43 ± 0,87	—	—
2	68,54 ± 0,68	64,85 ± 0,89	—
4	80,10 ± 1,16	76,32 ± 1,06	64,83 ± 0,81
6	97,64 ± 2,80	86,58 ± 2,48	68,34 ± 1,96
8	120,95 ± 2,98	102,44 ± 3,75	104,40 ± 3,64
10	147,07 ± 5,66	117,78 ± 4,56	120,96 ± 5,21
12	158,37 ± 6,36	147,48 ± 5,43	158,54 ± 7,95

TABLEAU XXIII : Hauteurs moyennes, exprimées en μm , au seuil de 95%, de véligères de *Crassostrea gigas*, prélevées in situ dans le bassin d'Arcachon lors de l'émission du 30 juillet 1981 au premier jour, au deuxième jour et au quatrième jour de vie larvaire. Les élevages ont été conduits à la température de 24°C avec de l'eau du bassin -Tes- prélevée au moment de la collecte des véligères.

Aucune larve n'est "évoluée" le 6ème jour. Par contre dès le 8ème jour, 56% des véligères atteignent ce stade. Le douzième jour, 92% des larves sont umbonées. La population est alors composée de 40% d'"évoluées" et 52% de "moyennes".

Des véligères ayant séjournées 2 et 4 jours dans le bassin d'Arcachon sont susceptibles de se développer en laboratoire.

Les caractéristiques des véligères récoltées à l'âge de 1 jour dans le bassin d'Arcachon ont été décrites antérieurement (Chapitre III, paragraphe 3.2.1.). La croissance larvaire et les hauteurs moyennes de ces élevages sont représentées à nouveau dans la figure 21 (jour 1) et dans le tableau XXIII. L'examen de la figure 21 pour ces trois séries d'élevage montre que la croissance pour les deux premières est satisfaisante avec cependant un léger retard pour les véligères récupérées le second jour. Les larves mises en élevage après avoir séjourné quatre jours dans le bassin présentent au contraire une croissance accélérée. Ce phénomène peut être expliqué par la plus faible densité des élevages mais aussi probablement à une sélection naturelle dans le milieu des individus les plus performants. Si nous considérons que les véligères échantillonnées dans un même secteur, mais à différentes dates, sont issues d'une même population, l'analyse des tailles au moment de leurs récoltes permet d'aborder la croissance des véligères dans le milieu naturel (fig. 21 et tableau XXIII).

Lorsque les larves sont récupérées à l'âge de un jour, leur hauteur moyenne est égale à $59,43 \pm 0,87 \mu\text{m}$. Lorsqu'elles sont récupérées à l'âge de deux jours leur taille moyenne est égale à $64,85 \mu\text{m} \pm 0,89 \mu\text{m}$.

Il y a donc croissance des larves D dans le milieu pendant les premières 24 heures. Lorsque ces véligères sont récoltées à l'âge de 4 jours, leur hauteur moyenne est égale à $64,83 \mu\text{m} \pm 0,81 \mu\text{m}$, c'est à dire identique à celle des larves récoltées le 2ème jour. Il y a donc blocage de la croissance larvaire dans le bassin d'Arcachon dès le second jour. Ainsi du 1er jour au 4ème jour, le taux de croissance des véligères se développant dans le milieu à la température moyenne de 22°C n'est égal qu'à 26% de celui de larves de même origine mises en éclosion dès le premier jour à la température de 24°C .

3.3. DISCUSSION.

Des véligères récoltées dans le bassin évoluent normalement en laboratoire. A l'inverse, leur croissance est bloquée dans le milieu au delà du 2ème jour. Ces observations amènent à penser qu'il existe dans le bassin d'Arcachon un ou plusieurs facteurs d'agression que l'on ne retrouve pas en laboratoire. Essayons de dégager les principales modifications induites par la technique d'élevage en milieu contrôlé sur l'eau de mer dans laquelle vivent les véligères.

1) La filtration de l'eau de mer.

L'eau utilisée pour la conduite des élevages est celle du bassin qui ne subit qu'une filtration sur cartouches et membrane. Bien que la charge particulaire de l'eau d'Arcachon soit peu importante, il est indéniable que ce traitement modifie celle-ci puisque les particules sont retenues sur les filtres : à chaque renouvellement la teneur en particules de l'eau des élevages est inférieure ou égale à 300 à l'issue de la filtration. Il y a probablement aussi modification de la fraction colloïdale de l'eau de mer.

Par contre, les paramètres physicochimiques de cette dernière ne sont pas affectés par ce traitement (Prieur et Carval, 1979).

Des anomalies du tractus génital chez des mollusques gastéropodes ont été décelées à proximité des ports de plaisance et induites en laboratoire par l'acétate de tributyle étain (Smith, 1981). Féral (1982) provoque ces mêmes anomalies en utilisant de l'eau de mer filtrée à 0,22 μm prélevée à proximité des ports de plaisance. Malgré la filtration, l'eau de mer conserve toute sa toxicité : le, ou les éléments responsables, figurent donc dans la fraction soluble. Rappelons à cet effet que l'eau du port de plaisance d'Arcachon filtrée ne permet pas un développement embryonnaire ni un développement larvaire normal chez *Crassostrea gigas* (Chapitre II, paragraphe 2.2.3.). D'autre part, la mise en solution de composants toxiques dans l'eau de mer est indispensable pour qu'ils puissent exercer leur action au niveau des organismes en fixation (Callame, 1976; Alzieu, 1981).

2) L'apport de nourriture.

Le nanoplancton végétal représente l'essentiel de la nourriture des larves (Lucas, 1982). Ces dernières doivent être nourries de façon très régulière car le jeûne leur est fatal (Lucas, 1975). C'est pourquoi les élevages de laboratoire reçoivent quotidiennement un volume déterminé d'algues monocellulaires. La quantité et la qualité de nourriture présente dans l'eau de mer originelle est donc modifiée. Sans pouvoir quantifier la prise de nourriture par les véligères, on peut, par simple observation de la coloration du tractus digestif des larves au microscope photonique, aborder leur comportement alimentaire. Ainsi l'absorption d'algues se caractérise par la coloration jaune verte de la glande digestive des larves D âgées de plus de 24 heures à la température de 24°C. A l'inverse, si les élevages ne reçoivent pas de nourriture, les larves sont peu colorées ; elles présentent un aspect grisâtre. La même approche peut être réalisée sur des véligères prélevées dans le milieu naturel. Une très faible coloration des larves dans le bassin d'Arcachon a été observée dès 1976 (HIS, 1976) et le phénomène s'est maintenu jusqu'à jusqu'à la saison de 1981. Par contre, des véligères prélevées dans le milieu à l'âge de 1 jour et amenées au laboratoire, présentent 24 heures après leur mise en élevage une coloration de leur masse viscérale qui n'existe pas chez les larves du même âge récoltées dans le milieu naturel 48 heures après la ponte. Il en est de même avec des véligères prélevées dans le bassin d'Arcachon 4 jours après la ponte.

