

THESE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE BRETAGNE
OCCIDENTALE

Institut Universitaire Européen de la Mer

Spécialité
OCEANOLOGIE BIOLOGIQUE

Laurence Nicolas

en vue de l'obtention du titre de Docteur de l'Université de Bretagne Occidentale

**ETUDE SUR LA METAMORPHOSE ET LE DEVELOPPEMENT
POST-LARVAIRE DE LA COQUILLE ST JACQUES, *PECTEN
MAXIMUS*, EN ECLOSERIE.**

Eléments de comparaison avec l'huitre creuse, *Crassostrea gigas*.

Soutenue le 20 Mai 1999 devant la commission d'examen :

Lionel Chevolot, rapporteur

Edouard His, rapporteur

Marcel Le Pennec, directeur de thèse

René Robert, responsable scientifique

Christine Cann - Moisan, examinateur

Jacques Daguzan, examinateur

André Gérard, invité

REMERCIEMENTS

A la région Bretagne pour le financement de la thèse et à Michel Glémarec pour avoir défendu le dossier.

A toutes les personnes qui ont lu et corrigé ce manuscrit.

A l'équipe du laboratoire d'analyses physiologiques de l'UFR Médecine de Brest : Mr Caroff pour avoir accepté de m'aider dans la découverte de l'HPLC, Christine pour avoir pris le relais, Evelyne et Pascale pour l'apprentissage des techniques et toute l'équipe pour m'avoir fait confiance en me proposant des vacances au sein du laboratoire.

A Marie-Louise Muzellec de l'écloserie-nurserie du Tinduff pour m'avoir aidée dans les élevages, pour ses conseils, pour son écoute, pour sa compréhension, pour notre entente.

A René Robert pour m'avoir soutenue tout ce temps, pour son aide sans laquelle cette thèse n'aurait pas vu le jour ; on a souvent eu des désaccords, une façon différente de voir les choses, pas toujours sur la même longueur d'onde mais on y est arrivé...

A mes zygotes, mes "chouilles" de l'écloserie d'Argenton, Philippe et nos grandes discussions, Jean-Paul et Michel pour nos délires, nos bons moments...

A Claudie pour son aide en biochimie mais surtout pour son amitié.

A tous ceux d'Ifremer qui ne sont pas cités mais avec qui le courant passait bien...

A tous les autres, les "hors boulot" qui ont été présents pendant tout ce temps et qui n'ont pas besoin d'être cités pour savoir à quel point ils sont importants pour moi.

SOMMAIRE

INTRODUCTION		1
<u>Chapitre 1</u>		
MATERIEL ET METHODES		
	Sommaire détaillé	7
<u>Chapitre 2</u>		
COMPETENCE		
	Sommaire détaillé	47
<u>Chapitre 3</u>		
FACTEURS CHIMIQUES		
	Sommaire détaillé	104
<u>Chapitre 4</u>		
FACTEURS PHYSIQUES ET NUTRITIONNELS		
	Sommaire détaillé	141
CONCLUSION		198
RECOMMANDATIONS - PERSPECTIVES		204
BIBLIOGRAPHIE		209
ANNEXES		221

INTRODUCTION

INTRODUCTION

A ce jour, en France, quatre espèces de mollusques bivalves sont cultivées. Les groupes majeurs (en terme de tonnage) sont représentés par les huîtres (essentiellement *Crassostrea gigas*) et les moules (*Mytilus edulis* et *M. galloprovincialis*), les espèces mineures sont la palourde et la coquille St Jacques. La mytiliculture et l'ostréiculture sont des activités caractérisées par l'utilisation de juvéniles obtenus par captage naturel puis élevés sur des parcs selon des techniques traditionnelles. La part des écloseries ne représente actuellement que 10 % de la production (Robert et Gérard, 1999). En ce qui concerne la palourde, les juvéniles étaient issus d'écloserie. Actuellement la vénériculture est devenue une activité déclinante, la colonisation du milieu naturel a permis l'installation de plusieurs populations qui sont pêchées. En rade de Brest, la deuxième espèce mineure a suivi une histoire contraire à la palourde, la coquille St Jacques étant exclusivement pêchée à l'origine, semi-cultivée actuellement.

La coquille St Jacques localisée sur les côtes françaises, *Pecten maximus* sur les côtes atlantiques et *P. jacobus* sur les côtes méditerranéennes, ne représente au niveau des pêches que 6 à 10 000 tonnes pour une consommation de 50 à 60 000 tonnes. Il existe ainsi une dizaine de gisements naturels classés de coquille St Jacques relativement distincts : Manche Est (Baie de Seine), baie de St Brieuc, baie de Morlaix, rade de Brest, baie de Concarneau, les courreaux de l'île de Groix et de Belle-Ile, Loire-Vendée et les Pertuis vendéens. Ils représentent près des deux tiers de la production française. Exploitée depuis le début du siècle, la population de *P. maximus* a régressé après les années 60 en raison d'une trop forte pression de pêche (engin de plus en plus performants) conjuguée à des conditions climatiques défavorables durant l'hiver 1962-1963 (Le Pennec, 1974). Les tonnages débarqués en rade de Brest ont ainsi chutés, 1 000 tonnes avant 1963 contre 100 tonnes après 1980. C'est à cette période que le programme coquille St Jacques a été élaboré, en réunissant profession - administration - recherche pour formuler des actions concertées de Recherche/Développement sur cette espèce en Bretagne, sur deux sites ateliers : la rade de Brest et la baie de St Brieuc. Ce programme a été décidé au vu des résultats de gestion de la coquille St Jacques sur les deux gisements (une réglementation de la pêche, une gestion des stocks) et des possibles incidences d'une aquaculture extensive associée (Buestel et Dao, 1979). Les premières expérimentations montraient l'intérêt des semis de juvéniles sur des concessions dans des conditions d'environnement identiques aux peuplements naturels. L'obtention de juvéniles était possible, par captage sur certains gisements étrangers, et à petite

échelle par éclosion. Le recours à l'importation du naissain a été éliminé du fait des risques d'introduction de pathogènes. Ainsi la filière aquacole la plus complexe a été retenue.

C'est ainsi qu'au début des années 80 l'éclosion expérimentale d'Argenton et la nurserie du Tinduff mettent en place des techniques de production contrôlée de juvéniles de coquille Saint Jacques *P. maximus*. Pour la première il s'agissait de développer les techniques d'élevage larvaire tandis que le Tinduff s'engageait dans l'élevage post-larvaire. A partir de 1987, après transfert des techniques d'éclosion à la station du Tinduff, l'éclosion d'Argenton s'oriente sur des recherches plus fondamentales et porte l'effort essentiellement sur les élevages larvaires et plus récemment sur les géniteurs.

Dans ce contexte, peu de travaux ont été engagés sur la métamorphose et le développement post-larvaire de *P. maximus*. Citons néanmoins les travaux de Tritar (1987) sur l'action des bactéries mélanisantes, de Chevotot *et al.* (1989 ; 1991) sur le rôle des inducteurs et de Dwiono (1992) et de Salaün (1994) sur l'organogénèse.

Pourtant les résultats montrent une irrégularité dans la production commerciale des juvéniles. Ainsi un bilan des élevages réalisés au Tinduff entre 1988 et 1993 montre que les rendements moyens d'élevage post-larvaire (nombre de post-larves/nombre de pédivéligères) varient de 0 % à 33 % selon le mois de l'année (tab. 1).

Mois	Jan.	Fév.	Mars	Avr.	Mai	Juin	Juil.	Aout	Sept.	Oct.	Nov.
Rendement post-larvaire (%)	3	33	26	14	22	3	25	22	22	9	0

Tab. 1 : Rendements des élevages post-larvaires de *P. maximus* de l'éclosion - nurserie du Tinduff de 1988 à 1993 (Muzellec *et al.*, 1994).

Ces variations peuvent être imputables aux techniques d'élevage (densité post-larvaire ou apport nutritionnel par exemple) ou à des problèmes environnementaux (bloom de *Dinophysis acuminata* par exemple) mais aussi aux mortalités survenues pendant la métamorphose qui reste une étape méconnue.

Le présent travail se propose d'apporter des éléments sur cette dernière, c'est à dire sur le passage de la larve (phase pélagique) à la post-larve (phase benthique). La métamorphose s'accompagne de profondes modifications anatomiques, morphologiques et physiologiques. Un changement radical de mode de vie en découle et de ce fait, l'ensemble de ces transformations constitue une étape critique durant laquelle d'importantes mortalités peuvent être dénombrées. Une meilleure

connaissance et une amélioration de cette phase constituent un élément clé pour le développement de techniques fiables dans les écloséries de production qui constituent dans de nombreux pays des outils de production en pleine expansion (*P. fumatus* en Australie, *Chlamys farreri* et *Argopecten irradians* en Chine, *A. purpuratus* au Chili, *Mizuhopecten yessoensis* au Japon (Dao, 1991 ; Heasman *et al.*, 1995))

Les travaux de Salaün (1994) s'attachent plus spécifiquement à la morphogénèse de la coquille larvaire de *P. maximus* et permettent de préciser les éléments suivants. La larve véligère est munie d'une coquille équivalve de forme semi-circulaire au bord dorsal pratiquement rectiligne et présentant parfois une légère dépression en son centre : c'est la prodissoconque I. A ce stade du développement, les larves sont qualifiées, en raison de leur forme, de larves D. Avec le développement de la prodissoconque II, la dissymétrie entre les deux bords latéraux, selon un plan perpendiculaire au plan de la séparation des valves, s'accroît. L'umbo qui commence à apparaître au milieu du bord dorsal fait perdre à celui-ci son allure rectiligne. Il reste cependant peu proéminent chez *P. maximus*. A l'approche de la fixation, la larve pédivéligère différencie une "double barre" à la périphérie de la prodissoconque de part et d'autre du bord dorsal. Observé en microscopie optique, le bord de la coquille apparaît double. Cette formation étudiée en microscopie électronique à balayage existe sur les deux valves de la prodissoconque. Elle se présente sous la forme d'une gouttière périphérique où l'on différencie un bord interne et un bord externe. La dissoconque qui se développe au moment de la métamorphose prend naissance au niveau de cette gouttière. Sur le plan morphologique, les travaux de Dwiono (1992) permettent de décrire la métamorphose de *P. maximus* comme suit (tab. 2) :

Mode de vie Stade de développement	Vie pélagique		Métamorphose	Vie benthique Post-larvaire
	Véligère	Pédivéligère		
Taille	210 - 220 µm		240 - 250 µm	
Age (jours)	21	23	25	28
Coquille	Prodissoconque		Dissoconque	
<u>Transformation</u>				
<u>anatomiques</u>				
Vélum & Palpe oral			<u>Disparition</u>	
Palpes labiaux			<u>Apparition & Fonctionnement</u>	
Branchies			<u>Bourgeons</u>	<u>Filaments</u>
Pied	<u>Apparition</u>	<u>Développement</u>	<u>Pied fonctionnel</u>	

Tab. 2 : Synthèse des données anatomiques au cours de la période encadrant la métamorphose de *P. maximus* (Dwiono, 1992).

Plusieurs facteurs environnementaux induisent la fixation et/ou la métamorphose des larves d'invertébrés marins : nature du substrat (Cole et Knight-Jones, 1949 ; Bourne *et al.*, 1989), biofilm bactérien (Tritar, 1987 ; Weiner *et al.*, 1989), substances dissoutes dans l'eau... et il est difficile d'ordonner ces différents facteurs. La relative importance des deux types de signaux, chimiques et physiques, doit donc être clarifiée.

Bien que le rôle des facteurs chimiques ait été suspecté depuis longtemps (Zobell et Allen, 1935 ; Cole et Knight-Jones, 1939 ; Hidu, 1969), il faudra attendre les années 80 pour que cette voie de recherche se développe, suite aux travaux de Morse *et al.* chez *Haliotis tuberculata* (1979) et ceux de Weiner et Colwell chez *Crassostrea virginica* (1982). Leur influence sur la métamorphose a été étudiée en détail sur l'huître du Pacifique *C. gigas* (Coon *et al.*, 1985) et *C. virginica* (Coon *et al.*, 1986) et sur l'huître européenne *Ostrea edulis* (Shpigel *et al.*, 1989). Cependant, pour les Pectinidés les données sont rares (Kingzett *et al.*, 1990 ; Chevolut *et al.*, 1991). Le processus de fixation étant différent chez les Ostéidés et les Pectinidés, il semble probable que les signaux chimiques impliqués dans la métamorphose et le contrôle du processus de la métamorphose différent entre les deux espèces.

C'est dans ce sens que les travaux concernant l'influence des facteurs chimiques sur la métamorphose ont été développés dans le présent travail. Différentes molécules, catécholamines essentiellement, ainsi que des extraits d'algues ont été testés et leur incidence sur la métamorphose précisée. L'hypothèse de l'influence du film bactérien sur la métamorphose a donné lieu à de nombreux travaux (Tritar, 1987 ; Weiner *et al.*, 1989 ; Fitt *et al.*, 1990). Cette voie a été prospectée en détails avec les bactéries mélanisantes (Tritar, 1987 ; Tritar *et al.*, 1992). Au cours de notre D.E.A., nous avons initié également des travaux dans ce domaine avec un effet activateur sur la métamorphose de *P. maximus* et de *C. gigas*. La reprise ultérieure de ces travaux n'a pas permis la reproductibilité de ces résultats et la recherche de bactéries spécifiques n'a pas abouti. Nous n'avons donc pas poursuivi dans cette voie, ce thème ne sera pas développé ici.

L'action des facteurs physiques tels que la lumière (Walne, 1966 ; Ritchie et Menzel, 1969), la salinité (Neudecker, 1985 ; Roland et Broadley, 1986), le pH (Cole et Knight-Jones, 1949), la turbulence de l'eau (Eyster et Pechenik, 1987), la vitesse du courant (Roland et Broadley, 1990) et la qualité des supports (Cole et Knight-Jones, 1949 ; Bourne *et al.*, 1989) a été recherchée chez de nombreux Bivalves d'intérêt commercial et un certain nombre de résultats sont donc disponibles dans la littérature. En ce qui concerne la coquille St Jacques, *P. maximus*, l'incidence de ces paramètres physiques sur la métamorphose est méconnue. Nous nous sommes attachés à observer, dans un premier temps, l'effet du facteur nutritionnel, aspect qualitatif et quantitatif,

sur la métamorphose et le développement post-larvaire. Ensuite l'action de la turbulence de l'eau et l'effet de la température ont été testés afin d'optimiser les conditions d'élevage.

Pendant la métamorphose, les animaux vivent sur les réserves accumulées au cours de la vie larvaire puisque les branchies ne sont fonctionnelles qu'au bout d'un mois, après transfert en micro-nurserie (Dwiono, 1992). L'hypothèse du "pedal feeding" a aussi été avancée par certains auteurs (Caddy, 1969 ; Reid et al., 1992). Les importantes fluctuations des rendements d'élevage post-larvaire pourraient donc trouver leur origine dès la métamorphose, et pourraient être expliquées par l'aptitude des larves à se métamorphoser. Or les critères de compétence à la métamorphose de *P. maximus* restent méconnus à ce jour. Cet aspect a été abordé chez l'huître *C. gigas* mais seulement sur deux critères, taille larvaire et développement de la tache oculaire (Coon et al., 1990). Chez la coquille, à ce jour, seul le critère dit de "double barre" est utilisé. Ce critère a été décrit sur le plan morphologique (Gérard et al., 1989 ; Dwiono, 1992 ; Salaün, 1994). Cependant, son utilisation en écloserie reste empirique, aucune quantification de la relation taux de double barre et métamorphose n'ayant été établie à ce jour. Nous avons donc tenté de préciser celle-ci (puissance et nature de la relation). De plus, cette étape, généralement concentrée sur une courte période, nécessite un apport énergétique élevé. De ce fait l'évolution de la composition biochimique des larves a été dosée tout au long de l'élevage puis corrélée aux taux de métamorphose. Par ailleurs, il a été démontré que la métamorphose de *C. gigas* pouvait être induite par l'adrénaline et la noradrénaline, suggérant ainsi que les catécholamines pouvaient exercer un rôle important dans le processus de la métamorphose des huîtres (Coon et al., 1986). La cinétique des amines biogènes a été étudiée au cours du développement larvaire et post-larvaire de la coquille Saint Jacques, afin de rechercher d'éventuels marqueurs endogènes.