Celles-ci sont peu colorées (aspect pâle). A l'inverse des larves issues de la même population mais mises en élevage contrôlé présentent au 4ème jour une coloration du tractus digestif. Dans le milieu naturel, la croissance des véligères n'est observée que jusqu'à l'âge de 2 jours. La croissance des larves D du 1er au 2ème jour peut s'expliquer par l'utilisation de leur réserves vitellines (Wilson, 1978). Dépassé ce délai il est nécessaire d'apporter aux élevages, en écloserie, du phytoplancton.

L'ensemble de ces observations nous conduit à penser qu'il y a dans le bassin une perturbation du régime trophique des larves. Celles-ci ne semblent pas s'alimenter.

C O N C L U S I O N G E N E R A L E .

Une bonne maturation de *Crassostrea gigas* en circuit fermé a été obtenue. L'utilisation de l'eau de la baie a permis le développement satisfaisant des algues monocellulaires utilisées pour le conditionnement des géniteurs et la nutrition des véligères. De même la technique des élevages larvaires a pu être maîtrisée. Les points suivants ont été acquis :

Les peintures anti-salissures, à base de cuivre et surtout celles à base d'organostanniques présentent un danger certain pour la reproduction de l'huître creuse. Toutefois, les *Crassostrea gigas* du bassin d'Arcachon constituent un stock de géniteurs pouvant donner des larves viables.

La "qualité biologique" de l'eau du bassin a été suffisante en tout temps et en tous lieux pendant la durée des expérimentations pour permettre une croissance larvaire normale. Bien que des anomalies soient décelées, l'eau du port de plaisance d'Arcachon permet en laboratoire un développement larvaire non observé dans le milieu naturel.

Il est difficile dans ces conditions d'expliquer les phénomènes observés dans le bassin d'Arcachon par une action directe des toxiques libérés par les peintures anti-salissures sur les véligères de *Crassostrea gigas*.

Le facteur thermique a une influence sur la croissance larvaire mais ne peut être évoqué pour expliquer les anomalies de la reproduction.

Des larves D prélevées dans le milieu naturel évoluent normalement en laboratoire tandis que la croissance de ces mêmes véligères est bloquée dans le bassin d'Arcachon dès le 2ème jour. Ces faits ainsi que la faible coloration des larves du milieu naturel nous conduisent à penser qu'il y a perturbation de leur régime trophique.

A l'issue de ces travaux, plusieurs hypothèses peuvent être émises :

- Action synergique de différents facteurs dont l'action individuelle n'a que peu ou pas d'action sur le développement larvaire.
- Développement anormal du nanoplancton dans le bassin d'Arcachon sur un plan quantitatif ou qualitatif.

Le retour à un développement larvaire satisfaisant, s'accompagnant d'un captage abondant dès l'été 1982, n'a pas permis la vérification de ces hypothèses (photo9). Cependant, un certain nombre de faits plaident en faveur de notre interprétation : au cours de l'été 1982, une étude préliminaire du phytoplancton fait apparaître la coïncidence des périodes de floraison nanoplanctonique et d'émissions larvaires de *Crassostrea gigas* (Maurer et al., publication sous presse).

Le suivi et l'analyse des populations naturelles au cours de l'été 1982 a permis de noter la coloration jaune verte du tractus digestif des jeunes véligères au microscope photonique. (His, communication personnelle).

Il en est de même au cours de l'été 1983 où des contrôles ont été effectués sur des larves D au microscope à épifluorescence. Le microscope à épifluorescence permet de reconnaître dans le tube digestif des larves, grâce à la transparence des tissus et de la coquille, la fluorescence naturelle de la chlorophylle des algues ingérées (Lucas et Rangel, 1982). La coloration jaune verte des larves D du milieu naturel observée au microscope photonique correspond à une absorption et à une digestion algale. D'autre part, en laboratoire des jeunes véligères non alimentées et présentant une coloration grisâtre n'émettent aucune fluorescence.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ALABASTER J.S., 1969.- Survival of fish in 164 herbicides, insecticides, fungicides, wetting agents and miscellaneous substances. Int. Pest. Control, 11 : 29-35.
- 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, 84 p.
- ANONYME., 1978 a.- Marine coatings and corrosion control : anti-fouling bottom paints vital to vessel efficiency. Marine Engineering/Loc. 83(2) : 47-49.
- AQUACOP., 1977.- Elevage larvaire et production de naissain de *Crassostrea gigas* en milieu tropical. Actes de colloque du C.N.E.X.O., 4 : 331-346.
- BAYNE B.L., 1965.- Growth and the delay of metamorphosis of the larvae of *Mytilus edulis* (L.). Ophelia, 2 : 1-47.
- BAYNE B.L., 1976.- Marine mussels : their ecology and physiology. Cambridge University Press : 506 p.
- BAYNE B.L. et THOMPSON R.J., 1970.- Some physiological consequences of keeping *Mytilus edulis* in the laboratory. Helgol. Wiss. Meeresunters., 20 : 526-552.
- BAYNES S.M., EMERSON L. et SCOTT A.P., 1979.- Production of algae for use in the rearing of larval fish. Fisheries Research Technical Report, 53 : 13-18.
- BRERETON A., LORD H., THORNTON I. et WEBB J.S., 1973.- Effect of zinc on growth and development of larvae of the Pacific Oyster *Crassostrea gigas*, Mar. Biol., 19 : 96-101.

- BROWN B.E. et AHSANULLAH M., 1971.- Effect of heavy metals on mortality and growth. Mar. Pollut. Bull., 2 : 182-187.
- BRYAN G.W., 1971.- The effects of heavy metals (other than mercury) on marine and estuarine organisms. Proc. R. Soc. (Ser. B) 177 : 389-410.
- CALABRESE A., 1972.- How some pollutants affect embryos and larvae of American oyster and hard shell clam. Marine Fisheries Review, 34. Nos. 11-12 : 66-77.
- CALABRESE A. et DAVIS H.C., 1970.- Tolerances and requirements of embryos and larvae of bivalve molluscs. Helgol. Wiss. Meeresunters, 20 : 553-564.
- CALABRESE A., COLLIER R.S., NELSON D.A. et MAC INNES J.R., 1973.- The toxicity of heavy metals to embryos of the American oyster *Crassostrea virginica*. Mar. Biol., 18 : 162-166.
- CALABRESE A. et NELSON D.A., 1974.- Inhibition of embryonic development of the hard clam, *Mercenaria mercenaria*, by heavy metals. Bull. envir. Contam. Toxicol., 11 : 92-97.
- CALABRESE A., Mac Innes J.R., NELSON D.A. et MILLER J.E., 1977.- Survival and growth of bivalve larvae under heavy-metal stress. Mar. Biol. 41 : 179-183.
- CALLAME B., 1976.- Le problème des salissures marines: Océanographie biologie appliquée. L'exploitation de la vie marine, P. BOUGIS et Coll, Masson édit., Paris : 301-312.
- CHLIAMOVITCH Y.P. et KUHN C., 1977.- Behavioural haematological and histological studies on acute toxicity of bis (tri-n-butyltin) oxyde on *Salmo gairdneri* Richardson and *Tilapia rendalli* Boulenger. J. Fish. Biol., 10 : 575-585.

- COST, 1978.- Proposal for a coordination of research activities in the field of mari-culture. Report from the Secretariat to the Cost Senior Officials Committee, European Cooperation in the field of Scientific and Technical Research, Cost/58/78, 13 p.
- DAVIS H.C., 1958.- Survival and growth of clam and oyster larvae at different salinities. Biol. Bull. 114 : 296-307.
- DAVIS H.C., 1961.- Effects of some pesticides on eggs and larvae of oysters (*Crassostrea virginica*) and clams (*Venus mercenaria*). Commercial Fisheries Review, 23 : 8-23.
- DAVIS H.C. et ANSELL A., 1962.- Survival and growth of larvae of the European oyster, *O. Edulis*, at lowered salinities. Biol. Bull., 122 : 33-39.
- DAVIS H.C. et CALABRESE A., 1964.- Combined effects of temperature and salinity on development of eggs and growth of larvae of *M. Mercenaria* and *C. virginica*, U.S. Fish Wildlife Serv., Fish. Bull., 63 : 643-655.
- DAVIS H.C. et CALABRESE A., 1969.- Survival and growth of larvae of the European oyster, *Ostrea Edulis* L., at different temperatures. Biol. Bull. 136 : 193-199.
- DAVIS H.C. et GUILLARD R.R., 1958.- Relative value of ten genera of Microorganisms as foods for oyster and clam larvae. U.S. Fish Wildlife Serv., Fish. Bull., 58 : 293-304.
- DE LACOURT F.H. et DEVRIES H.J., 1976.- The leaching mechanism of some organotin-toxicants from anti-fouling paints. C.R. 4ème Congrès International de la Corrosion Marine et des Salissures. C.R.E.O. Ed. : 113-118.
- 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. of S.C. Press. Columbia : 319-331.

DRINNAN R.E. et PARKINSON J.P., 1967.- Progress in Canadian oyster hatchery development. The Canadian Fish Culturist, 39 : 3-16.

FAVERIS R., 1976.- Production primaire en continu avec réalisation d'une chaîne élémentaire à deux niveaux : phytoplancton et pélicypodes filtrants. Rapport Contrat Ecotron n° 75/5138, C.N.E.X.O. Caen : 1-90.

FAVERIS R. et LUBET P., 1978.- Production primaire en continu pour la nutrition de pélicypodes épiges. Actes de Colloques C.N.E.X.O. 7 : 155-180.

FERAL C., 1982.- Etude expérimentale des mécanismes assurant l'apparition, le maintien et le cycle d'un tractus génital mâles externe chez les femelles de *Nucella Lapillus (L)*, *Nassarius reticulatus (L)*, *Ocenebra erinacea (L)*. Mollusques néogastéropodes gonochoriques. Thèse de Sci. Nat., 183 p.

FLASSCH J.P., 1978.- Production d'algues unicellulaires à des fins d'aquaculture. Oceanis, 4 : 1-11.

FRETTER V. et MONTGOMERY M.C., 1968.- The treatment of food by prosobranch veligers. J. Mar. Biol. Assoc. U.K., 48 : 499-520.

GABBOTT P.A., et WALKER A.J.M., 1971.- Changes in the condition index and biochemical content of adult oyster (*Ostrea Edulis L.*) maintained under hatchery conditions. Journal du Conseil, Cons. perm. int. ex. mer., 34 : 99-106.

GABBOTT P.A. et STEPHENSON R.R., 1974.- A note on the relationship between the dry weight condition index and the glycogen content of adult oyster (*Ostrea edulis L.*) kept in the laboratory. J. Cons. Int. Explor. Cons. Danem. 35 (3) : 359-361.

GERARD A., 1978.- Recherches sur la variabilité de diverses populations de *Ruditapes decussatus* et *Ruditapes phillipinarum* (Veneridae, Bivalvia) Thèse 3e cycle. Brest 149 p.

- GOLDMAN J.C. et RYTHER J.H., 1976.- Waste reclamation in an integrated food chain system, In : J. Tourbier and R.W. Pierson, Jr. (Eds.). Biological Control for Water Pollution, Univ. Penn. Press.
- GRANMO A., 1972.- Development and growth of eggs and larvae of *Mytilus Edulis* exposed to a linear dodecylbenzenesulphonate, LAS. Mar. Biol., 15 : 356-358.
- GRANT B.R. et TURNER I.M., 1969.- Light stimulated nitrate and nitrite assimilation in several species of algae. Com. Biochem. Physiol., 29 : 995-1004.
- GRIFFITCH G.W., KENSLOW M.A. et ROSS L.A., 1973.- A mass culture method for *Tetraselmis sp.*, and a promising food for larval crustaceans. Proceeding World Mariculture Society 4 : 289-294.
- GUILLARD R.L., 1959.- Further evidence of the destruction of bivalve larvae by bacteria. Biol. Bull., 55 : 260-282.
- HANNAN P.J. et PATOUILLET C., 1963.- Gas exchange with mass cultures of algae. I. Effects of light intensity and rate of carbon dioxide input on oxygen production. Appl. Microbiol., 11 : 446-449.
- HELM M.M. et SMITH F.M., 1971.- Observations on a bacterial disease in laboratory-cultured larvae of the European flat oyster, *Ostrea Edulis L.* International Council for the Exploration of the Sea. C.M./K : 10.
- 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.