CHAPITRE 1

MATERIEL ET METHODES

MATERIEL ET METHODES

Partie I - <u>TECHNIQUES D'ECLOSERIE</u>	11
1 - TRAITEMENT DE L'EAU	11
2 - CULTURE DES MICROALGUES	12
3 - CONDITIONNEMENT DES GENITEURS	13
4 - EMISSION DES GAMETES	14
5 - INCUBATION	15
6 - ELEVAGE LARVAIRE	15
Partie II - <u>COMPETENCE</u>	17
1 - CRITERE DE COMPETENCE MORPHOLOGIQUE	17
2 - CRITERE DE COMPETENCE BIOCHIMIQUE	17
2.1 - CINETIQUE DES COMPOSES BIOCHIMIQUES ELEMENTAIRES EN COURS DE VIE LARVAIRE	17
2.1.1 - Préparation des échantillons	20
2.1.2 - Détermination des poids secs, des poids de cendres et de la matière organique	20
2.1.3 - Dosage des lipides	21
2.1.4 - Dosage des glucides	21
2.1.5 - Dosage des protéines	21

2.2 - CORRELATION ENTRE CONSTITUANTS BIOCHIMIQUES ET METAMORPHOSE	21
3 - DOSAGES DES AMINES BIOGENES	22
3.1 - GENERALITES SUR L'HPLC	22
3.1.1 - Principe de séparation des composés	22
3.1.2 - La détection des composés séparés	22
3.2 - TRAITEMENT DES ECHANTILLONS AVANT ANALYSE	24
3.3 - ANALYSE DES AMINES BIOGENES	24
3.3.1 - Catécholamines	24
3.3.2 - Sérotonine	26
3.4 - IDENTIFICATION, QUANTIFICATION	27
3.4.1 - Identification	27
3.4.2 - Quantification	27
Partie III - <u>FACTEURS CHIMIQUES</u>	29
1 - MATERIEL BIOLOGIQUE	29
2 - INDUCTEURS	31
2.1 - REACTIFS	31
2.2 - TEMPS DE CONTACT	31
2.3 - CONCENTRATIONS	32

Partie IV - <u>FACTEURS NUTRITIONNELS ET PHYSIQUES</u>	34
1 - MATERIEL BIOLOGIQUE	34
2 - ALIMENTATION DES LARVES ET POST-LARVES	34
2.1 - COMPOSITION DE LA RATION EN MICROALGUES EN PHASE LARVAIRE	38
2.1.1 - Incidence de la composition de la ration en microalgues des larves	38
2.1.1.1 - Influence comparée de <i>Chaetoceros sp</i> et <i>Chaetoceros calcitrans</i> en régime plurispécifique	38
2.1.1.2 - Influence comparée des mélanges PTC et TCsp	39
2.1.1.3 - Influence comparée des mélanges PTC, PTCsp et TCsp	40
2.1.2 - Incidence d'une modification tardive du régime alimentaire des larves	40
2.1.2.1 - Influence comparée de <i>Chaetoceros calcitrans</i> et de <i>Skeletonema costatum</i>	40
2.1.2.2 - Incidence d'un apport complémentaire de <i>Rhodomonas salina</i>	41
2.2 - INCIDENCE DE LA QUANTITE DE MICROALGUES DISTRIBUEES AUX POST-LARVES	41
2.2.1 - Incidence de la quantité de microalgues au cours du premier mois de vie post-larvaire	41
2.2.2 - Incidence de la quantité de microalgues au cours des deux premiers mois de vie post-larvaire	42
2.2.3 - Incidence du jeûne au cours des deux premiers mois de vie post-larvaire	42

3 - DEBIT D'EAU DE MER	43
3.1 - INCIDENCE DE LA TURBULENCE SUR LA METAMORPHOSE : EFFET TOUT OU RIEN	43
3.2 - INCIDENCE DU DEBIT D'EAU DE MER SUR LA METAMORPHOSE ET AU COURS DES PREMIERES SEMAINES DE VIE POST-LARVAIRE	43
4 - TEMPERATURE	44
5 - EFFET COMBINE DE LA TEMPERATURE ET DE LA NUTRITION SUR LA METAMORPHOSE ET AU COURS DES PREMIERES SEMAINES DE VIE POST-LARVAIRE	45
Partie V - <u>TRAITEMENT DES ECHANTILLONS</u>	46

MATERIEL ET METHODES

Partie I - TECHNIQUES D'ECLOSERIE

Les larves, avec lesquelles sont réalisées nos expérimentations, sont issues d'écloseries commerciales (écloserie du Tinduff - Bretagne - pour la coquille St Jacques *Pecten maximus* et écloserie de la Satmar - Normandie - pour l'huître creuse *Crassostrea gigas*), et de l'écloserie expérimentale IFREMER (Argenton - Bretagne). Métamorphoses et élevages post-larvaires sont exclusivement réalisés dans cette dernière. La plupart des élevages larvaires ayant néanmoins été conduits dans cette écloserie expérimentale, les techniques d'élevage employées sont rappelées ci-après.

1 - TRAITEMENT DE L'EAU

L'emplacement de l'écloserie, éloignée de toute forte urbanisation et de toute source potentielle de pollution, permet de disposer d'une eau d'excellente qualité biologique, condition *sine qua non* pour la conduite des élevages larvaires de mollusques. L'existence d'une importante réserve d'eau, variant de 7 000 à 10 000 m³, partiellement renouvelée par l'intermédiaire d'une vanne dormante à chaque marée haute de coefficient supérieur à 50, constitue l'une des particularités de l'écloserie d'Argenton. La superficie de la réserve est importante, 3 565 m², mais la profondeur moyenne est faible, 2 à 3 m. L'eau récoltée est de type océanique et les fluctuations de salinité minimales (salinité 34 - 35 ‰). De ce fait ce paramètre n'est que rarement contrôlé. Une station de pompage dans le vivier permet une alimentation continue de l'écloserie en eau de mer. Celle-ci, préfiltrée à environ 50 - 100 µm sur filtre à sable, est distribuée à l'intérieur du bâtiment sans traitement supplémentaire. Dans l'écloserie, l'utilisation de cartouches de filtration (Schumacher, Type Schumatex, Réf PP 251 mm, 1 µm), amovibles, montées en série, permet d'obtenir des filtrations fines sur chaque point de distribution d'eau.

2 - CULTURES DES MICROALGUES

Pour alimenter les géniteurs, les larves et les post-larves, l'écloserie cultive ses propres microalgues. Le choix des espèces est lié à leur valeur nutritive, leur taille et leur facilité de culture. L'utilisation d'un mélange de différentes espèces pour la nutrition des larves et post-larves, compensant les déficiences nutritionnelles, est préconisée par de nombreux auteurs (Robert et Trintignac, 1997a). De ce fait quatre espèces sont utilisées en routine :

- *Pavlova lutheri* : flagellé unicellulaire appartenant à la famille des Prymnésiophycés et mesurant de 2 à 6 μm en culture contrôlée (Robert et His, 1987).

- *Isochrysis affinis galbana* (couramment appelée T. Iso ou *Isochrysis tahiti*) : flagellé unicellulaire appartenant également à la famille des Prymnésiophycés et mesurant de 3 à 6,5 μm en culture (Robert et His, 1987).

- *Chaetoceros calcitrans* : diatomée unicellulaire, appartenant à la famille des Chaetocercés et mesurant de 4 à 9 μm en culture (Robert et His, 1987).

- *Skeletonema costatum* : diatomée en chaîne, appartenant à la famille des Thallasiosiracés. Dans nos conditions de culture, la taille de chaque cellule est comprise entre 4 et 8 μm et le nombre de cellules formant une colonie entre 1 et 8.

Les cultures sont réalisées en eau de mer filtrée à 1 μm , préalablement stérilisée par autoclavage ou chimiquement (ajout d'HCl), de salinité ambiante 34 ‰, à l'exception de *C. calcitrans* pour laquelle un abaissement à 22 ‰ par adjonction d'eau douce est effectué (Robert *et al.*, 1994a). L'eau de mer est enrichie, en nitrate, phosphate, vitamines (B1 et B12) et traces de métaux par adjonction d'une solution nutritive, dite de Conway, à raison de 1 ml. L⁻¹ (Walne, 1970). Les diatomées nécessitent un apport complémentaire de silice sous forme de métasilicate à la teneur de 1 ml. L⁻¹. La technique utilisée est celle des volumes croissants qui consiste à passer progressivement, après 5 à 7 jours de croissance, à des volumes de plus en plus grands (500 mL à 300 L). Le maintien des souches et le démarrage des cultures non axéniques s'effectuent dans une salle thermostatée (18°C) et illuminée au moyen de néons fluorescents Cool White et GroLux Sylvania (16 000 Lux, 300 μmol de photon. m⁻². s⁻¹). Les cultures sont effectuées en erlenmeyer de 500 mL, en ballon de 2 L, puis en ballons de 6 ou 10 L. Ces dernières sont souvent utilisées pour alimenter les élevages larvaires expérimentaux (volumes d'élevage \leq 2 L). La production de phytoplancton pour les élevages larvaires en grand volume (150 à 450 L) est réalisée dans des cylindres de plexiglas de 300 L (hauteur de la colonne de plexiglas 1,20 m - diamètre 56 cm) dans une serre orientée au nord, où température et luminosité sont plus fluctuantes.

De l'air comprimé est insufflé dans tous les volumes de culture, sauf les erlenmeyers, pour permettre la mise en suspension des cellules algales et pour apporter du carbone sous la forme de

CO₂ (1 à 3 % du volume injecté selon les conditions de cultures) nécessaire à la photosynthèse, permanente dans notre cas car l'éclairage est continu.

La croissance des algues se caractérise par quatre phases : une phase de latence, une phase de croissance exponentielle, une phase stationnaire et une phase de dégénérescence. Le système de culture est le bloom mais seules les cultures en phase de croissance exponentielle sont utilisées pour les élevages. Les densités algales sont calculées quotidiennement par comptage à la cellule de Mallassez. Un contrôle de l'état des cultures est ainsi opéré et la quantité d'algues à apporter aux animaux déterminée. Au moment de leur utilisation, les densités cellulaires sont comprises entre 3 et 10 millions de cellules. mL⁻¹ pour les cultures en cylindres et de 5 à 30 millions de cellules. mL⁻¹ pour les cultures en ballons, toutes espèces confondues.

Chaque jour, les algues sont soutirées des ballons ou des cylindres et distribuées manuellement aux larves, ou transférées à l'aide d'une pompe mobile dans un bac de réserve. A partir de ce bac et à l'aide d'une pompe fixe fonctionnant en permanence, la distribution du phytoplancton est assurée pour les géniteurs et les post-larves.

3 - CONDITIONNEMENT DES GENITEURS

Des coquilles Saint Jacques, âgées de 3 à 4 ans, originaires de la rade de Brest, sont placées en bacs de 700 L (hauteur utile d'eau 0,60 m - longueur utile 1,30 m - largeur utile 0,85 m) par groupe de 20 géniteurs (18 coquilles. m⁻³). Ces enceintes sont garnies d'un fond de sable grossier qui autorise, d'une part, l'enfouissement des animaux et, d'autre part, une autoépuration de l'eau de mer après percolation du sédiment et remise en circulation par air-lift. Un apport continu d'eau de mer, de salinité 34 ‰, filtrée à 50 - 100 µm sur filtre à sable est cependant réalisé à raison de 30 L. h⁻¹. Il permet ainsi un renouvellement quotidien de la totalité du volume de stockage. Cette eau est thermostatée à 15°C au moyen d'échangeur à plaques de titane. Le système utilisé est donc de type semi-ouvert. Un apport en continu d'un mélange d'algues phytoplanctoniques assure l'alimentation des géniteurs. Ce mélange, appelé ci-après PTCS est constitué d'1/5 de *Pavlova lutheri*, 1/5 de *T. Isochrysis*, 1/5 de *Chaetoceros calcitrans* et de 2/5 de *Skeletonema costatum* en volume. Quotidiennement, 20 L de ce mélange sont apportés par bac, soit environ 10 milliards de cellules algales par géniteur. Dans ces conditions, la maturation dure environ 2 mois (1,5 à 2,5 mois selon l'état de la maturité initiale des géniteurs et/ou de la saison).

Pour *C. gigas*, 120 huîtres âgées de 2 à 3 ans, originaires notamment de Normandie ou de la région des Abers, sont placées dans des bacs de 300 L (hauteur 0,30 m - longueur 2 m - largeur 0,50 m) à la densité de 120 individus. m⁻² où l'eau de mer est renouvelée quotidiennement. Le système utilisé est donc de type clos. La température est maintenue à 20°C (± 1°C) à l'aide de résistances chauffantes et les animaux sont alimentés de façon continue. Chaque jour 30 L de phytoplancton (mélange PTCS identique à celui utilisé pour *P. maximus*) sont distribués, soit 2,5 milliards de cellules algales par géniteur. Le temps de conditionnement est compris entre un et deux mois, selon l'état initial de maturité des huîtres dans le milieu naturel au moment de leur prélèvement et/ou de la saison.

4 - EMISSION DES GAMETES

Vingt à trente animaux matures sont placés dans des bacs à fond plat, jouant le rôle de "pondoir", et stimulés par choc thermique, par élévation progressive de la température de 15° à 20 - 22°C pour la coquille S' Jacques et de 20° à 25°C pour l'huître creuse, puis par abaissement de celle-ci dans les mêmes gammes. Pour *P. maximus*, hermaphrodite vrai, l'émission de sperme se produit en général avant celle des ovocytes. Cette particularité est mise à profit pour limiter les problèmes d'autofécondation. Dès la détection des émissions spermatiques, une partie des géniteurs est isolée en petits volumes (1 L) où se poursuit la vidange. Une autre partie est maintenue en bac pour permettre une stimulation chimique de l'ensemble de la population. Au bout de 10 à 15 mn les coquilles isolées en béccher sont remises, après marquage, en "pondoir" pour faciliter l'évacuation des ovocytes. Dès les premières expulsions d'ovocytes les coquilles sont abondamment rincées en eau de mer filtrée et placées individuellement en béccher de 2 L où se poursuit la ponte. L'origine des produits mâles et femelles émis étant clairement identifiée les risques d'autofécondation sont limités. Pour *C. gigas*, espèce gonochorique, les individus sont isolés dès les premières émissions de sperme ou d'ovocytes sans précaution particulière. La qualité des gamètes est appréciée au microscope selon les critères respectifs de mobilité pour les spermatozoïdes, et de forme et remplissage pour les ovocytes. Après comptage au projecteur de profil (Nikon V12), 10 à 30 millions d'ovocytes (2 500 à 7 500. mL⁻¹) sont fécondés à l'aide de 50 à 100 mL d'une suspension dense de sperme (une centaine de spermatozoïdes autour d'un ovocyte plan) dans un béccher de 5 L. La détection du premier globule polaire au bout de 15 à 30 mn permet d'apprécier le bon déroulement de la fécondation.

5 - INCUBATION

Au bout de 30 à 60 minutes, les œufs sont tamisés (sur 100 μm) pour l'élimination des débris, et mis en incubation dans des bacs cylindro-coniques de 450 L, à une concentration de 22 à 66 œufs. mL^{-1} . L'eau de mer filtrée à 1 μm est thermorégulée à 18°C pour *P. maximus* et à 25°C pour *C. gigas*. Un faible bullage (0,3 L. mn^{-1}) partant du bas du cône empêche la sédimentation des œufs et limite ainsi une prolifération bactérienne. Aucun antibiotique n'est utilisé pendant la phase embryonnaire. Les larves D (premier stade larvaire) sont récupérées, sur un tamis de 45 μm , au bout de 24 heures chez les huîtres et de 48 heures chez les coquilles. Le nombre total de larves D rapporté au nombre d'ovocytes mis en incubation définit le rendement en larves D.

6 - ELEVAGE LARVAIRE

Les larves D sont réparties, à une densité de 5 à 10 larves. mL^{-1} , dans des volumes d'élevage compris entre 2 L (bêchers) et 450 L (bacs cylindro-coniques), correspondant dans tous les cas de figure, à un système d'élevage clos. L'eau de mer, filtrée à 1 μm , thermorégulée à 18°C pour les coquilles et 25°C pour les huîtres est renouvelée tous les deux jours. Une légère aération (0,3 L. mn^{-1}) de l'eau des bacs est maintenue en permanence. Elle évite d'une part, l'accumulation des produits morts dans le cône des bacs d'élevage et favorise, d'autre part, l'homogénéisation des larves et des algues dans la colonne d'eau. En béccher aucun bullage n'est apporté, celui-ci ayant une action néfaste sur les larves en petit volume. L'addition d'antibiotique, entre 1 et 8 mg. L^{-1} , s'avère nécessaire pour la conduite des seuls élevages larvaires de *P. maximus* (Nicolas *et al.*, 1996a ; Robert *et al.*, 1996). La nourriture est apportée à raison de 60 cellules. μL^{-1} pour les coquilles et de 90 cellules. μL^{-1} pour les huîtres à chaque renouvellement d'eau, et une demi-ration est distribuée le jour suivant. En béccher, une moindre quantité est apportée, une seule dose pour les 2 jours. En condition standard, cette alimentation est constituée d'un mélange de microalgues, en proportions égales, de *P. lutheri*, d'*I. aff. galbana* et de *S. costatum*.

Des prélèvements sont effectués régulièrement pour déterminer les taux de mortalité et de croissance. Les premiers sont estimés par comptage des larves mortes (coquilles vides) au projecteur de profil. L'acquisition des données de croissance se fait sous microscope inversé couplé à un dispositif d'analyse d'images (De Pontual *et al.*, 1998).

La larve va progressivement passer du stade D au stade umboné en 6 - 12 jours puis au stade pédivéligère en 15 - 25 jours en fonction de l'espèce et de la qualité des larves. Ce dernier stade annonce l'approche de la métamorphose. D'un point de vue morphologique, le début de cette phase se caractérise chez la coquille St Jacques par le creusement d'une gouttière sur le bord interne des valves, sur lequel viendra s'insérer la future coquille post-larvaire, la dissoconque (Gérard *et al.*, 1989). Celle-ci se visualise très nettement au projecteur de profil par un dédoublement du bord de la coquille larvaire. Lorsque ce taux de "double barre" est compris entre 30 et 50 %, des pédivéligères sont retenues sur tamis de 150 μm (autorisant la sélection de larves de taille $\geq 212 \mu\text{m}$) pour *P. maximus* puis transférées en micro-nurserie où se déroulent métamorphose et élevage post-larvaire. Pour *C. gigas*, l'approche de la métamorphose, se caractérise plus facilement par l'apparition d'une tache pigmentaire au milieu des deux valves appelée tâche oculaire ou "œil" (Galtsoff, 1964). Lorsque le taux de larves ocellées est compris entre 50 et 70 % les pédivéligères de *C. gigas* sont tamisées sur 230 μm (larves $\geq 325 \mu\text{m}$) avant transfert en micro-nurserie. Il faut cependant préciser que ces deux particularités morphologiques existent chez les deux espèces mais que la forte courbure de la larve umbonée ne permet pas de comptabiliser facilement la double barre chez l'huître et que l'œil est peu visible chez la coquille. De plus, pour bien noter la présence de ce dernier, l'optique utilisée est importante. Ainsi une moindre visibilité est généralement relevée au projecteur de profil. Pour ce faire, chez l'huître les échantillons sont systématiquement observés sous microscope.

Partie II - COMPETENCE

1 - CRITERE DE COMPETENCE MORPHOLOGIQUE

Chez *Pecten maximus* le critère de double barre est le seul utilisé en éclosérie pour caractériser la qualité des lots larvaires en fin d'élevage ; cette notion de double barre doit être affinée et de ce fait nous avons tenté de déterminer la puissance des corrélations reliant ce paramètre et le taux de métamorphose une semaine après le passage des animaux en micro-nurserie.

En fin de vie larvaire, quel que soit le pourcentage de double barre, les pédivéligères sont transférées en micro-nurserie. Leurs caractéristiques larvaires ont été établies après tamisage sur 150 µm et la relation avec le taux de métamorphose recherchée. Ainsi même les élevages présentant des faibles taux de double barre, au plus tard au 30^{ème} jour après fécondation, sont passés en élevage post-larvaire afin d'obtenir la plus grande échelle de valeurs possibles. Le taux de métamorphose correspondant au nombre de post-larves divisé par le nombre de pédivéligères transférées en micro-nurserie a été estimé après une semaine d'élevage post-larvaire. Les paramètres d'élevage retenus pour établir une matrice de corrélation sont : la longueur des larves en fin d'élevage, le taux de croissance larvaire (taille finale moins taille initiale divisée par la durée de l'élevage) et le pourcentage de double barre au moment du transfert en micro-nurserie. Quarante quatre élevages ont été ainsi conduits selon des procédures zootechniques similaires (tab. 3).

2 - CRITERE DE COMPETENCE BIOCHIMIQUE

2.1 - CINETIQUE DES COMPOSES BIOCHIMIQUES ELEMENTAIRES EN COURS DE VIE LARVAIRE

Les caractéristiques des larves utilisées au cours de ces expérimentations sont reportées dans le tableau 4.

Durée de l'élevage larvaire (jour)	Longueur finale (μm)	Taux de croissance ($\mu\text{m. j}^{-1}$)	Taux de double barre (%)	Taux de métamorphose en 1 ^{ère} semaine (%)
28	242.0	5,4	51,2	36,9
30	211.8	3,9	17,0	12,1
26	241.7	5,5	39,6	26,2
18	238.1	8,2	74,0	41,3
33	223.9	3,7	11,7	5,5
28	249.4	5,5	33,0	18,2
21	235.7	6,5	35,0	25,4
23	229.3	5,6	39,3	40,6
26	243.4	5,5	23,7	24,7
28	243.7	5,0	41,5	31,9
28	224.6	4,4	15,3	16,0
27	224.8	4,3	13,1	0,6
29	229.7	4,2	19,6	0,6
23	237.3	5,9	28,9	15,8
21	235.0	6,8	33,3	10,0
25	230.5	5,3	31,9	5,7
25	226.5	5,1	46,5	4,1
28	247.5	5,4	49,3	22,8
30	252.8	5,1	37,0	12,5
28	246.4	5,3	55,9	10,8
23	229.3	5,8	50,9	20,7
23	237.5	6,2	44,5	20,4
23	214.5	5,1	11,7	7,4
24	235.9	5,9	62,6	26,3
27	224.5	4,7	10,5	15,9
27	233.2	5,0	18,9	22,1
28	221.7	4,6	3,9	5,5
28	214.8	3,9	1,5	0,0
30	228.2	4,2	51,9	16,9
23	243.8	6,4	55,9	28,3
23	237.7	6,1	40,0	19,6
26	240.7	5,5	50,0	13,9
20	236.4	6,7	53,3	25,9
20	236.6	6,7	66,7	21,5
24	232.1	5,3	27,5	35,4
24	233.5	5,4	21,3	22,4
27	238.5	4,9	62,5	42,4
22	240.4	6,9	45,3	12,4
22	236.9	6,8	32,9	9,7
24	239.5	6,3	63,5	32,8
27	235.0	5,3	83,0	42,0
27	235.7	5,4	47,0	19,1
27	222.9	4,8	46,0	27,4
27	234.1	5,3	77,0	48,2

Tab. 3 : Age, longueurs finales (μm) après tamisage, croissance journalière ($\mu\text{m. j}^{-1}$), taux de double barre (%) des larves de *P. maximus* au moment de leur transfert en micro-nurserie et taux de métamorphose à l'issue d'une semaine d'élevage post-larvaire sur 44 lots conduits selon des procédures zootechniques similaires.

Référence de l'élevage	Date de la fécondation	Durée de l'élevage larvaire (jour)	Longueur moyenne finale (μm)	Taux de croissance larvaire ($\mu\text{m. j}^{-1}$)	Taux de double barre (%)	Taux de mortalité (%)
P9401T	21/02/94	30	211,8	3,9	17	8
P9402A	23/03/94	26	241,7	5,5	40	-
P9502A	22/02/95	33	223,9	3,7	12	6,5
Gig 9401 Satmar	7/04/94	19	330,8	13,9	79 oeil 98 //	-
Gig 9402 Satmar	26/04/94	21	353,4	13,7	98 oeil 94 //	-

Tab. 4 : Caractéristiques des lots larvaires de *P. maximus* (P) et de *C. gigas* (Gig) utilisés pour la caractérisation de la composition biochimique élémentaire.

2.1.1 - Préparation des échantillons

Pour ces analyses, les larves sont prélevées régulièrement au cours de l'élevage, tous les 4 à 5 jours. A chaque échantillonnage, les larves sont comptées, récupérées sur un tamis (dont la maille est adaptée à la taille des animaux afin d'éviter les pertes), rincées avec une solution isotonique aqueuse de formiate d'ammonium (élimination des sels minéraux) et le nombre de larves (tab. 5) placées dans des tubes gradués avec un volume d'eau distillée connu. Les échantillons sont conservés au congélateur à -20°C. Après décongélation, ils sont broyés au Polytron juste avant analyse.

Date des prélèvements (jour après fécondation)	Nombre des larves prélevées	Stade larvaire correspondant
2	2 millions	Larve D
7	1 million	Jeune larve umbonée
14	300 000	Larve umbonée
21	150 000	Pédivéligère ocellée chez <i>C. gigas</i>
27	75 000	Pédivéligère double barre chez <i>P. maximus</i>

Tab. 5 : Caractéristique de l'échantillonnage pour la caractérisation de la composition biochimique élémentaire.

2.1.2 - Détermination des poids secs, des poids de cendres et de la matière organique

Pour déterminer le poids sec et la matière organique, 100 µL du broyat sont déposés dans des nacelles en aluminium préalablement tarées. Après séchage pendant 48 h à 80°C, les poids secs sont déterminés sur une microbalance (Mettler M3) à 1 µg près. Cette matière sèche est ensuite brûlée à 500°C dans un four à moufle programmable (Thermolyne 30400). La matière minérale restante est pesée sur microbalance et la matière organique (MO) calculée par différence avec le poids sec (PS). Les résultats sont exprimés en ng. ind⁻¹ ou en pourcentage relatif par rapport au poids sec pour la matière organique.

2.1.3 - Dosage des lipides

Les lipides totaux sont extraits selon la méthode de Bligh and Dyer (1959) avec le mélange dichlorométhane - éthanol. Ils sont pesés, après évaporation du dichlorométhane, sur microbalance dans des nacelles de téflon préalablement tarées. Les résultats obtenus par pesées sont exprimés en ng. ind^{-1} , en pourcentage de MO et de poids sec.

2.1.4 - Dosage des glucides

Les glucides totaux sont dosés par la méthode colorimétrique de Dubois *et al.* (1956). La gamme étalon est préparée à partir d'une solution mère à $0,4 \text{ mg. mL}^{-1}$ de glucose. La densité optique est mesurée au spectrophotomètre à 490 et 600 nm. La formule utilisée pour calculer la densité optique est la suivante : $DO = DO_{490} - 1,5 \times (DO_{600} - 0,003)$. Les résultats obtenus sont exprimés en ng. ind^{-1} , en pourcentage de MO et de poids sec.

2.1.5 - Dosage des protéines

Les protéines totales sont extraites dans la soude (NaOH, 1N) pendant 1 heure, à température ambiante, puis déterminées par la méthode décrite par Lowry *et al.* (1951) à la densité optique de 660 nm. Les dosages sont effectués sur un auto-analyseur (Alliance Instruments intégral 4*) et les résultats sont obtenus après traitement informatique. Les résultats obtenus sont exprimés en ng. ind^{-1} , en pourcentage de MO et de poids sec.

2.2 - CORRELATION ENTRE CONSTITUANTS BIOCHIMIQUES ET METAMORPHOSE

Chez *P. maximus*, au moment du transfert des animaux en micro-nurserie, un prélèvement de 150 000 individus est opéré pour le dosage de leur composition biochimique élémentaire. Maintenus en élevage post-larvaire pendant une semaine dans des conditions zootechniques similaires, le pourcentage de métamorphose est alors calculé. Sur 21 élevages, une matrice de corrélation entre ce pourcentage de métamorphose et les caractéristiques biochimiques des pédivéligères a pu être établie. Les paramètres biochimiques mesurés ou calculés sont : le poids

sec (PS), la matière organique (MO), les teneurs en protéines - lipides - glucides, l'indice de condition (IC) qui correspond à $(MO/PS) \times 100$ et l'énergie totale (Σ) qui a été appréciée en affectant à chaque composé son équivalent calorique en kcal. g⁻¹ (4,1 pour les sucres, 4,3 pour les protéines et 8,42 pour les lipides ; Whyte *et al.*, 1990).

3 - DOSAGES DES AMINES BIOGENES

Les caractéristiques des larves utilisées au cours de ces expérimentations sont reportées dans le tableau 6.

3.1 - GENERALITES SUR L'HPLC

3.1.1 - Principe de séparation des composés

La chromatographie liquide à haute performance (High Performance Liquid Chromatography) est une méthode d'analyse qui permet de séparer les constituants de mélanges complexes. Elle est basée sur les différences des propriétés physico-chimiques des composés provoquant des interactions spécifiques entre ces composés entraînés par une phase mobile et une phase stationnaire. Les interactions permettent, dans des conditions données, la séparation des composés d'un mélange. Ainsi chaque composé sera caractérisé par un temps de rétention.

Dans ce travail, on utilise une chromatographie de partage en phase inverse, où la phase stationnaire est constituée de silice dont les fonctions OH ont été remplacées par des radicaux apolaires (greffage de chaînes hydrocarbonées type C18). La phase mobile est polaire (mélange tampon/solvant).

3.1.2 - La détection des composés séparés

Les composés séparés sont alors détectés par un détecteur électrochimique ampérométrique qui va permettre de quantifier leur présence au fur et à mesure de leur passage. La détection électrochimique est basée sur les propriétés oxydo-réductrices des solutés. La cellule de détection comprend trois électrodes : une électrode de travail en carbone vitreux, une électrode de référence Ag/AgCl et une électrode auxiliaire. Le volume intérieur de la cellule est de l'ordre

Référence de l'élevage	Date de la fécondation	Durée de l'élevage larvaire (jour)	Longueur moyenne finale (μm)	Taux de croissance larvaire ($\mu\text{m. j}^{-1}$)	Taux de double barre (%)	Taux de mortalité (%)
P9701T	26/02/97	26	240,7	5,5	50	14,0
P9702A	25/03/97	27	238,5	4,9	62	6,5
P9703A	8/04/97	27	222,9	4,8	46	3,0
Gig 9702	6/05/97	24	312,5	10,1	90 oeil	9,0

Tab. 6 : Caractéristiques des lots larvaires de *P. maximus* (P) et de *C. gigas* (Gig) utilisés pour l'étude de la cinétique des amines biogènes.

de quelques microlitres. Entre électrode de travail et de référence est appliquée une différence de potentiel. Au niveau de l'électrode de travail, il se produit une oxydation (ou une réduction) partielle, selon le potentiel choisi, qui modifie le courant de base entre les électrodes. Cette modification reprise et amplifiée est proportionnelle à la concentration de chaque composé.

Le détecteur est connecté à un enregistreur potentiométrique qui permet de visualiser le chromatogramme (succession de pics correspondant aux composés séparés ; fig. 1).