- HELM M.M., HOLLAND D.L. et STEPHENSON R.R., 1973.- The effect of supplementary algal feeding of a hatchery breeding stock of *Ostrea Edulis* on larval vigour. J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 53 : 673-684.
- HELM M.M. et MILLICAN P.F., 1977.- Experiments in the hatchery of Pacific oyster larvae (*Crassostrea gigas* Thunberg). Aquaculture 11 : 1-12.
- HIDU H. et UKELESS R., 1964.- Dried unicellular algae as food for larvae of the hard shell clam, *Mercenaria mercenaria*, Proc. Nat. Shellfish Ass., 53 : 85-101.
- HIS E., 1973.- La reproduction de *Crassostrea gigas* Thunberg dans le bassin d'Arcachon : bilan de deux années d'observations. C.I.E.M. Comité des crustacés, coquillages et benthos. CM/K : 17.
- HIS E., 1974.- Une expérience de production de "Naissain un à un" dans le bassin d'Arcachon. Cons. Intern. Explor. Mer. Comité des crustacés, coquillages et benthos. CM/K : 38.
- HIS E., 1976.- Observations complémentaires sur la production de "Naissain naturel un à un". La croissance dans le bassin d'Arcachon. C.M./K : 23.
- 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. 63 p.
- HIS E., 1976.- Rapport d'activité annuel I.S.T.P.M.
- HIS E., 1980.- Rapport d'activité 4ème Trimestre I.S.T.P.M.
- HIS E. et ROBERT R., 1982.- Le danger des traitements par le sulfate de cuivre en zone conchylicole : toxicité vis-à-vis des oeufs et des jeunes larves de *Crassostrea gigas*. Rev. Trav. Inst. Pêches Marit. 45 (2) : 117-125.

- IMAI T. 1977.- Aquaculture in shallow seas. Progress in shallow sea culture, 615 pp., translated from Japanese Published for N.M.F.S., NOAA and NSF by Amerind Publishing Co., Pvt. Ltd., New Delhi.
- JENKINS D., 1971.- Global biological monitoring. Man's impact on terrestrial and oceanic ecosystems, W. MATTHEWS, F. SMITH and E. GOLDBERG Ed. The MIT Press, Cambridge Mass. USA 540 p. 351-370.
- LAING I., 1979.- Recommended procedures for the culture of *Chaetoceros calcitrans*. Fisheries Research Technical Report 53 : 8-12.
- LAING I. et UTTING S.D., 1980.- The influence of salinity on the production of two commercially important unicellular marine algae. Aquaculture, 21 : 79-86.
- LAING I. et HELM M.M., 1981.- Factors affecting the semi-continuous production of *Tetraselmis suecica*, (kylin) Butch. In 200- 1 Vessels. Aquaculture, 22 : 137-148.
- LE BORGNE Y., 1977.- L'écloserie-nurserie de la SATMAR et les possibilités actuelles de production de naissain de mollusques bivalves. Actes de Colloques, CNEEXO 4 : 353-360.
- LE BORGNE Y., MARIN J. et VERGONZANNE G., 1978.- Cultures et élevages de masse dans le contexte d'une écloserie-nurserie de mollusques bivalves : les productions phytoplanctoniques et le grossissement des post-larves. Actes de Colloques, C.N.E.X.O. 7 : 105-154.
- LELARGE S., 1980.- L'aquaculture n'est pas une île. Publication de l'association pour le développement de l'aquaculture N° 8. 179 p.

- LE PENNEC M. et LE ROUX S., 1979.- Effet d'un pétrole brut sur la formation de la coquille de *Mytilus Edulis* (L) (*Mytilidae*, *Bivalvia*). Rev. Int. Oceanogr. Med. Tome LV : 49-55.
- LE ROUX S., 1975.- Valeur comparée de diverses algues monocellulaires pour l'alimentation des larves de *Mytilus Edulis* (L.) en élevages expérimentaux. Thèse 3e. cycle. Brest. 103 p.
- LEWIS A.G. et CAVE W.R., 1979.- The biological importance of copper in the sea : a litterature review. I.N.C.R.A. projet n° 223, final report.
- LOOSANOFF V.L. et DAVIS H.C., 1950.- Conditioning *V. Mercenaria* for spawning in winter and breeding its larvae in the laboratory. Biol. Bull. 98 : 60-65.
- LOOSANOFF V.L. et DAVIS H.C., 1951.- Delaying spawning of lamelli-branches by low temperature. J. Mar. Res., 10 : 197-202.
- LOOSANOFF V.L., MILLER W.S. et SMITH P.B., 1951.- Growth and setting of larvae of *Venus mercenaria* in relation to temperature. J. Mar. Res., 10 : 59-81.
- LOOSANOFF V.L. et DAVIS H.C., 1952 a.- Repeated semiannual spawning of northern oysters. Science, 115 : 675-676.
- LOOSANOFF V.L. et DAVIS H.C., 1952 b.- Temperature requirements for maturation of gonads of northern oysters. Biol. Bull., 103 : 80-96.

- LOOSANOFF V.L. et DAVIS H.C., 1963.- Rearing of bivalve molluscs, Advances in Marine Biology, F.S. Russel Ed., Academic Press Inc., London, Vol. 1, 1-136.
- LOSEE E., 1979.- Relationship between larval and spat growth rates in the oyster (*Crassostrea virginica*), Aquaculture, 16 : 123-126.
- LUBET P., 1959.- Recherche sur le cycle sexuel et l'émission des gamètes chez les Mytilidés et Pectinidés (Moll. lamellibranches) Rev. Trav. Inst. Sci. Techn. Pêches Marit. Paris, 23 : 387-548.
- LUCAS A., 1970.- Conchyliculture expérimentale. Rapport C.N.E.X.O. Série Biologie, n° 70-01.
- LUCAS A., 1975.- Les écloséries de Mollusques Bivalves. Haliotis 5 : 14-34.
- LUCAS A., 1975.- Remarques méthodologiques sur l'emploi des larves de moules comme tests biologiques. Haliotis 5 : 126-132.
- LUCAS A., 1978.- Croissance de jeunes palourdes (*Venerupis semidecussata*) en nurserie et en mer en fonction des conditions d'élevage. Actes de Colloques C.N.E.X.O. 7 : 85-104.
- LUCAS A., 1980.- Problèmes de génétique, d'écophysiologie et de pathologie dans les écloséries de bivalves. Oceanis, 5 : 1-23.
- LUCAS A., 1982.- La nutrition des larves de bivalves. Oceanis, 8 (5) : 363-388.
- LUCAS A., LE PENNEC M., PRIEUR D., et LE ROUX S., 1976.- Elevages expérimentaux de larves de mollusques marins, Laboratoire de Zoologie, Aquaculture et Pollutions Marines, Brest. 12 p.
- LUCAS A. et RANGEL C., 1981.- Vitesses d'ingestion et de digestion du phytoplancton observées au microscope à épifluorescence chez les larves de *Mytilus edulis* (L) (*Bivolvina Mollusca*). Haliotis, 11 : 171-180.