3.2 - TRAITEMENT DES ECHANTILLONS AVANT ANALYSE

Les larves sont prélevées tout au long de l'élevage, tous les 2 à 4 jours, et les échantillons, contenant chacun 20 000 larves, sont placés dans des tubes Eppendorf conservés dans de l'azote liquide. Les post-larves (3 000 par cylindre tamis) sont échantillonnées toutes les semaines pendant un mois après le transfert en micro-nurserie. Au moment des analyses, les prélèvements sont broyés à l'aide d'une sonde à ultrasons (Sonicator, modèle W-10) à la température de 2 - 4°C. Avant d'adopter cette méthode des essais de broyages ont été réalisés au Dangoumeau et au Polytron mais les rendements étaient faibles. Les échantillons sont pulvérisés en milieu perchlorique (5 mL d'acide perchlorique, HClO₄ 5 %) additionné des standards internes, 50 µL du mélange :

- 50 µL de 5 HMT (NW Méthyl-5-Hydroxy-tryptamine 2,5 µg), standard interne pour la sérotonine

- 400 µL de DHBA (3,4-Dihydroxybenzylamine 200 ng), standard interne pour les catécholamines

- 550 µL de HClO₄ (5 %)

Le broyat est centrifugé (12 000 tours. min⁻¹ pendant dix minutes à la température de 4°C) et le surnageant neutralisé avec du carbonate de potassium (K₂CO₃) saturé. Le tout est centrifugé à nouveau dans les mêmes conditions que précédemment. Le surnageant est séparé en deux fractions : la fraction A (2 mL) pour le dosage des catécholamines et la fraction B (1 mL) pour celui de la sérotonine.

3.3 - ANALYSE DES AMINES BIOGENES

3.3.1 - Catécholamines

Une chromatographie d'affinité sur gel (Affigel 601, Biorad : acide boronique lié à une matrice de polyacrylamide) selon la méthode dérivée de Maruta *et al.* (1984) permet l'extraction des

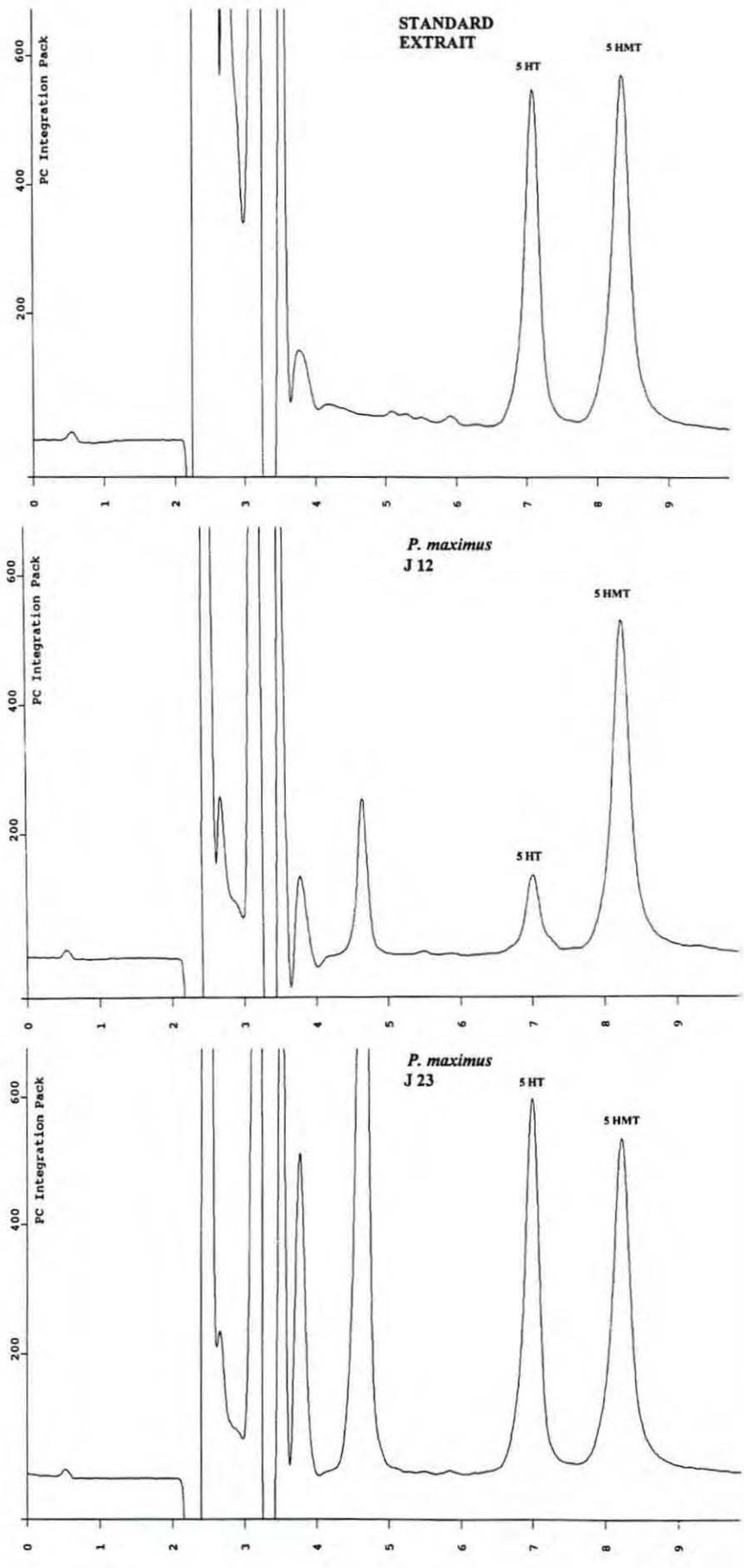


Fig. 1 : Séparation en HPLC de la sérotonine.

catécholamines avant l'analyse. On procède d'abord à une activation du gel par contacts successifs avec des bases et des acides. Le gel est mis en contact avec l'échantillon (la fraction A) pendant dix minutes sous agitation alternative (table d'agitation Eppendorf Mixer 5432). Des ponts se créent entre les groupements diols du noyau pyrocatéchol et l'acide boronique. Les catécholamines sont éluées par de l'acide acétique (CH_3COOH). Après élution des catécholamines, une centrifugation permet de séparer gel et surnageant ; l'éluat est filtré (Millipore 0,45 μm) et 50 μL sont injectés dans le système HPLC.

Le système HPLC comprend :

- une pompe haute pression qui délivre la phase mobile à un débit de 0,8 ml. min⁻¹. La phase mobile pour le dosage des catécholamines est composée de :

- 7 % d'acétonitrile
- 93 % d'un tampon :
 - acide citrique : 35 mM
 - Na_2HPO_4 (disodium hydrogénophosphate) : 12,5 mM
 - EDTA (acide éthylènediamine tétraacétique) : 50 mg. L⁻¹
 - SOS (octyl sulfate de sodium) : 110 mg. L⁻¹

Le pH de la phase mobile est ajusté à 3,35 par addition de NaOH (3M).

Avant utilisation, la phase mobile est filtrée sous vide (Millipore 0,45 μm) et dégazée aux ultrasons. Pendant toute la durée de l'analyse, un bullage continu d'hélium permet la désoxygénation de la phase mobile.

- un amortisseur de pulsations
- une vanne d'injection
- une précolonne (Brownlee RP18 Sphéri 5 μm , 3 x 4,6 cm) destinée à protéger la colonne analytique d'éventuelles impuretés
- une colonne analytique ultrasphère (15 x 0,46 cm)
- un détecteur électrochimique (Bio Analytical System LC4D) maintenu à un potentiel de 700mV et sensibilité 1 nA
- un micro-ordinateur permet l'acquisition des données et le traitement des chromatogrammes

3.3.2 - Sérotonine

Le dosage de la sérotonine (fraction B) s'effectue après une extraction liquide/liquide (butanol/heptane), la sérotonine est en final récupérée dans de l'acide chlorhydrique 0,1 N selon une méthode dérivée de celle de Fujimori *et al.* (1982). L'acide chlorhydrique est filtré sur 0,45 μm puis injecté dans la chaîne HPLC. Le système HPLC est composé des mêmes éléments que

ceux utilisés pour le dosage des catécholamines à l'exception de la colonne, Nucléosil ODS 15 cm, et de la sensibilité, 5 nA.

La phase mobile pour le dosage de la sérotonine est composée de :

- 7 % d'acétonitrile
- 93 % d'un tampon :
 - acétate de sodium : 0,1 M
 - EDTA (acide éthylènediamine tétraacétique) : 50 mg. L⁻¹
 - SOS (octyl sulfate de sodium) : 0,09 mM

Le pH de la phase mobile est ajusté à 5 par addition d'acide acétique glacial.

Avant utilisation, la phase mobile est filtrée sous vide (Millipore 0,45 µm) et dégazée aux ultrasons. Pendant toute la durée de l'analyse, un bullage continu d'hélium permet la désoxygénation de la phase mobile.

3.4 - IDENTIFICATION, QUANTIFICATION

3.4.1 - Identification

L'identification des composés est basée sur la détermination du temps de rétention, on compare ainsi temps de rétention des composés présents dans l'extrait et ceux des composés présents dans un mélange standard injecté au préalable (standard externe).

3.4.2 - Quantification

Les mélanges standards sont préparés extemporanément par dilution en milieu perchlorique (HClO₄, 0,1 M) de solutions stocks conservées à -80°C (préparées tous les mois). La quantification des composés dans les extraits se fait à partir de ces mélanges standards de concentrations connues (la surface des pics étant proportionnelle à la concentration). De plus, l'ajout d'un standard interne (5HMT ou DHBA, quantité connue) à l'extrait perchlorique de départ permet d'obtenir le rendement de l'extraction. Les rendements pour le dosage de la sérotonine sont compris entre 54,3 % et 99 % soit en moyenne 80,4 % alors que pour les catécholamines ils vont de 17,4 % à 57 % soit en moyenne 40,2 %.

Les résultats sont exprimés en pmol pour 1 000 individus (20 000 larves dans 5 mL soit 4 000 larves dans 1 mL d'extrait perchlorique, tandis que ce nombre est de 600 pour les post-larves,

d'où l'expression des résultats pour 1 000 individus. Cependant afin de se recaler sur les travaux de la bibliographie (Coon et Bonar, 1986) et de tenir compte de la croissance larvaire, ceux-ci seront également exprimés en μg protéine⁻¹. Pour ce faire nos données sont corrigées au moyen d'une régression linéaire, en utilisant les résultats biochimiques obtenus préalablement lors de l'étude de l'évolution de la composition proximale au cours du développement larvaire chez *C. gigas* et chez *P. maximus*.

Partie III - FACTEURS CHIMIQUES

1 - MATERIEL BIOLOGIQUE

Les caractéristiques des larves utilisées au cours de ces expérimentations sont reportées dans le tableau 7.

Après sélection (tamisage), homogénéisation et comptage, les pédivéligères sont réparties à raison de 3 à 5 larves. mL⁻¹ dans des petits volumes expérimentaux de 500 mL. Le système utilisé pour analyser l'action des paramètres chimiques, correspond à un système clos d'élevage, en cristallisoir.

Il faut signaler que dans cette partie, ainsi que dans la suivante, les larves seront considérées comme étant compétentes à la métamorphose selon le seul critère de taux de double barre.

Cette technique a permis d'appréhender l'effet temps et l'effet dose de différentes molécules inductrices. Afin d'éviter une photo-oxydation des composés testés, les élevages conduits en duplicata sont maintenus à l'obscurité. Deux milles pédivéligères sont placées dans des cristallisoirs en verre contenant 400 mL d'eau de mer filtrée à 1 µm en présence d'effecteur à différentes concentrations. Après une baignade inférieure ou égale à 48 heures, les larves récupérées sur un tamis de 150 µm sont abondamment rincées afin d'éliminer toutes traces de substances inductrices. Il en est de même pour les récipients qui subissent un précautionneux rinçage à l'eau de mer afin de ne pas provoquer la rupture du byssus des animaux fixés. Les pédivéligères sont à nouveau transférées en cristallisoirs ne contenant plus que de l'eau de mer filtrée à 1 µm. Comme pour les élevages larvaires, l'eau de mer est renouvelée tous les 2 jours avec adjonction d'antibiotique pour *Pecten maximus*. La salinité est celle du milieu ambiant (≈ 34 ‰) et la température de l'eau de mer est de 15°C pour *P. maximus* et de 25°C pour *Crassostrea gigas*. Dès le troisième jour, en condition standard et à chaque renouvellement d'eau, un mélange de *Pavlova lutheri* et d'*Isochrysis aff. galbana*, en proportions égales, est apporté à raison de 60 à 100 cellules. µL⁻¹ respectivement pour la coquille St Jacques et l'huître.

Au bout d'une semaine, larves et post-larves sont récupérées en séparant chacune des phases, surnageant et fixées, selon les techniques décrites (§ 5), et l'influence des inducteurs sur la métamorphose et les mortalités post-larvaires est déterminée.

Référence de l'élevage	Date de la fécondation	Age des pédivéligères (jour)	Longueur moyenne finale (μm)	Taux de croissance larvaire ($\mu\text{m. j}^{-1}$)	Taux de double barre (%)	Taux de mortalité (%)	Expérimentations réalisées
P9401T	21/02/94	28	242,0	5,4	51	-	Adrénaline temps Adrénaline concentration L Dopa temps
P9406T	26/07/94	27	230,6	4,6	56	5	Adrénaline concentration
P9503T	6/03/95	28	249,4	5,5	33	4,5	Adrénaline concentration L Dopa concentration
P9509A	4/09/95	30	252,8	5,1	37	5,5	Jacaranone concentration KCl concentration
P9510T	25/09/95	28	246,4	5,3	56	1	NH ₄ Cl concentration
P9703A	8/04/97	27	234,1	5,3	77	-	<i>Rhodymenia</i> concentration
Gig 9401 Satmar	7/04/94	19	330,8	13,9	(79) 98 //	-	Adrénaline temps Adrénaline concentration
Gig 9402 Satmar	26/04/94	21	353,4	13,7	(98) 94 //	-	L Dopa concentration
Gig 9601	8/02/96	27	329,4	11,1	(23) 10 //	-	KCl concentration NH ₄ Cl concentration
Gig 9602 Af Mf	15/04/96 16/04/96	24 20	313,8 331,1	10,6 13,5	(55) (97)	4,9 -	Jacaranone temps Jacaranone concentration

Tab. 7 : Caractéristiques des lots de *P. maximus* (P) et de *C. gigas* (Gig) utilisés pour l'induction chimique. Les valeurs entre parenthèses indiquent le pourcentage de tache oculaire.

2 - INDUCTEURS

2.1 - Réactifs

Trois types de substances sont testés : des catécholamines, des sels et des extraits d'algues. L'adrénaline, la L-Dopa, KCl et NH₄Cl proviennent de chez Sigma France tandis que la jacaranone a été synthétisée au laboratoire de Biologie marine de l'Université de Nantes. Les catécholamines étant particulièrement instables, les solutions mères des différents composés, sont préparées extemporanément dans de l'eau distillée. A partir de *Rhododymenia sp.*, algue provenant du milieu naturel (Chili), deux extraits sont obtenus. Particulièrement abondante dans les zones de recrutement du pétoncle chilien *Argopecten purpuratus* (Miguel Avendano, 1997, comm. pers.) des premiers essais avaient fait état d'un fort potentiel inducteur (Uribe *et al.*, 1994). Récoltées par plongée dans la baie de la Rinconada (Chili, V^{ème} région), les algues sont rapidement congelées (-20°C) à l'université d'Antofagasta puis transférées sous cette forme au laboratoire de Brest où deux solutions sont expérimentées : un extrait alcoolique et un extrait lyophilisé. La préparation de l'extrait alcoolique a nécessité 50 g d'algues congelées extraites trois fois avec 50 mL d'éthanol à 95 %. Les extraits sont alors mélangés puis évaporés à sec ; récupération avec de l'éthanol à 99 % et évaporation sous flux d'azote. Le tube est fermé sous azote et conservé à -20°C. Pour l'extrait lyophilisé, 50 g d'algues congelées sont utilisés. Après lyophilisation, la matière est broyée au Dangoumeau et la poudre ainsi obtenue est conservée à -20°C.

2.2 - Temps de contact

L'influence du temps de contact est recherchée sur les deux catécholamines, adrénaline et L-Dopa à la teneur de 1 mg. L⁻¹, valeur antérieurement déterminée comme étant la plus active chez *P. maximus* (Chevolot *et al.*, 1991). Les pédivéligères sont mises en contact avec ces substances pendant 2, 6, 8, 12, 24 et 48 heures et remises ultérieurement en eau de mer filtrée pendant une semaine, durée de ces expériences.

2.3 - Concentrations

Une fois l'effet du temps de contact précisé, les larves sont exposées pendant 48 heures à différentes concentrations d'inducteurs.

Pour l'adrénaline, la L-Dopa et la jacaranone les teneurs testées sont de 0,1 - 0,2 - 0,5 - 1 - 2 - 5 et 10 mg. L⁻¹. Cette échelle a été adoptée afin de se recaler avec les travaux antérieurs sur *P. maximus* (Chevolot *et al.*, 1991). Cependant la plupart des travaux cités dans la littérature exprime les données en moles, leur équivalent est donc consigné dans le tableau 8.

	Concentration (mg. L ⁻¹)						
	0,1	0,2	0,5	1	2	5	10
Adrénaline	5,5 10 ⁻⁷	1,1 10 ⁻⁶	2,7 10 ⁻⁶	5,5 10 ⁻⁶	1,1 10 ⁻⁵	2,5 10 ⁻⁵	5,5 10 ⁻⁵
Jacaranone							
L-Dopa	5 10 ⁻⁷	1 10 ⁻⁶	2,5 10 ⁻⁶	5 10 ⁻⁶	1 10 ⁻⁵	2,5 10 ⁻⁵	5 10 ⁻⁵

Tab. 8 : Equivalent en mol. L⁻¹ des teneurs testées pour chacun des composés utilisés dans le présent travail.

Pour KCL, elles sont de 4 - 8 - 12 - 16 - 20 mM.

Pour NH₄Cl, les valeurs sont respectivement de 10⁻¹ - 10⁻² - 10⁻³ - 10⁻⁴ - 10⁻⁵ et 10⁻⁶ M.

Enfin, pour *Rhodomenia sp.*, les quantités d'extrait sont de 0,1 - 1 - 10 et 20 mg. L⁻¹, échelle préalablement testée sur des expérimentations portant sur des extraits de macrophytes marins (Yvin *et al.*, 1985).

Les expériences conduites sur les inducteurs dans le présent travail sont résumées dans le tableau 9 suivant.

Identification de l'élevage	Expérimentations "effet temps de contact"	Expérimentations "effet dose"
P9401T	* adrénaline à 1 mg. L ⁻¹ durant 2 - 6 - 8 - 12 - 24 h * L-Dopa à 1 mg. L ⁻¹ durant 2 - 6 - 8 - 12 - 24 h	* adrénaline pendant 48 h à 0,1 - 0,2 - 0,5 - 1 - 2 - 5 - 10 mg. L ⁻¹ * L-Dopa pendant 48 h à 0,1 - 0,2 - 0,5 - 1 - 2 - 5 - 10 mg. L ⁻¹
P9406T	—	* adrénaline pendant 48 h à 2 et 5 mg. L ⁻¹
P9503T	—	* adrénaline pendant 24 h à 0,1 - 0,2 - 0,5 - 1 - 2 - 5 - 10 mg. L ⁻¹ * L-Dopa pendant 24 h à 0,1 - 0,2 - 0,5 - 1 - 2 - 5 - 10 mg. L ⁻¹
Gig9401	* adrénaline à 1 mg. L ⁻¹ durant 2 - 6 - 8 - 12 - 24 h	* adrénaline pendant 48 h à 0,1 - 0,2 - 0,5 - 1 - 2 - 5 - 10 mg. L ⁻¹
Gig9402	—	* L-Dopa pendant 48 h à 0,1 - 0,2 - 0,5 - 1 - 2 - 5 - 10 mg. L ⁻¹
P9509A	—	* jacaranone pendant 48 h à 0,1 - 0,2 - 0,5 - 1 - 2 - 5 - 10 mg. L ⁻¹ * KCl pendant 48 h à 4 - 8 - 12 - 16 - 20 mM
Gig9601	—	* KCl pendant 24 h à 4 - 8 - 12 - 16 - 20 mM * NH ₄ Cl pendant 24 h à 10 ⁻¹ - 10 ⁻² - 10 ⁻³ - 10 ⁻⁴ - 10 ⁻⁵ - 10 ⁻⁶ M
Gig9602	* jacaranone à 1 mg. L ⁻¹ durant 2 - 6 - 8 - 12 - 24 h	* jacaranone pendant 48 h à 0,1 - 0,2 - 0,5 - 1 - 2 - 5 - 10 mg. L ⁻¹

Tab. 9 : Tableau synthétique des expérimentations conduites avec des substances inductrices, (- pas d'expérimentation).

Partie IV - FACTEURS NUTRITIONNELS ET PHYSIQUES

1. MATERIEL BIOLOGIQUE

Les caractéristiques des larves de *Pecten maximus* utilisées au cours de ces expérimentations sont reportées dans les tableaux suivants (tab. 10 et 11).

Après sélection (tamisage), homogénéisation et comptage, les pédivéligères sont réparties à raison de 3 à 5 larves. mL⁻¹ dans des petits volumes expérimentaux de 1 L. Le système utilisé pour analyser l'action des paramètres physiques, correspond à un système ouvert, en cylindre tamis. Cette technique se rapproche davantage de celle classiquement employée en écloserie commerciale (Le Borgne, 1989 ; Muzellec *et al.*, 1994). Ces cylindres tamis sont placés dans des bacs à fond plat de 100 L de volume et reposent sur des supports en PVC pour faciliter la circulation de l'eau. Ils sont munis d'un fond de toile en polyester de 125 µm de vide de maille. Leurs dimensions sont de 12 cm de diamètre et 10 cm de hauteur (8 cm de hauteur utile), ce qui correspond à une surface de 113 cm² et un volume de 900 mL. Trois mille pédivéligères sont distribuées par cylindre tamis au début de chaque expérience. En condition standard, les valeurs des paramètres (température, salinité, filtration de l'eau de mer) sont identiques à celles appliquées en système clos. Les cylindres tamis sont alimentés en eau de mer filtrée à 1 µm, enrichie en phytoplancton, de façon continue par un système de type "down-welling". Cinq tubes en PVC raccordés perpendiculairement à un tube central assurent la distribution des fluides par le dessus. Le dispositif expérimental est calibré pour aborder l'étude avec triplica. Chaque branche alimente trois cylindres tamis et de ce fait un bac peut contenir 15 unités expérimentales (fig. 2).

2 - ALIMENTATION DES LARVES ET POST-LARVES

L'influence de ces facteurs n'a concerné que *P. maximus*, espèce cible de la présente étude.

Référence de l'élevage	Date de la fécondation	Age des pédivélégères (jour)	Longueur moyenne finale (μm)	Taux de croissance larvaire ($\mu\text{m. j}^{-1}$)	Taux de double barre (%)	Taux de mortalité (%)	Nutrition originelle	Durée des expérimentations (semaines)
P9702A	25/03/97	20	236,4	6,7	53	0	PTC	2
			236,6	6,7	67	3	TCsp	
		24	232,1	5,3	27	2	PTS (J15)	3
			233,6	5,4	21	9	PTC	
P9703A	8/04/97	22	240,4	6,9	45	2	PTC	2
			236,9	6,8	33	1	PTCsp	
			235,8	5,4	47	0	TCsp	
		24	239,5	6,3	63	0	PTCR (J13)	2
			235,0	5,3	83	0	PTC (J13)	
		27	222,9	4,9	46	3	PTC	2
234,1	5,3		77	0	PTCsp			

Tab. 10 : Caractéristiques des lots larvaires utilisés pour la recherche du rôle de l'alimentation (aspect qualitatif) sur la métamorphose et le développement post-larvaire de *P. maximus* (P).

Référence de l'élevage	Date de la fécondation	Age des pédivéligères (jour)	Longueur moyenne finale (μm)	Taux de croissance larvaire ($\mu\text{m. j}^{-1}$)	Taux de double barre (%)	Taux de mortalité (%)	Type d'expérimentation	Durée des expérimentations (semaines)
P9402A	23/03/94	26	241,7	5,6	40	0	Incidence de la turbulence (effet tout ou rien)	1
P9503T	6/03/95	28	249,4	5,5	33	5	Incidence du débit d'eau de mer	5
P9508A	19/07/95	23	237,3	5,9	29	9	Incidence de la nutrition	4
P9509A	4/09/95	30	252,8	5,1	37	6	Effet combiné de la température, 15 et 18°C, et de la nutrition	5
P9603T (*)	13/05/96	32	237,4	4,3	96	4	Incidence de la nutrition	8
P9701T	26/02/97	23	237,7	6,1	40	0	Incidence du jeûn	8
P9702A	25/03/97	27	238,5	4,9	62	7	Effet de la températures, 15 et 20°C	4

Tab. 11 : Caractéristiques des lots larvaires utilisés pour la recherche du rôle des paramètres physiques (turbulence de l'eau de mer, température) et du facteur nutritionnel (aspect quantitatif) sur la métamorphose et le développement post-larvaire de *P. maximus* (P).

* Les pédivéligères ont été mises en micro-nurserie après une semaine d'élevage passée en circuit ouvert en éclosérie commerciale.

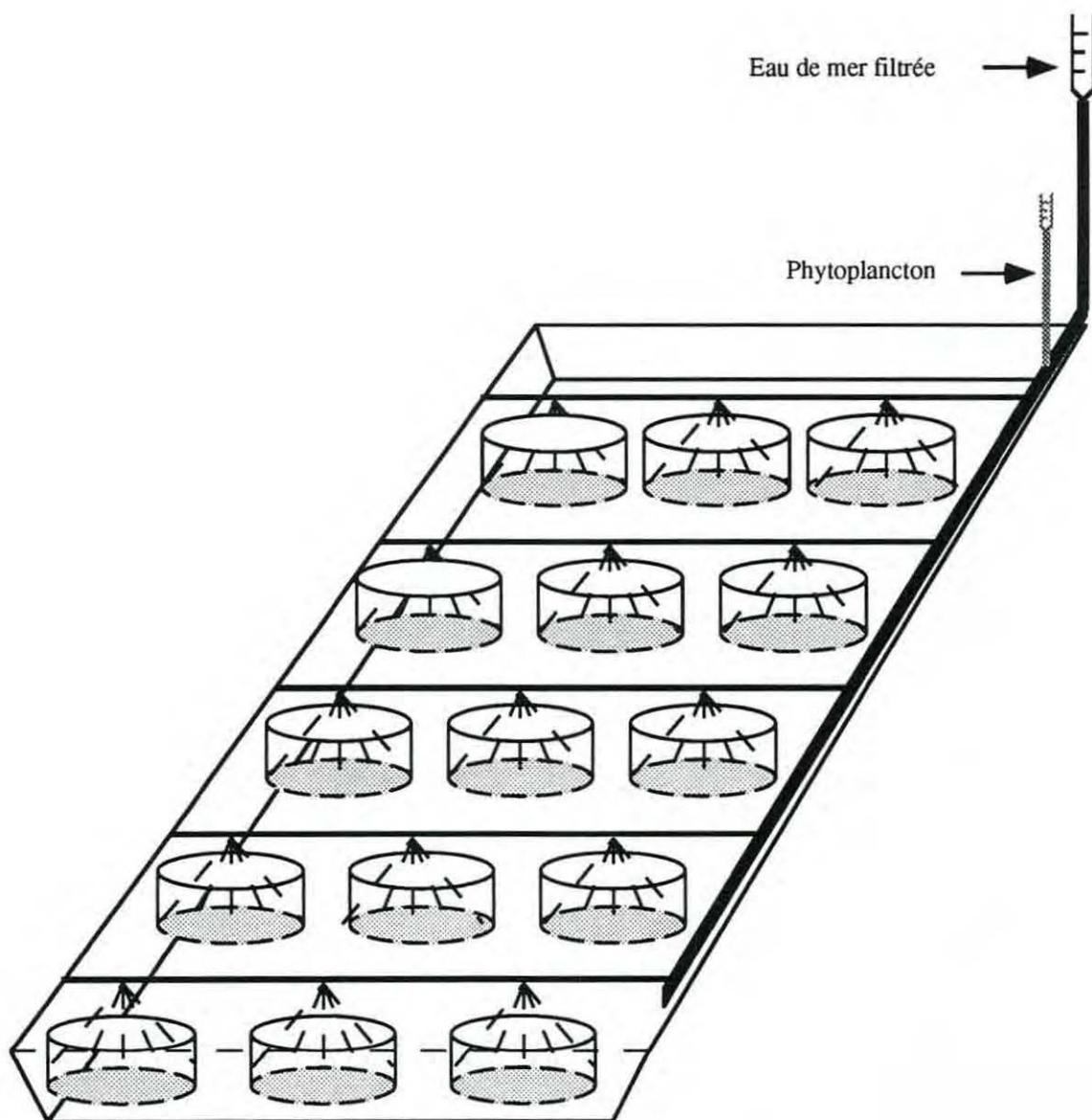


Fig. 2 : Schéma descriptif des structures expérimentales.

La plupart des plans expérimentaux développés dans ce travail sont de type mono factoriel, c'est à dire qu'un seul facteur est variable, les autres fixes. Toutes les expériences ont été réalisées au printemps, sauf une d'entre elles, en été.

2.1 - COMPOSITION DE LA RATION EN MICROALGUES EN PHASE LARVAIRE

Le bon déroulement de la métamorphose est souvent associé à la qualité des réserves larvaires (Whyte, 1990). Décrit essentiellement sous l'angle biochimique, peu d'expérimentations sur l'incidence du régime nutritionnel en phase larvaire sur la métamorphose ont été rapportées. Le présent chapitre aborde cet aspect. De nombreux auteurs ont démontré que les développements larvaires sont fortement corrélés à l'utilisation de régimes plurispécifiques, conduisant à un bon équilibre nutritionnel (Robert et Trintignac, 1997a). Aussi, au cours de ce travail l'impact de la nutrition a été étudié en comparant l'action de différentes espèces en mélange plurispécifique. Les modifications des régimes alimentaires sont apportées soit précocement (en début de vie larvaire, dès le stade D) soit tardivement (au stade umboné, au cours de la deuxième semaine), soit ultérieurement en fin de vie larvaire (au stade pédivéligère, au cours de la troisième semaine). Quel que soit le régime alimentaire testé, le critère d'interruption de l'élevage larvaire et le transfert des pédivéligères en cylindre tamis est le taux moyen de double barre fixé arbitrairement entre 30 et 50 % avant tamisage des populations. De ce fait, certains lots sont transférés plus tardivement que d'autres en cylindre tamis. Cependant, afin de ne pas biaiser les résultats de rendements d'élevage post-larvaire qui augmente avec le temps (Tritar et Lucas, 1989), la durée de l'élevage post-larvaire est identique (2 ou 3 semaines).

2.1.1 - Incidence de la composition de la ration en microalgues des larves

2.1.1.1 - Influence comparée de *Chaetoceros sp* et *Chaetoceros calcitrans* en régime plurispécifique

Chaetoceros sp est une petite diatomée isolée en 1994 dans le bassin ostréicole de Marennes-Oléron. De taille similaire à *Chaetoceros calcitrans* forma *pumilum* (volume cellulaire moyen de 30 μm^3) elle se cultive plus facilement en grand volume (Gérard, Ifremer, comm. pers., 1997). Or on sait que comparativement à *C. calcitrans* plus volumineuse (volume cellulaire moyen de

90 μm^3), *C. forma pumilum* est plus facilement ingérée et digérée par les jeunes larves d'huîtres (Robert *et al.*, 1989).

De plus, l'association de cette petite diatomée avec un ou deux flagellés conduit généralement à de bonnes performances larvaires chez l'huître (Gérard, comm. pers., 1997) et chez la coquille St Jacques (Robert, Ifremer, comm. pers., 1997). Néanmoins, son impact sur la métamorphose de *P. maximus* n'est pas connu à ce jour.

Des larves de *P. maximus* sont élevées en bacs cylindro-coniques de 450 L jusqu'au 27^{ème} jour dans les conditions habituelles d'élevage ; l'un des lots est alimenté avec le régime PTC (20 cellules de *Pavlova lutheri*, 20 cellules d'*Isochrysis aff. galbana* et 20 cellules de *C. calcitrans*), l'autre avec le régime PTCsp (20 cellules de *P. lutheri*, 20 cellules d'*I. aff. galbana* et 60 cellules de *C. sp.*). La différence en nombre de cellules ajoutées s'explique par la différence de volume cellulaire entre les deux diatomées, *C. sp.* étant environ 3 fois plus petite que *C. calcitrans*. Après tri, les pédivéligères sont réparties en cylindre tamis et soumises aux mêmes conditions d'élevage post-larvaire : débit d'eau de mer 5,7 L. h⁻¹, température moyenne 15,5°C, apport de 17 cellules. μL^{-1} par tamis du régime plurispécifique PTCS (*P. lutheri* + *I. affinis galbana* + *C. calcitrans* + *Skeletonema costatum*). Métamorphose et élevage post-larvaire sont conduits pendant deux semaines avec échantillonnage de deux cylindres tamis par condition à la fin de chaque semaine.