- 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. Contam. Toxicol., 8 : 553-562.
- MANN R., 1979.- Some biochemical and physiological aspects of growth and gametogenesis in *Crassostrea gigas* and *Ostrea Edulis* grown at sustained elevated temperatures. J. Mar. Biol. Ass. U.K., 59 : 95-110.
- MASSON M., 1977.- Observations sur la nutrition des larves de *Mytilus galloprovincialis* avec des aliments inertes, Marine Biology, 40 : 157-164.
- MATTHIESSEN G.C. et TONER R.C., 1966.- Possible method of improving the shellfish industry of Martha's Vineyard. Duke's Country, Massachusetts. The Marine Research Foundation, Mc : 1-138.
- MAURER D., HIS E. et ROBERT R., 1983. Phytoplancton du du bassin d'Arcachon en période estivale. Rôle potentiel dans la nutrition des larves de *Crassostrea gigas*. (sous presse).
- MEYERS S.P., 1973.- Capsulation techniques, development of diets for larval and post larval animals reported. Feedstuffs, Minneap. 45 (16) : 16.
- MILLICAN P.F. et HELM M.M., 1973.- Preliminary observations on the culture requirements of the larvae of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* Thunberg. International Council for the Exploration of the Sea. C.M./K : 33.
- MORTON B.S., 1973.- A new theory of feeding and digestion in the filter feeding Lamellibranchia. Malacologia. 14 : 63-79.
- MYERS J., PHILLIPS J.N. et GRAHAM J.R., 1951.- On the mass culture of algae. Pl. Physiol. 26 : 539-548.

- NEWKIRK G.F. et WAUGH D.L., 1980.- Inhibitory effect of the alga *Pavlova lutherii* on growth of Mussell, *Mytilus Edulis* larvae. Fish. Bull., 77 (3) : 715-717.
- OWEN G., 1974.- Feeding and digestion of the Bivalvia. O. LOWENSTEIN (Editor). Advances in Comparative Physiology and Biochemistry, Vol. 5 : Academic Press, New York, London, 1-35.
- POUVREAU B., 1977.- L'huitre plate *Ostrea Edulis L.* : maturité sexuelle contrôlée, élevage larvaire, croissance et mortalité, variabilité génétique. Thèse 3e cycle. Caen. 114 p.
- PRIEUR D., 1975.- Connaissances actuelles en pathologie larvaire d'origine bactérienne. Haliotis 5 : 84-88.
- PRIEUR D. et LE ROUX S., 1975.- Comparative growth of some algal populations and their associated bacteria in laboratory cultures. 10th. Eur. Symp. Mar. Biol. 1 : 345-355.
- PRIEUR D. et CARVAL J.P., 1979.- Bacteriological and physico-chemical analysis in a bivalve hatchery : techniques and preliminary results. Aquaculture, 17 : 359-374.
- PRUDER G.D., BOLTON E.T. et EPIFANIO C.E., 1977.- Hatchery techniques for a controlled environment molluscan maricultural system. Actes de Colloques C.N.E.X.O. 4 : 347-351.
- QURAIISH F.O. et SPENCER C.P., 1971.- Studies on the growth of some marine unicellular algae under different artificial light sources. Mar. Biol., 8 : 60-65.
- RHODES E.W. et LANDERS W.S., 1973.- Growth of oyster larvae, *Crassostrea virginica*, of various sizes in different concentrations of the Chrysophyte, *Isochrysis galbana*. Proc. Nat. Shellfish Ass., 63 : 53-59.

- TSURU S., 1973.- Preservation of marine and fresh water algae by means of freezing and freeze drying. Cryobiology, 10 : 445-452.
- TUBIASH H.S., CHANLEY P.E. et LEIFSON E., 1965.- Bacillary necrosis, a disease of larval and juvenile bivalve molluscs. I/Etiology and epizootiology. J. Bacteriol., 90, 1036-1044.
- UKELES R., 1961.- The effect of temperature on the growth and survival of several marine algal species, Biol. Bull., 120 : 255-264.
- UKELES R., 1973.- Continuous culture - a method for production of unicellular algal foods. J.R. STEIN (Ed.) Handbook of phycological methods: culture methods and growth measurements. Cambridge Univ. Press. : 233-256.
- 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., 1965.- Observations on the influence of food supply and temperature on the feeding and growth of the larvae of *Ostrea Edulis* L. Fishery Invest., London, Ser. 2, 24 : 1-45.
- WALNE P.R., 1966.- Experiments in the large-scale culture of the larvae of *Ostrea edulis* L. Fishery Invest. Lond., Ser. 2, 25 (4) : 1-53.
- WALNE P.R., 1970.- Studies of the food value of nineteen genera of algae to juvenile bivalves of the genera *Ostrea*, *Crassostrea*, *Mercenaria* and *Mytilus*. Fishery Invest., Lond., Ser. 2, 26 (5) : 1-62.
- WALNE P.R., 1974.- Culture of bivalve molluscs. 50 years experience at CONWY. The Whitefriars Press Ltd. ISEN. 085238-06BI 1-173.

WILSON J.H., 1978.- The food value of *Phaeodactylum tricornatum* Bohlin to the larvae of *Ostrea edulis* L. and *Crassostrea gigas* Thunberg. Aquaculture, 13 : 313-323.

WILSON J., 1979.- Observation on the grazing rates and growth of *Ostrea Edulis* L. larvae when fed algal cultures of different ages. J. Mar. Biol. Ecol., 38 : 187-199.

WILSON J., 1981.- Hatchery rearing of *Ostrea Edulis* and *Crassostrea gigas*. Aquaculture technical bulletin, 4 : 1-34.