2.1.1.2 - Influence comparée des mélanges PTC et TCsp

Chez les Ostréidés et Pectinidés, une bonne croissance larvaire associée à des rendements de métamorphose satisfaisants est également obtenue en nourrissant les jeunes véligères avec un mélange uniquement composé de deux espèces, *I. aff. galbana* et *C. forma pumilum* (Bourne *et al.*, 1989 ; Utting et Spencer, 1991). L'incidence d'un tel régime est recherchée au cours de cette seconde expérience.

Des larves de *P. maximus* sont élevées en béciers de 2 L jusqu'au 20^{ème} jour sous des conditions habituelles d'élevage ; l'un des lots est alimenté avec le régime PTC (20 cellules de *P. lutheri*, 20 cellules d'*I. aff. galbana* et 20 cellules de *C. calcitrans*), l'autre avec le régime TCsp (30 cellules d'*I. aff. galbana* et 90 cellules de *C. sp.*). Après tri, les pédivéligères sont réparties en cylindre tamis et soumises aux mêmes conditions d'élevage post-larvaire (similaires à celle de l'expérience précédente), pendant deux semaines avec échantillonnage hebdomadaire de deux cylindres tamis par condition.

2.1.1.3 - Influence comparée des mélanges PTC, PCsp et TCsp

Des résultats non reproductibles en terme de taux de métamorphose ont été obtenus au cours des deux précédentes expérimentations. Il nous est alors apparu nécessaire de réitérer l'expérience en analysant l'influence de ces trois régimes alimentaires sur un même lot de véligères.

Les élevages larvaires sont réalisés en petits volumes expérimentaux de 2 L. Les trois régimes nutritionnels précédents sont testés en parallèle : PTC (20 cellules de *P. lutheri*, 20 cellules d'*I. aff. galbana* et 20 cellules de *C. calcitrans*), PTCsp (20 cellules de *P. lutheri*, 20 cellules d'*I. aff. galbana* et 60 cellules de *C. sp*) et TCsp (30 cellules d'*I. aff. galbana* et 90 cellules de *C. sp*). L'élevage post-larvaire est conduit pendant deux semaines dans des conditions identiques à celles des précédentes expériences. L'échantillonnage des animaux est également opéré sur un pas hebdomadaire.

2.1.2 - Incidence d'une modification tardive du régime alimentaire des larves

2.1.2.1 - Influence comparée de *Chaetoceros calcitrans* et de *Skeletonema costatum*

Jusqu'en 1988, à l'écloserie d'Argenton, le mélange PTC pour *P. lutheri*, *I. aff. galbana* et *C. calcitrans*, en proportion équivalente, constituait le régime larvaire de *P. maximus*. Des irrégularités de production de *C. calcitrans* en grand volume ont conduit à son remplacement dans le régime larvaire par une autre diatomée *S. costatum*, plus stable en culture. Or, l'ingestion de cette Bacillariophycée coloniale par des véligères de *P. maximus* ne s'effectue qu'à partir du 15^{ème} jour d'élevage (Séguineau *et al.*, 1993). De plus, un apport exclusif de *S. costatum* conduit à un faible développement larvaire (Robert et Trintignac, 1997a). Cependant, des taux de métamorphose satisfaisants sont rapportés lorsque cette algue est combinée avec deux flagellés pour former le régime larvaire PTS (Muzellec *et al.*, 1994 ; Robert *et al.*, 1994b). Par ailleurs, Delaunay *et al.* (1993) montrent que le seul apport de *C. calcitrans* permet une excellente croissance larvaire mais pas la métamorphose. L'impact de *C. calcitrans* et/ou de *S. costatum* dans l'activation de la métamorphose reste donc à préciser. Pour ce faire, une expérience comparative est menée.

Des véligères placées en bacs cylindro-coniques de 450 L sont alimentées jusqu'au 14^{ème} jour avec le régime plurispécifique PTC. A partir du quinzième jour, les larves issues de deux élevages sont regroupées, homogénéisées et redistribuées en bacs de 450 L. Ce même régime alimentaire (PTC) est maintenu pour l'un des élevages, tandis que dans le second *S. costatum*

remplace *C. calcitrans* dans les mêmes proportions (20 cellules. μL^{-1}) pendant 9 jours. En fin d'élevage larvaire (24^{ème} jour), les pédivéligères alimentées différemment sont placées en tube tamis. Des conditions d'élevage post-larvaire similaires sont appliquées : débit d'eau de mer de 5,7 L. h⁻¹, température de 16°C, apport de 17 cellules. μL^{-1} du régime plurispécifique PTCS.

Métamorphose et élevage post-larvaire sont poursuivis pendant trois semaines. Un échantillonnage de deux cylindres tamis par condition est opéré à la fin de chaque semaine.

2.1.2.2 - Incidence d'un apport complémentaire de *Rhodomonas salina*

L'apport complémentaire de *Rhodomonas salina*, Cryptophycée d'environ 250 μm^3 de volume moyen est testé. Cette algue est sélectionnée au vu des résultats antérieurs qui tendaient à montrer une plus grande aptitude des véligères de *P. maximus* à la métamorphose lorsqu'elles étaient alimentées uniquement avec cette espèce (Robert *et al.*, 1994b).

Un même lot de véligères est élevé pendant 12 jours en bac cylindro-coniques de 450 L. Elles sont alimentées avec le régime plurispécifique PTC. Réparties le lendemain, à même densité, en béciers expérimentaux de 2 L, les deux régimes nutritionnels suivants sont testés à quantité équivalente (*R. salina* équivalent à 6 T. Iso) : PTC (30 cellules de *P. lutheri*, 30 cellules d'*I. aff. galbana* et 30 cellules de *C. calcitrans*) et PTCR (20 cellules de *P. lutheri*, 20 cellules d'*I. aff. galbana* et 20 cellules de *C. calcitrans* et 5 cellules de *R. salina*). Le régime PTCR est suivi pendant 11 jours et PTC pendant 14 jours. L'élevage post-larvaire qui s'en suit se déroule pendant deux semaines, dans des conditions identiques à celles des précédentes expériences, avec échantillonnage hebdomadaire des animaux.

2.2 - INCIDENCE DE LA QUANTITE DE MICROALGUES DISTRIBUEES AUX POST-LARVES

Trois expériences sont conduites pour préciser l'importance de ce paramètre.

2.2.1 - Incidence de la quantité de microalgues au cours du premier mois de vie post-larvaire

Au cours de cette expérience, se déroulant pendant quatre semaines, quatre niveaux d'un même mélange nutritionnel (PTCS) sont testés : 1,7 - 4,5 - 9 et 17 L. j⁻¹ par raceway, soit 5 - 12 - 25 et 47 mL. h⁻¹ par cylindre tamis. Chaque bac est contrôlé à l'aide d'un débitmètre à niveau (Bioblock Scientific, Réf M73176, tubes débitométriques de 65 mm équipés d'une bille en verre).

La concentration moyenne des cultures d'algues rapportée en équivalent *T. Iso* est estimée à 8×10^6 cellules. mL^{-1} . Par ailleurs, le débit d'eau de mer est fixé pour les quatre bacs à $5,7 \text{ L. h}^{-1}$ par barquette. Ces deux variables déterminées, il est possible d'exprimer l'apport phytoplanctonique en nombre de cellules par microlitre (tab. 12). Dans cette expérience, l'influence du facteur nutritionnel est donc appréciée en apportant des rations alimentaires différentes dans un rapport des extrêmes d'environ 1 à 10 (7 à $66 \text{ cellules. } \mu\text{L}^{-1}$). La température moyenne est $19,5^\circ\text{C}$.

Débit d'algues par raceway (L. j^{-1})	Débit d'algues par cylindre tamis (mL. h^{-1})	Concentration phytoplanctonique par cylindre tamis (cellules. μL^{-1})
1,7	5	7
4,5	12	17
9,1	25	35
16,9	47	66

Tab. 12 : Equivalents des apports phytoplanctoniques, par raceway et par cylindre tamis, au cours des expérimentations sur la nutrition post-larvaire de *P. maximus*.

2.2.2 - Incidence de la quantité de microalgues au cours des deux premiers mois de vie post-larvaire

Les résultats de la première expérience ne montrent pas d'effet du facteur nutritionnel au cours des quatre premières semaines d'élevage. Cela nous a conduit à rechercher si ce facteur avait un effet sur la croissance post-larvaire au cours du second mois, une deuxième expérience est donc réalisée sur huit semaines, en été. Deux concentrations phytoplanctoniques sont testées, 7 et 66 cellules. μL^{-1} par cylindre tamis, les autres paramètres d'élevage étant identiques : débit d'eau de mer de $5,7 \text{ L. h}^{-1}$ et température ambiante de $19,5^\circ\text{C}$.

2.2.3 - Incidence du jeûne au cours des deux premiers mois de vie post-larvaire

Le faible rôle d'un apport phytoplanctonique sur la croissance post-larvaire de *P. maximus*, au cours du premier mois, nous a conduit à rechercher l'incidence du jeûne sur la métamorphose et le développement post-larvaire. Dans cette expérience, le facteur nutritionnel a été testé à deux niveaux, 0 et 17 cellules. μL^{-1} . La valeur 0 correspond à une eau de mer filtrée en continu à $1 \mu\text{m}$ sur cartouche (Schumacher, type Schumatex, Réf PP 251 mm). Ce seuil de $1 \mu\text{m}$ n'est pas absolu car seulement 70 % des particules $\geq 1 \mu\text{m}$ sont éliminées. Néanmoins, ce même type de

filtration est appliqué pour les expérimentations de jeune larvaire conduisant généralement à une absence de développement des véligères (Robert et Trintignac, 1997a). Les autres paramètres sont fixes (débit d'eau de mer de 5,7 L. h⁻¹ et température de 15,5°C). L'investigation a été conduite pendant huit semaines.

Pour chaque niveau de nourriture, deux cylindres tamis sont échantillonnés toutes les semaines pour détermination du nombre et de la taille des post-larves. L'estimation du poids sec est réalisée par prélèvement du contenu d'un troisième tamis.

3 - DEBIT D'EAU DE MER

3.1 - INCIDENCE DE LA TURBULENCE SUR LA METAMORPHOSE : EFFET TOUT OU RIEN

Au cours de nos premières observations en système stagnant (cristallisoirs), un faible taux de métamorphose était généralement noté. L'importance de la turbulence de l'eau avait déjà été suspectée et avait conduit au développement de la technique en circuit ouvert sans qu'aucune étude comparative n'ait été réalisée (Buestel *et al.*, 1982). Afin de quantifier ce phénomène, des pédivéligères aptes à la métamorphose ont été placées en cylindre tamis maintenus en circuit clos ou en circuit ouvert. Les expérimentations ont été réalisées chez *P. maximus* mais également chez l'huître *C. gigas* au printemps.

Dans le premier système, l'eau de mer n'est renouvelée que tous les deux jours avec enrichissement en phytoplancton du volume d'élevage. Pour le système ouvert, les apports en eau et en algues se font de façon continue. Dans ce cas, le débit d'eau de mer est maintenu à 5,7 L. h⁻¹ par barquette et celui des algues à 17 cellules. μL^{-1} par barquette.

Pour chaque condition, trois cylindres sont échantillonnés à l'issue de la première semaine sur lesquels sont réalisés comptage et biométrie post-larvaire.

3.2 - INCIDENCE DU DEBIT D'EAU DE MER SUR LA METAMORPHOSE ET AU COURS DES PREMIERES SEMAINES DE VIE POST-LARVAIRE

Une seule expérience a été conduite sur *P. maximus* pour préciser l'influence de ce facteur. Elle s'est déroulée pendant cinq semaines au printemps. Cent quatre vingt mille pédivéligères sont réparties dans soixante cylindres tamis disposés dans quatre bacs. L'alimentation en eau de mer

s'effectue dans tous les cas de façon continue mais à différents débits : 40, 65, 85 et 125 L. h⁻¹. Chaque niveau est contrôlé individuellement à l'aide d'un débitmètre à flotteur (Georges Fischer, Réf SK 70, plage de mesures 15 - 150 L. h⁻¹). Le débit utilisé en routine à l'écloserie d'Argenton est 85 L. h⁻¹ par bac, cette valeur ayant été déterminée de façon empirique. Ces quatre niveaux correspondent à un débit de 2,7 - 4,3 - 5,7 et 8,3 L. h⁻¹ par cylindre tamis (tab. 13).

Débit eau de mer par bac (L. h ⁻¹)	Débit eau de mer par branche (L. h ⁻¹)	Débit eau de mer par tamis (L. h ⁻¹)
40	8	2,7
65	13	4,3
85	17	5,7
125	25	8,3

Tab. 13 : Equivalents des débits en eau de mer, par raceway et par cylindre tamis, au cours des expérimentations sur l'importance du flux sur les post-larves de *P. maximus*.

L'apport phytoplanctonique est identique pour les quatre conditions : 4,8 mL. h⁻¹ par cylindre (correspondant à 7 cellules. µL⁻¹ pour le débit 85 L. h⁻¹). Il consiste en un mélange plurispécifique de composition identique à celui utilisé pour la maturation des géniteurs, le régime PTCS. Par ailleurs, la température de l'eau de mer est maintenue à 15°C selon le même procédé que pour le conditionnement des coquilles (thermorégulation).

Pour chaque débit, trois cylindres tamis sont échantillonnés par semaine et les prélèvements analysés pour comptage et biométrie post-larvaire.

4 - TEMPERATURE

Pour des raisons techniques, seulement deux températures ont été étudiées, en circuit ouvert. En effet, l'écloserie ne dispose que de deux lignes indépendantes d'eau de mer régulée. Deux tests sont conduits pour préciser l'influence de ce facteur. Une expérience sur le seul facteur température est menée dans un premier temps. Une élévation de la température entraînant souvent une augmentation des besoins nutritionnels (Walne, 1972 ; Abdel-Hamid *et al.*, 1992 ; Bougrier *et al.*, 1995), l'effet combiné de la température et de la nourriture est recherché dans un second temps.

L'effet de la température sur la métamorphose et le développement post-larvaire de *P. maximus* a été recherché au cours de cette expérience. Dans celle-ci, se déroulant pendant 4 semaines au printemps, deux niveaux de températures sont testés : 15°C et 20°C. Dans les deux conditions, les débits d'eau de mer et de phytoplancton (mélange PTCS) sont fixes. Le premier est maintenu à 5,7 L. h⁻¹ par cylindre et le second à 12,4 mL. h⁻¹ par barquette soit 17 cellules. µL⁻¹ par cylindre tamis. La température utilisée en routine à l'écloserie d'Argenton pour l'élevage post-larvaire est de 15° ± 1°C, cette valeur ayant été déterminée de façon empirique. Celle de 20°C a été choisie car cette valeur est souvent atteinte en été dans le vivier d'Argenton. Or, de bons développements post-larvaires sont fréquemment observés à ces mêmes périodes.

5 - EFFET COMBINE DE LA TEMPERATURE ET DE LA NUTRITION SUR LA METAMORPHOSE ET AU COURS DES PREMIERES SEMAINES DE VIE POST-LARVAIRE

Dans cette expérimentation, se déroulant pendant 5 semaines en automne, deux niveaux de nourriture (mélange PTCS) sont testés sur *P. maximus* : 4,8 et 12,4 mL. h⁻¹ par barquette soit 7 et 17 cellules. µL⁻¹ par cylindre. L'incidence de la quantité de microalgues est appréciée à deux températures, 15°C et 18°C, cette dernière étant celle appliquée en routine pour les élevages larvaires. Dans toutes les conditions, le débit d'eau de mer est maintenu à 5,7 L. h⁻¹ par cylindre. Pour chaque température ou couple température - ration, deux cylindres tamis sont échantillonnés par semaine et les prélèvements analysés pour comptage et biométrie post-larvaire.