A N N E X E

=====

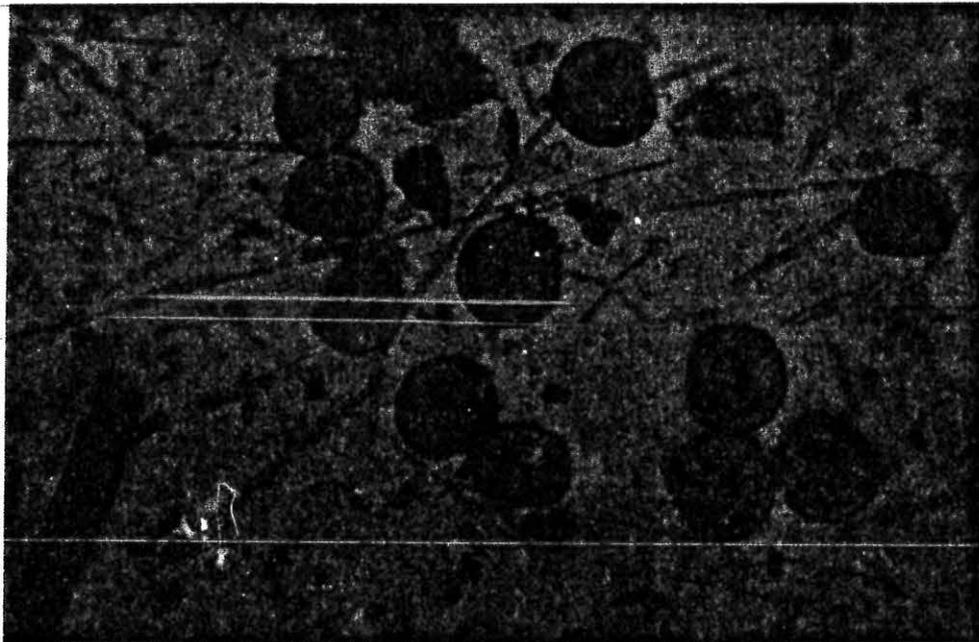


photo n° 1 - Véligères de *Crassostrea gigas* du bassin d'Arcachon âgées de 8 jours (1976).

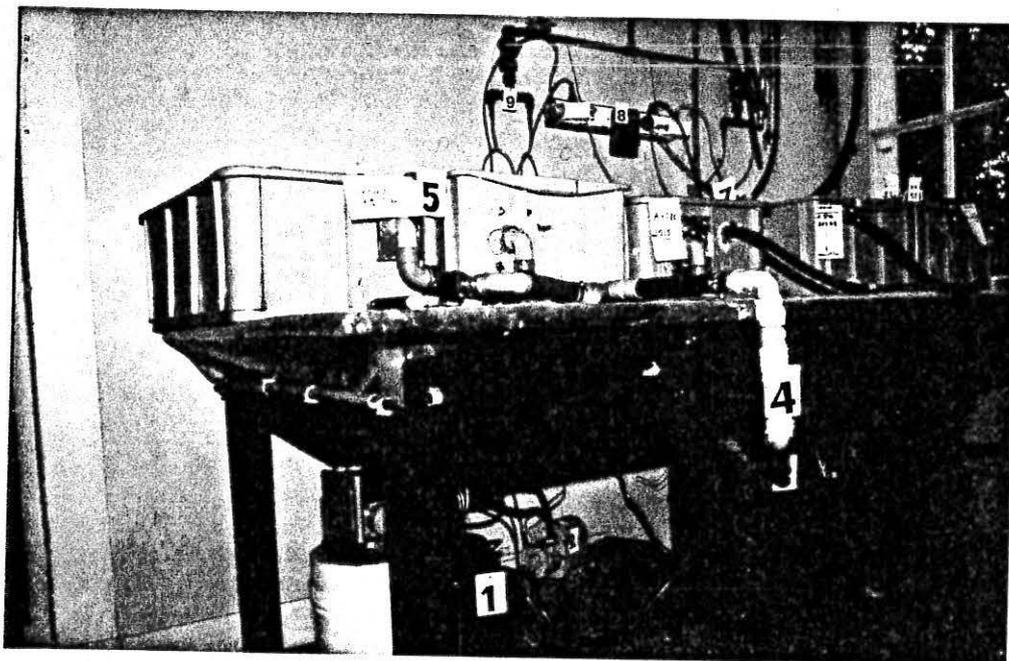


photo n° 2 - Unité de conditionnement.

- | | |
|--------------------------|------------------|
| 1) groupe refroidisseur | 2) pompe |
| 3) filtre biologique | 4) trop plein |
| 5) bac | 6) thermomètre |
| 7) résistante chauffante | 8) chronorupteur |
| 9) air comprimé. | |

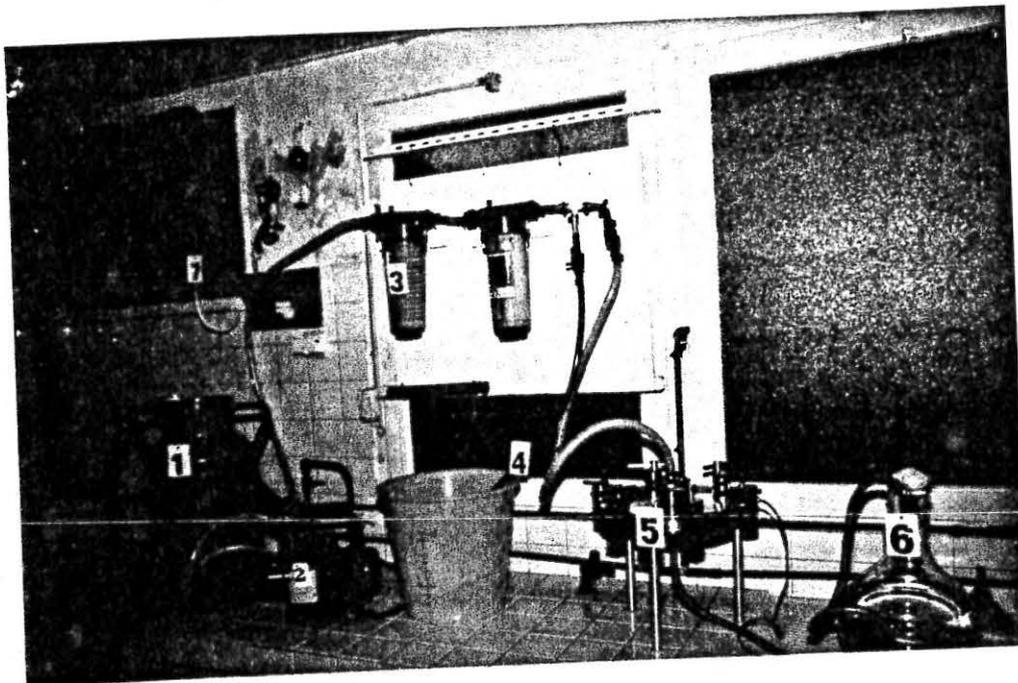


photo n° 3 - Dispositif de filtration

- | | |
|--------------------------------------|------------------------------|
| 1) bonbonne d'eau de mer | 2) pompe |
| 3) cartouche filtrante | 4) sortie d'eau "préfiltrée" |
| 5) filtration sur membrane Millipore | 6) sortie d'eau "filtrée" |
| 7) climatiseur | |

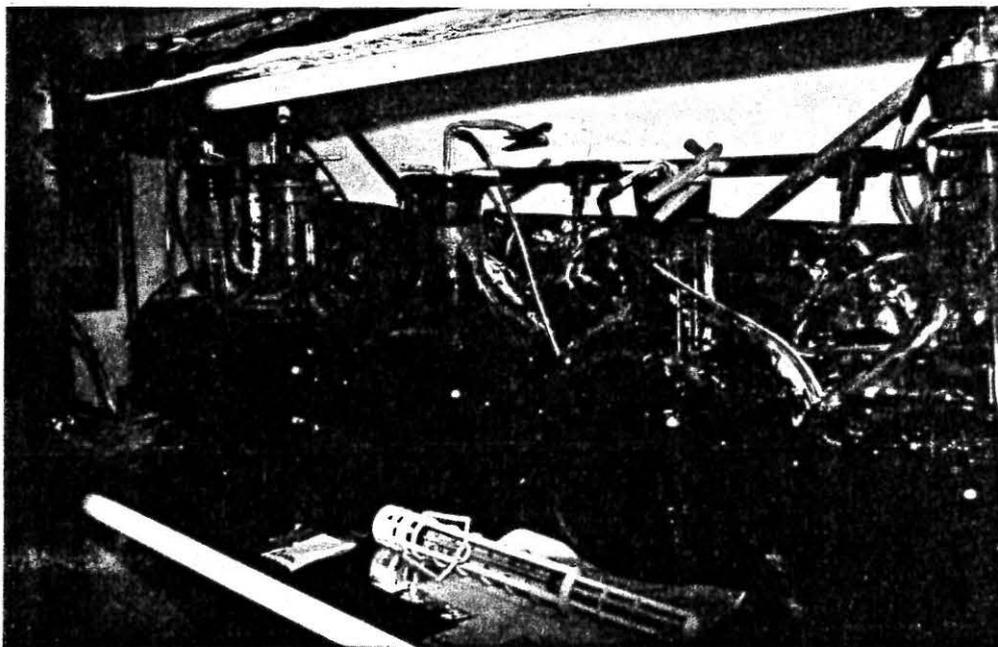


photo n° 4 - Culture d'algues monocellulaires, en ballon de 6 litres, servant à la nutrition des élevages larvaires.

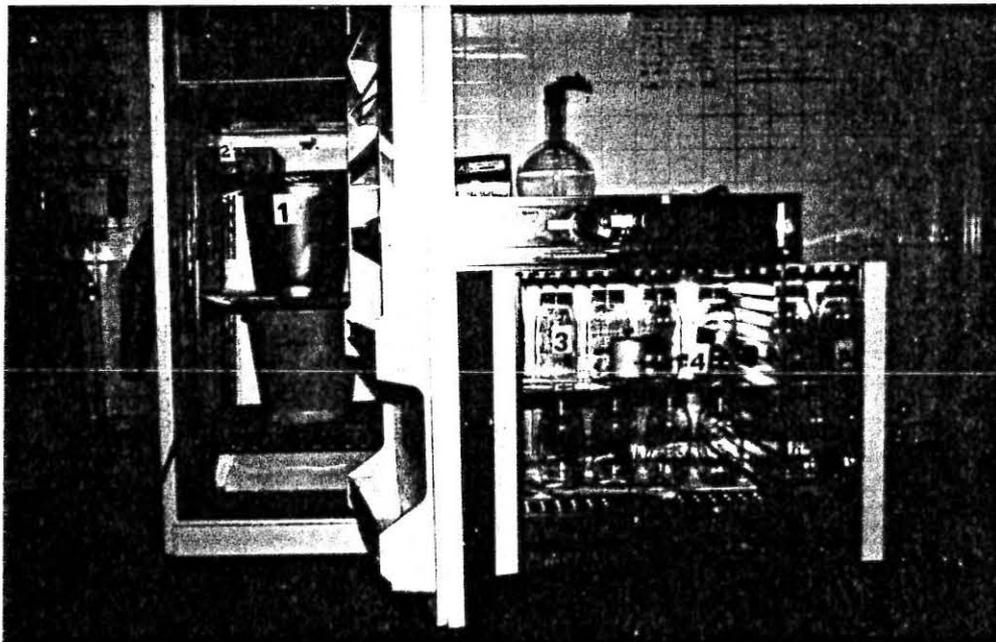


photo n° 5 - Enceintes thermostatées d'élevage.

- | | |
|------------------------------|------------------------|
| 1) seau en matière plastique | 2) dispositif incutrol |
| 3) bocal de 2 l. en verre | 4) thermographe. |

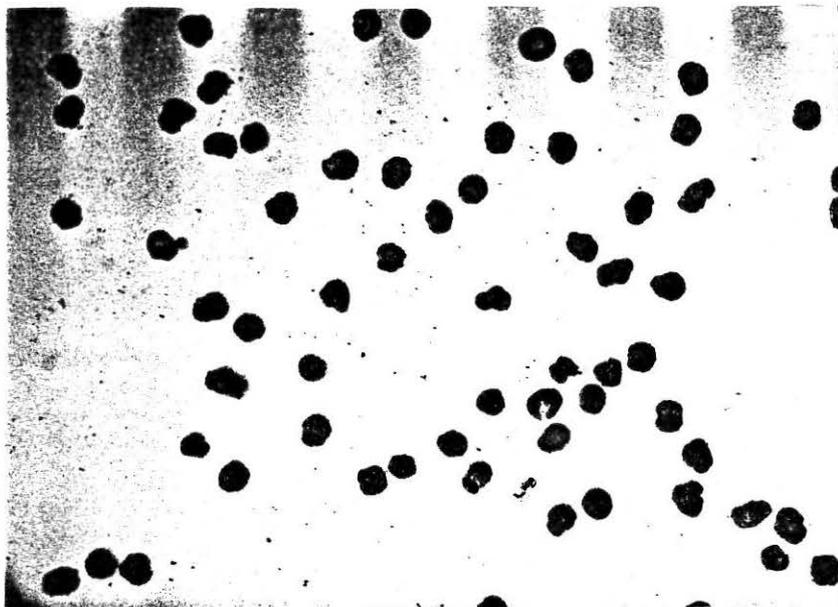


photo n° 6 - Embryons de *Crassostrea gigas* formés en présence de T.B.T.O. à la teneur de 2,5 $\mu\text{g}/\text{l}$ (équivalent à la concentration de 3 $\mu\text{g}/\text{l}$ de T.B.T.) 24 heures après fécondation.