Partie V - TRAITEMENT DES ECHANTILLONS

A intervalles réguliers, la totalité des larves et post-larves des cristallisoirs ou cylindres tamis est récupérée et conservée dans une solution d'eau de mer formolée (5 %). Chez *P. maximus* la rupture du byssus est facile à provoquer. Ainsi les post-larves peuvent être délicatement détachées de leur support à l'aide d'un pinceau. A l'inverse, chez *C. gigas* cette fixation est particulièrement robuste et la séparation des jeunes post-larves de leur support est plus délicate. Elle se fait à l'aide d'un cutter.

Dans les expériences sur les facteurs chimiques, les animaux fixés et non fixés sont récupérés séparément. La fraction surnageante est récoltée dans un premier temps, puis après rinçage, la fraction fixée est recueillie.

L'action des différents traitements sur la métamorphose est appréciée par détermination du nombre de larves et post-larves, mortes et vivantes. Chez les deux espèces, la présence de la dissoconque (reprise de croissance coquillière) constitue le critère d'identification du stade post-larvaire. Les observations sont réalisées au projecteur de profil et les comptages se font sur l'ensemble de la population. Comme pour les larves, les post-larves mortes sont translucides chez les jeunes individus (jusqu'à la troisième semaine). Chez les animaux plus âgés, les ornements de la coquille rendent plus difficile l'évaluation des mortalités par ce critère.

La longueur moyenne est déterminée, sur un échantillon de 50 individus sélectionnés au hasard, au projecteur de profil équipé d'un micromètre électronique. Ce paramètre biométrique correspond à la plus grande dimension selon l'axe antero-postérieur (parallèle à la charnière). Elle permet d'apprécier l'incidence du facteur étudié sur la croissance post-larvaire.

Les pourcentages de larves et de post-larves sont déterminés par rapport au nombre total d'individus, tandis que les taux de mortalités larvaire et post-larvaire sont ramenés à la seule population larvaire ou post-larvaire. Les taux de fixation et de métamorphose sont également employés. Le premier, uniquement utilisé au cours des expérimentations sur les inducteurs (séparation des phases), correspond au nombre de post-larves fixées par rapport au nombre total d'individus tandis que le second prend en compte l'ensemble de la population post-larvaire par rapport à la population totale (Annexes).

Les différents traitements statistiques sont opérés sous les logiciels Excel et Statview.

CHAPITRE 2

COMPETENCE

COMPETENCE

INTRODUCTION	50
RESULTATS	53
1 - CRITERE DE COMPETENCE MORPHOLOGIQUE	53
2 - CRITERE DE COMPETENCE BIOCHIMIQUE	55
2.1 - CINETIQUE DES COMPOSES BIOCHIMIQUES ELEMENTAIRES EN COURS DE VIE LARVAIRE	55
2.1.1 - <i>Pecten maximus</i>	55
2.1.2 - <i>Crassostrea gigas</i>	65
2.2 - CORRELATION ENTRE CONSTITUANTS BIOCHIMIQUES ET METAMORPHOSE	75
3 - CINETIQUE DES AMINES BIOGENES AU COURS DU DEVELOPPEMENT LARVAIRE ET POST-LARVAIRE	78
3.1 - CRASSOSTREA GIGAS	78
3.1.1 - Evolution au cours de la phase larvaire	78
Sérotonine	79
Catécholamines	79

Accumulation journalière	80
3.2 - <i>PECTEN MAXIMUS</i>	81
3.2.1 - Evolution au cours de la phase larvaire	82
Sérotonine	82-86
Dopamine	82-89
Noradrénaline	85-89
Accumulation journalière	89
3.2.2 - Evolution au cours de la phase post-larvaire	90
3.2.3 - Evolution globale des amines biogènes de la larve D au stade post-larvaire	93
DISCUSSION	96

INTRODUCTION

En éclosion, la durée des élevages larvaires de *Pecten maximus* et de *Crassostrea gigas* n'est jamais constante. Ainsi, pour ces deux espèces, cette phase planctonique dure trois à cinq semaines pour des mêmes conditions d'élevage. Pour la coquille St Jacques, cette durée moyenne est de 25 jours (extrêmes 18 et 32 jours) à la température d'élevage de 18°C, salinité 34 ‰, apport alimentaire de 60 000 cellules de phytoplancton. mL⁻¹, densité initiale de 7,5 larves. mL⁻¹. Pour l'huître, cette durée moyenne est de 20,5 jours (extrêmes 17 et 29 jours) à la température d'élevage de 22°C, salinité ambiante (26 ‰ à 35 ‰), apport alimentaire de 50 000 à 100 000 cellules de phytoplancton. mL⁻¹, densité initiale de 10 larves. mL⁻¹ (Robert et Gérard, 1999). De nombreux facteurs intervenant sur la durée de l'élevage peuvent être avancés comme l'origine des géniteurs, la qualité initiale des larves, la qualité biologique de l'eau, la qualité des microalgues fourrages... De ce fait il n'est pas possible de se baser sur la durée de l'élevage larvaire pour déterminer l'aptitude des larves à la métamorphose. Le terme de compétence à la métamorphose pour les bivalves d'invertébrés marins, a été utilisé pour la première fois par Chia et Rice (1978). Une larve est dite compétente lorsqu'elle acquiert la capacité de répondre à des signaux du biotope qui vont stimuler la fixation et la métamorphose. Cette notion reste toutefois imprécise. Pourtant outre son intérêt scientifique, elle présente un caractère pratique indéniable pour les espèces élevées en éclosion.

Nous nous attacherons dans ce présent chapitre à déterminer des critères de compétences à la métamorphose pour la coquille St Jacques, *P. maximus*. Le comportement à l'approche de la métamorphose est modifié et, en eau stagnante, un regroupement des larves nageuses est visible en formations structurées qui rappellent des "stalactites" (Gérard *et al.*, 1989 ; Salaün, 1994). Par ailleurs, un caractère anatomique distinct apparaît : la présence sur le bord de la prodissoconque d'une gouttière périphérique, où prendra naissance la dissoconque, est notée chez les pédivéligères (Gérard *et al.*, 1989). Sa caractérisation morphologique a été étudiée en détail en microscopie optique et électronique (Salaün, 1994). Jusqu'à présent, seul ce critère dit de double barre est utilisé pour caractériser la qualité des lots larvaires en fin d'élevage. Ainsi, lorsque le taux moyen de double barre est compris entre 30 et 50 %, le transfert des larves en micro-nurserie est opéré et la métamorphose initiée. Si ce critère s'avère utile son utilisation pratique reste empirique. Il nous semblait donc nécessaire de déterminer la puissance des corrélations reliant taux de double barre et taux de métamorphose. Les questions posées sont les suivantes :

un fort taux de double barre entraîne-t-il systématiquement un fort taux de métamorphose? D'autre part, quelle est la nature et la puissance de la relation liant la variable explicative (taux de double barre) et expliquée (taux de métamorphose)?

Une démarche similaire a été opérée avec d'autres paramètres d'élevage, telle que la taille finale des larves et le taux de croissance larvaire. Il a été montré sur plusieurs espèces d'invertébrés marins que la métamorphose est généralement concentrée sur une courte période (une à deux semaines) et nécessite un apport énergétique élevé. Ce dernier vient essentiellement des réserves accumulées durant la vie larvaire. De nombreux auteurs ont ainsi montré des accumulations préférentielles de certains composés biochimiques élémentaires. Chez *Ostrea edulis*, les lipides, essentiellement lipides neutres, constituent la source énergétique majeure pour la métamorphose (Holland et Spencer, 1973). A notre connaissance c'est le seul travail qui démontre clairement le rôle des lipides pour la métamorphose, les analyses ayant été effectuées du stade larvaire jusqu'au stade post-larvaire. Les autres travaux se basant sur des accumulations préférentielles en fin de phase larvaire sans analyse du devenir de ces composés au cours du développement post-larvaire. Les lipides constitueraient dans ce cas pour *Mytilus edulis* (Chebab-Chalabi, 1984) et *Mizuhopecten yessoensis* (Whyte *et al.*, 1987) la source énergétique essentielle pour la métamorphose. Chez *Crassodoma gigantea* ce rôle serait assuré par les sucres (Whyte *et al.*, 1990) et par les protéines chez *C. gigas* (His et Maurer, 1988 ; Utting, 1986). Ce type d'analyses n'a pas été effectué de façon sérieuse chez *P. maximus*. On sait cependant qu'il n'y a pas d'accumulation préférentielle des lipides chez cette espèce avant la métamorphose (Delaunay *et al.*, 1992) et que les protéines sont le principal composant de la matière organique au cours du développement larvaire (Dwiono *et al.*, 1995). Afin de déterminer la source énergétique de la métamorphose chez *P. maximus*, l'évolution de la composition biochimique proximale a été étudiée dans ce travail au cours de la vie larvaire, de la larve D à la pédivéligère. Une étude similaire a été réalisée chez *C. gigas* afin de détecter d'éventuelles différences entre les deux espèces en faisant abstraction des méthodes d'élevage (même site, mêmes techniques) et d'analyses. Dans un second temps, la composition biochimique élémentaire a été établie sur différents lots de pédivéligères le jour précédent le transfert des larves en micro-nurserie. Chez *P. maximus* un certain nombre de lots larvaires ont ainsi été analysés, sur lesquels les taux de métamorphose ont été calculés et des corrélations avec les teneurs en constituants biochimiques établies.

Enfin, il a été démontré que la métamorphose de *C. gigas* pouvait être induite par l'adrénaline et la noradrénaline suggérant que les catécholamines pouvaient exercer un rôle important dans le processus de métamorphose (Coon *et al.*, 1986). Cette approche expérimentale a été complétée par des travaux analytiques visant à identifier amines biogènes dans les larves et post-larves de *C. gigas* (Coon et Bonar, 1986). A notre connaissance cette approche analytique n'a pas été validée chez d'autres bivalves. La cinétique des amines biogènes a donc été étudiée au cours du

développement larvaire et post-larvaire de la coquille St Jacques afin de définir d'éventuels marqueurs endogènes.

RESULTATS

1 - CRITERE DE COMPETENCE MORPHOLOGIQUE

Les relations entre les paramètres d'élevage larvaire et le taux de métamorphose chez *Pecten maximus* sont rapportées dans le tableau 14.

	Longueur	Taux de croissance	Taux de double barre	Taux de métamorphose
Longueur	1,0	0,5 (***)	0,5 (***)	0,4 (*)
Taux de croissance	•	1,0	0,5 (***)	0,4 (*)
Taux de double barre	•	•	1,0	0,7 (***)
Taux de métamorphose	•	•	•	1,0

*** Significatif à $P \leq 0,001$; * Significatif à $P \leq 0,05$.

Tab. 14 : Matrice de corrélation entre certains descripteurs d'élevage larvaire et les taux de métamorphose chez *P. maximus* (n = 44). La probabilité est indiquée entre parenthèse.

Pour ces 44 observations la matrice de corrélation montre que les taux de métamorphose sont faiblement corrélés aux longueurs larvaires ou aux taux de croissance ($r = 0,37$ et $0,36$ respectivement et $p \leq 0,05$). Par contre ces descripteurs sont bien corrélés aux taux de double barre ($r = 0,52$ pour la longueur larvaire et $0,54$ pour le taux de croissance). Les taux de double barre et de métamorphose sont les plus corrélés (67 %) et de façon très significative ($p < 0,0001$). Une régression linéaire montre que cet ajustement n'explique que 45 % de la variance du taux de métamorphose (fig. 3).

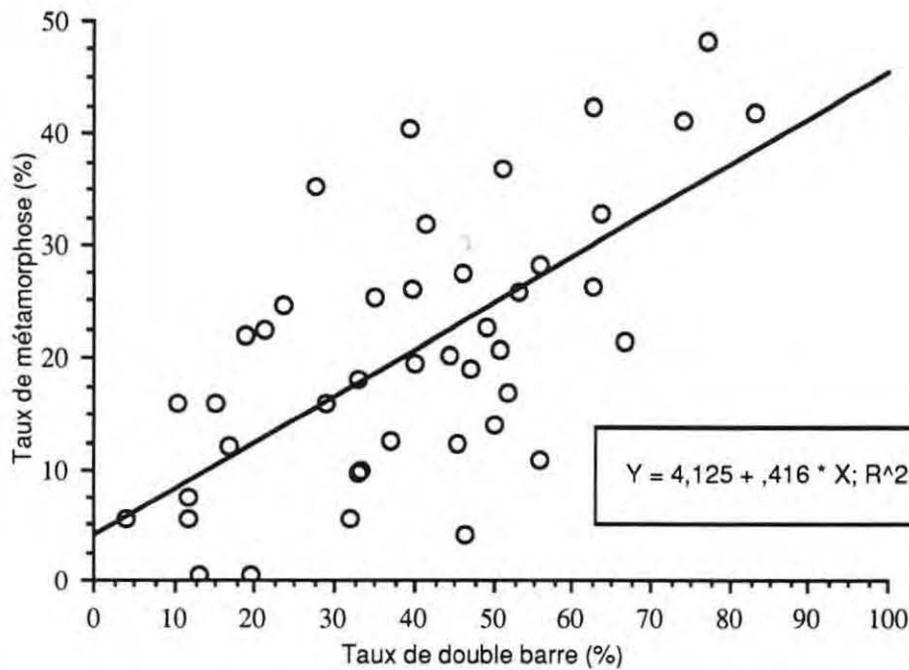


Fig. 3 : Régression linéaire entre taux de double barre et taux de métamorphose à l'issue de la première semaine d'élevage post-larvaire chez *P. maximus* (n = 44).

Certaines de ces expérimentations, au nombre de 23, ont été poursuivies jusqu'en deuxième semaine d'élevage post-larvaire. Ceci nous a permis d'établir la relation entre taux de double barre et de métamorphose après deux semaines en micro-nurserie ainsi que la corrélation entre les taux de métamorphose des deux premières semaines.

Les relations entre les taux de métamorphose en deuxième semaine et de double barre sont reportées dans le tableau 15.

	Taux de double barre	Taux de métamorphose S 1	Taux de métamorphose S 2
Taux de double barre	1,0	0,5 (**)	0,5 (*)
Taux de métamorphose S 1	•	1,0	0,8 (***)
Taux de métamorphose S 2	•	•	1,0

*** Significatif à $P \leq 0,001$; ** Significatif à $P \leq 0,01$; * Significatif à $P \leq 0,05$.

Tab. 15 : Matrice de corrélation entre taux de double barre et métamorphose chez *P. maximus* (n = 23). La probabilité est indiquée entre parenthèses.

Pour ces 23 observations la matrice de corrélation montre que les taux de double barre sont relativement bien corrélés aux taux de métamorphose, à hauteur de 54 % pour la première semaine en micro-nurserie (contre 67 % avec les 44 observations) et de 50 % pour la deuxième. Ces corrélations sont significatives ($p = 0,007$ et $0,014$). Par contre la corrélation du taux de métamorphose entre les deux semaines est forte, 78 %, et ce de façon très significatives ($p < 0,0001$). Cette corrélation étant établie nous avons cherché à vérifier si un ajustement linéaire était adapté. La probabilité pour qu'il y ait une corrélation de type linéaire entre les deux semaines est forte, 61 % (fig. 4).