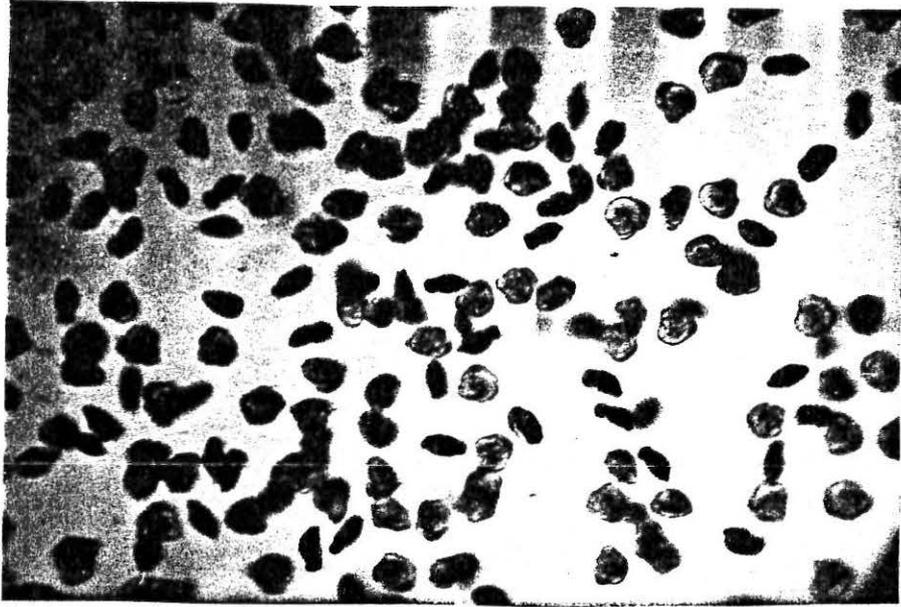


photo n° 7 - Larves D de *Crassostrea gigas* formées en présence de T.B.T.O. à la teneur de 0,8 µg/l (équivalent à la concentration de 1µg/l de T.B.T.) 24 heures après fécondation.

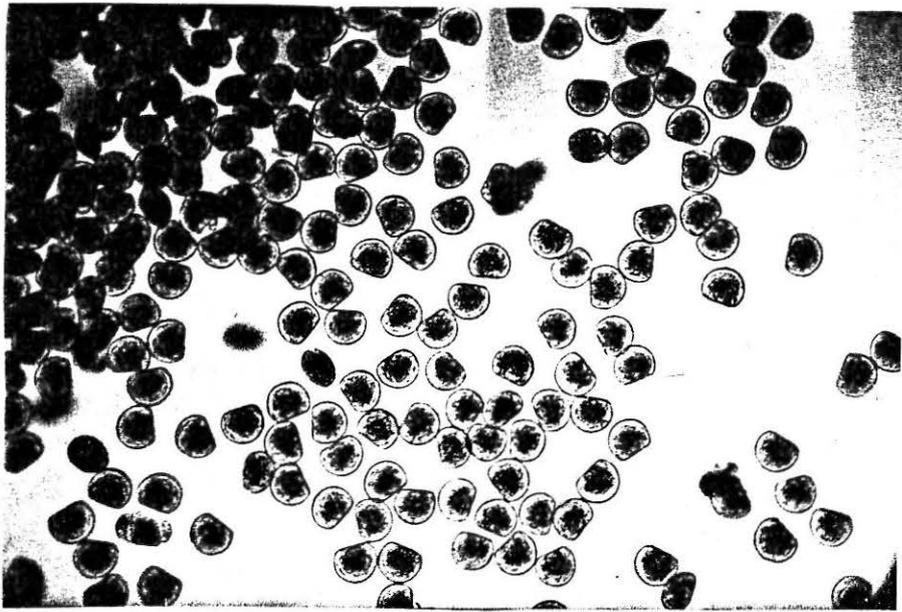


photo n° 8 - Larves D de *Crassostrea gigas* 24 heures après fécondation.

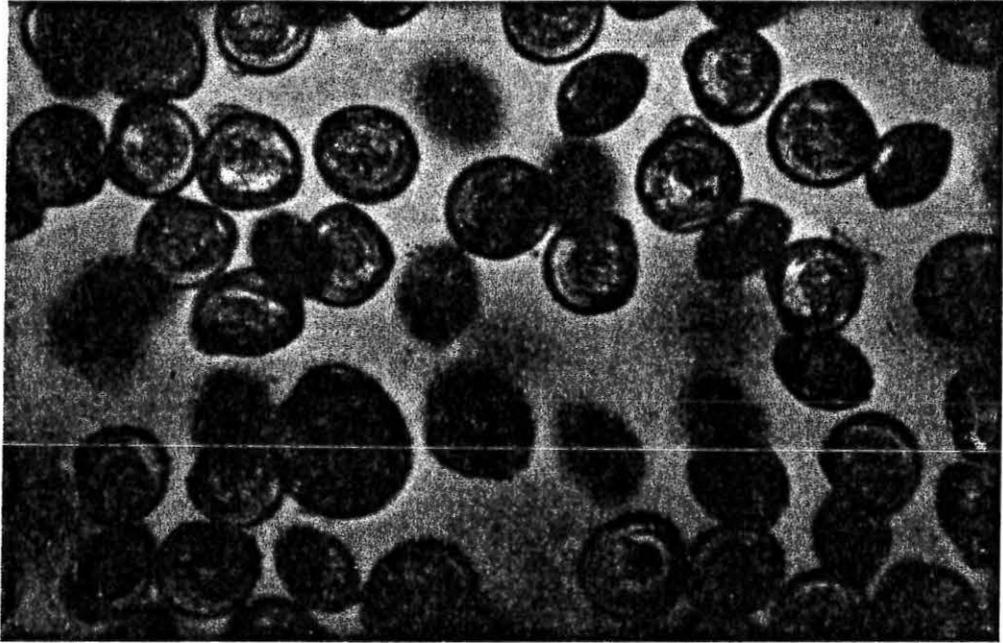


photo n° 9 - Vélignes de *Crassostrea gigas* du bassin d'Arcachon
âgées de 8 jours (1983).