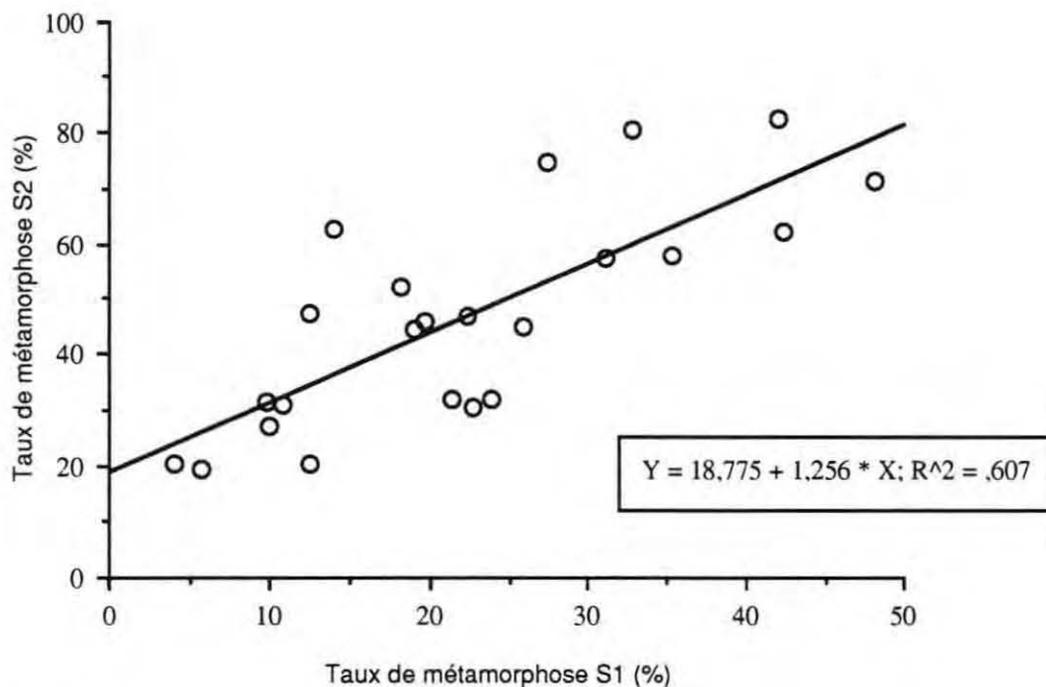


Fig. 4 : Régression linéaire entre taux de métamorphose en première (S1) et deuxième (S2) semaine d'élevage post-larvaire chez *P. maximus* ($n = 23$).

2 - CRITERE DE COMPETENCE BIOCHIMIQUE

2.1 - CINETIQUE DES COMPOSES BIOCHIMIQUES ELEMENTAIRES EN COURS DE VIE LARVAIRE

2.1.1 - *Pecten maximus*

Pour *P. maximus*, trois élevages sont suivis du stade larve D au stade pédivéligère. Les faibles

mortalités larvaires enregistrées tout au long de l'élevage ($\leq 8\%$) permettent d'exprimer les résultats de façon fiable en nanogramme par individu. Quel que soit l'élevage une même tendance est notée, l'augmentation progressive au cours du temps des teneurs en poids sec, matière organique, protéines, lipides et glucides (tab. 16-18, fig. 5-7). Cependant, les trois élevages présentent des cinétiques différentes.

Les poids secs évoluent de façon différente suivant l'élevage. Au cours du premier élevage, une augmentation progressive, de type linéaire est observée avec des valeurs passant de 100 ng au 2^{ème} jour à 1100 ng environ au 30^{ème}, correspondant à un taux d'accroissement pondéral journalier d'environ 35,5 ng. j⁻¹ (tab. 16, fig. 5). Une croissance par pallier est notée pour le deuxième élevage avec des valeurs passant de 95 ng au 2^{ème} jour à 1350 ng au 26^{ème} jour, soit un accroissement journalier moyen de 53 ng. j⁻¹ (tab. 16, fig. 5). Le troisième élevage présente, quant à lui, une croissance pondérale linéaire du 2^{ème} (105 ng) au 28^{ème} jour (930 ng) suivie ultérieurement d'une forte augmentation (1650 ng) conduisant à un taux d'accroissement journalier d'environ 50 ng. j⁻¹ (tab. 16, fig. 5).

A l'inverse, l'évolution de la matière organique est similaire dans les trois élevages, passant progressivement de 40 - 50 ng au 2^{ème} jour à 250 - 300 ng au 23^{ème} - 28^{ème} jour (tab. 16, fig. 5). En fin d'élevage larvaire une brusque augmentation de la masse de matière organique par larve est relevée avec des valeurs comprises entre 400 et 600 ng (tab. 16, fig. 5). A l'exception du premier élevage ces augmentations sont significatives (test t ; p = 0,05). Les taux d'accroissement journalier de la matière organique sont ainsi égaux à 13 - 16,5 - 15,5 pour les élevages P9401T, P9402A et P9502A respectivement. La matière organique représente 25 à 55 % du poids sec tous élevages et âges des larves confondus (tab. 17, fig. 6).

Les protéines et les lipides évoluent de façon analogue à la matière organique. Les protéines représentent, dans les trois élevages larvaires, le constituant essentiel avec des valeurs comprises entre 50 et 75 % de la matière organique tous élevages et âges des larves confondus (tab. 17, fig. 6). Le contenu en protéines par larve passe ainsi de 25 - 32 ng le deuxième jour à 260 - 330 ng en fin d'élevage. Les accumulations protéiniques journalières par larve sont ainsi égales à 8,3 - 10,5 et 9,4 ng pour les élevages P9401T, P9402A et P9502A respectivement (tab. 18, fig. 7).

Les lipides constituent le deuxième composant avec des valeurs comprises entre 11 et 21 % de la matière organique tous élevages et âges des larves confondus (tab. 17, fig. 6). Le contenu en lipides par larve passe ainsi de 7,5 - 9 ng le deuxième jour à 70 - 85 ng en fin d'élevage (tab. 18, fig. 7). Les accumulations lipidiques journalières par larve sont ainsi égales à 2,3 - 3,2 et 2,3 ng pour les élevages P9401T, P9402A et P9502A respectivement.

Les sucres ne représentent que 4 à 9 % de la matière organique tous élevages et âges des larves confondus (tab. 17, fig 6). Le contenu en glucides par larve passe ainsi de 1,7 - 2,9 ng le deuxième jour à 23 - 40 ng en fin d'élevage (tab. 18, fig 7), conduisant à des accumulations journalières par larve de 0,76 - 0,99 et 1,21 ng pour les élevages P9401T, P9402A et P9502A respectivement.

Lorsque la composition biochimique élémentaire est exprimée en pourcentage de matière organique ou de poids sec (teneur relative) aucune évolution apparente des rapports n'est notée en cours de vie larvaire, les valeurs étant relativement stables (tab. 17, fig. 6). Lorsque ces constituants sont exprimés en nanogramme par larve une accumulation significative en protéines et lipides est notée en fin d'élevage larvaire (tab. 18, fig.7).

Age des larves depuis la fécondation (jour)	Elevage P9401T		Elevage P9402A		Elevage P9502A	
	PS	MO	PS	MO	PS	MO
2	100,15 (7,94)	39,96 (3,33)	95,40 (0,64)	44,04 (1,04)	105,83 (2,01)	52,23 (0,60)
7	201,96 (12,15)	55,71 (1,35)	194,00 (5,84)	55,44 (4,96)	-	-
9	-	-	-	-	340,13 (43,88)	105,63 (6,38)
14	557,25 (68,25)	148,08 (10,25)	718,17 (113,84)	215,92 (25,08)	425,50 (10,30)	120,50 (3,10)
19	-	-	-	-	564,10 (73,50)	183,50 (45,10)
23	917,67 (24,67)	265,17 (10,83)	795,84 (56,16)	267,50 (12,50)	709,60 (25,60)	221,60 (3,60)
26	-	-	1370,84 (67,16)	437,67 (14,34)	-	-
28	1046,50 (141,17)	301,67 (8,67)	-	-	928,60 (32,20)	278,00 (4,00)
30	1089,50 (48,83)	402,37 (33,33)	-	-	-	-
33	-	-	-	-	1650,40 (94,80)	582,60 (46,20)

Tab. 16 : Evolution du poids sec (PS) et de la matière organique (MO) exprimés en ng. ind⁻¹ au cours du développement larvaire dans trois élevages de *P. maximus* (P) conduits selon des techniques similaires. Les valeurs entre parenthèses indiquent les écarts types.

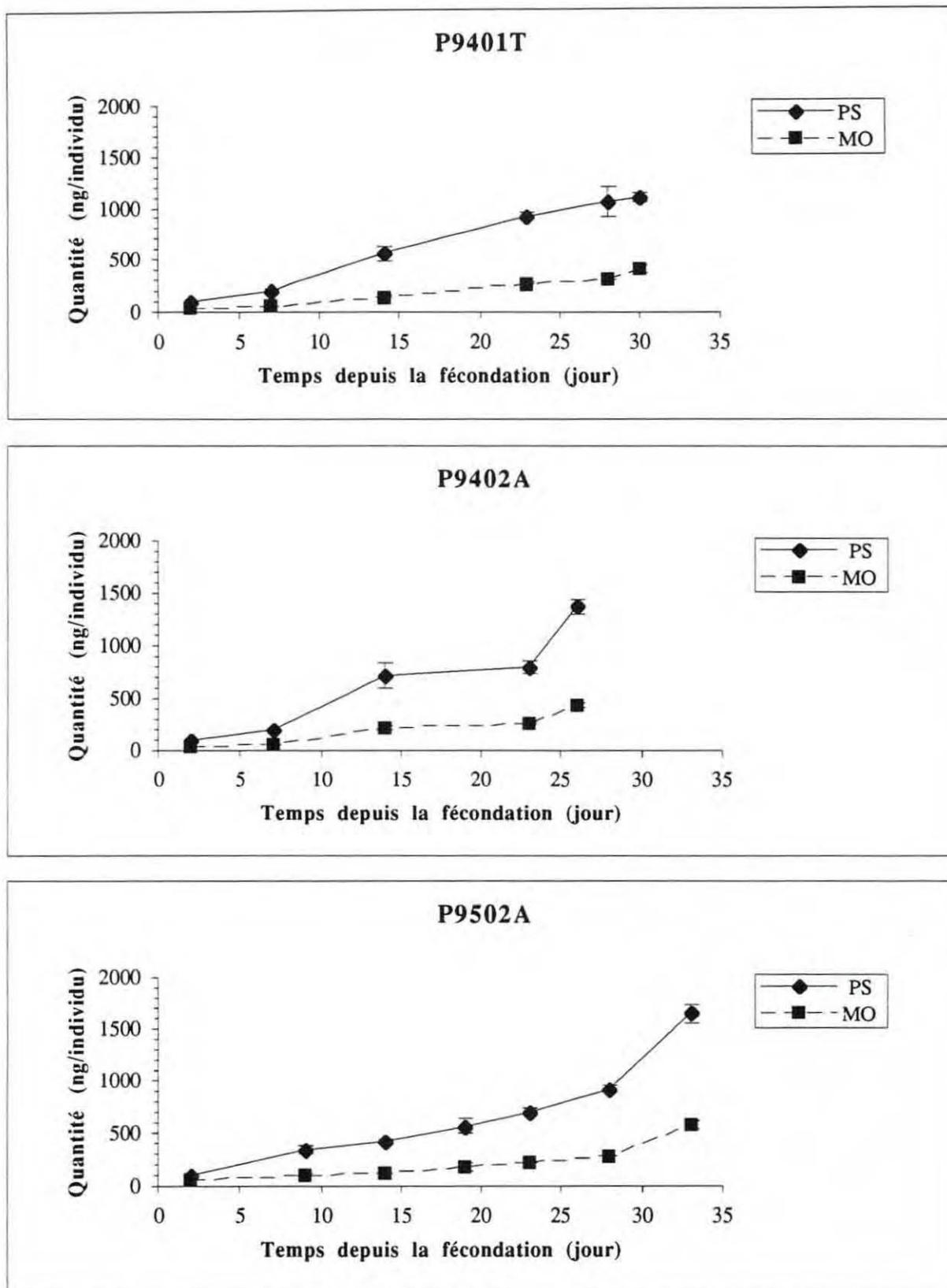


Fig. 5 : Evolution des poids sec (PS) et organique (MO) au cours du développement larvaire dans trois élevages de *P. maximus* (P) conduits selon des procédures zootechniques similaires. Les barres indiquent les écarts types.

Age des larves (jour)	Elevages P9401T						
	Protéines/MO	Lipides/MO	Glucides/MO	Protéines/PS	Lipides/PS	Glucides/PS	MO/PS
2	67,67 (9,66)	19,22 (2,74)	4,54 (0,75)	26,98 (3,69)	7,67 (1,05)	1,81 (0,28)	39,89 (0,23)
7	58,67 (1,41)	11,03 (0,68)	4,47 (0,11)	16,23 (1,22)	3,05 (0,04)	1,24 (0,04)	27,64 (1,41)
9	-	-	-	-	-	-	-
14	58,04 (9,16)	13,06 (2,05)	4,96 (0,11)	15,62 (3,63)	3,52 (0,81)	1,33 (0,13)	26,75 (2,03)
19	-	-	-	-	-	-	-
23	68,38 (0,34)	19,44 (1,70)	6,01 (0,49)	19,79 (1,80)	5,61 (0,05)	1,74 (0,02)	28,95 (2,77)
26	-	-	-	-	-	-	-
28	63,79 (2,57)	17,96 (1,51)	5,95 (0,47)	18,89 (5,09)	5,24 (0,78)	1,77 (0,54)	29,47 (6,79)
30	64,18 (0,54)	17,52 (0,15)	5,75 (0,13)	23,66 (1,08)	6,46 (0,40)	2,12 (0,07)	36,87 (1,99)
33	-	-	-	-	-	-	-

Age des larves (jour)	Elevages P9402A						
	Protéines/MO	Lipides/MO	Glucides/MO	Protéines/PS	Lipides/PS	Glucides/PS	MO/PS
2	56,28 (1,00)	19,88 (2,16)	3,89 (0,12)	25,99 (1,08)	9,16 (0,78)	1,80 (0,01)	46,16 (1,10)
7	55,52 (2,31)	11,54 (1,61)	3,71 (0,76)	15,81 (0,68)	3,27 (0,18)	1,05 (0,13)	28,53 (2,40)
9	-	-	-	-	-	-	-
14	53,13 (8,64)	13,75 (2,60)	3,97 (0,57)	16,17 (3,60)	4,19 (1,04)	1,21 (0,25)	30,27 (1,85)
19	-	-	-	-	-	-	-
23	63,89 (4,80)	17,50 (0,25)	5,59 (0,36)	21,54 (2,35)	5,90 (0,29)	1,88 (0,18)	33,67 (1,14)
26	63,61 (4,09)	19,55 (1,50)	5,83 (0,20)	20,32 (1,04)	6,24 (0,24)	1,88 (0,28)	32,06 (3,70)
28	-	-	-	-	-	-	-
30	-	-	-	-	-	-	-
33	-	-	-	-	-	-	-

Age des larves (jour)	Elevages P9502A						
	Protéines/MO	Lipides/MO	Glucides/MO	Protéines/PS	Lipides/PS	Glucides/PS	MO/PS
2	64,03 (1,56)	18,91 (0,01)	5,53 (0,28)	33,59 (1,10)	9,92 (0,07)	2,90 (0,17)	52,45 (0,43)
7	-	-	-	-	-	-	-
9	67,26 (7,61)	16,40 (3,71)	7,56 (0,97)	21,20 (4,45)	5,20 (1,66)	2,38 (0,54)	31,33 (3,07)
14	63,38 (2,07)	12,49 (1,07)	6,86 (0,45)	17,99 (1,85)	3,53 (0,06)	1,94 (0,01)	28,35 (2,00)
19	73,50 (20,07)	16,25 (2,56)	8,68 (2,17)	23,00 (2,46)	5,14 (0,06)	2,72 (0,23)	32,03 (5,40)
23	57,27 (0,78)	12,82 (0,15)	6,76 (0,33)	17,90 (0,75)	4,01 (0,06)	2,11 (0,04)	31,25 (0,88)
26	-	-	-	-	-	-	-
28	57,88 (0,17)	12,06 (0,75)	6,81 (0,08)	17,36 (1,15)	3,63 (0,47)	2,04 (0,11)	29,99 (2,08)
30	-	-	-	-	-	-	-
33	55,62 (3,21)	13,82 (0,71)	6,93 (0,04)	19,59 (0,52)	4,87 (0,10)	2,45 (0,06)	35,26 (1,09)

Tab. 17 : Evolution des teneurs en protéines, lipides et glucides par rapport au poids sec (PS) et à la matière organique (MO) au cours du développement larvaire dans trois élevages de *P. maximus* (P) conduits selon des techniques similaires. Les valeurs entre parenthèses indiquent les écarts types.

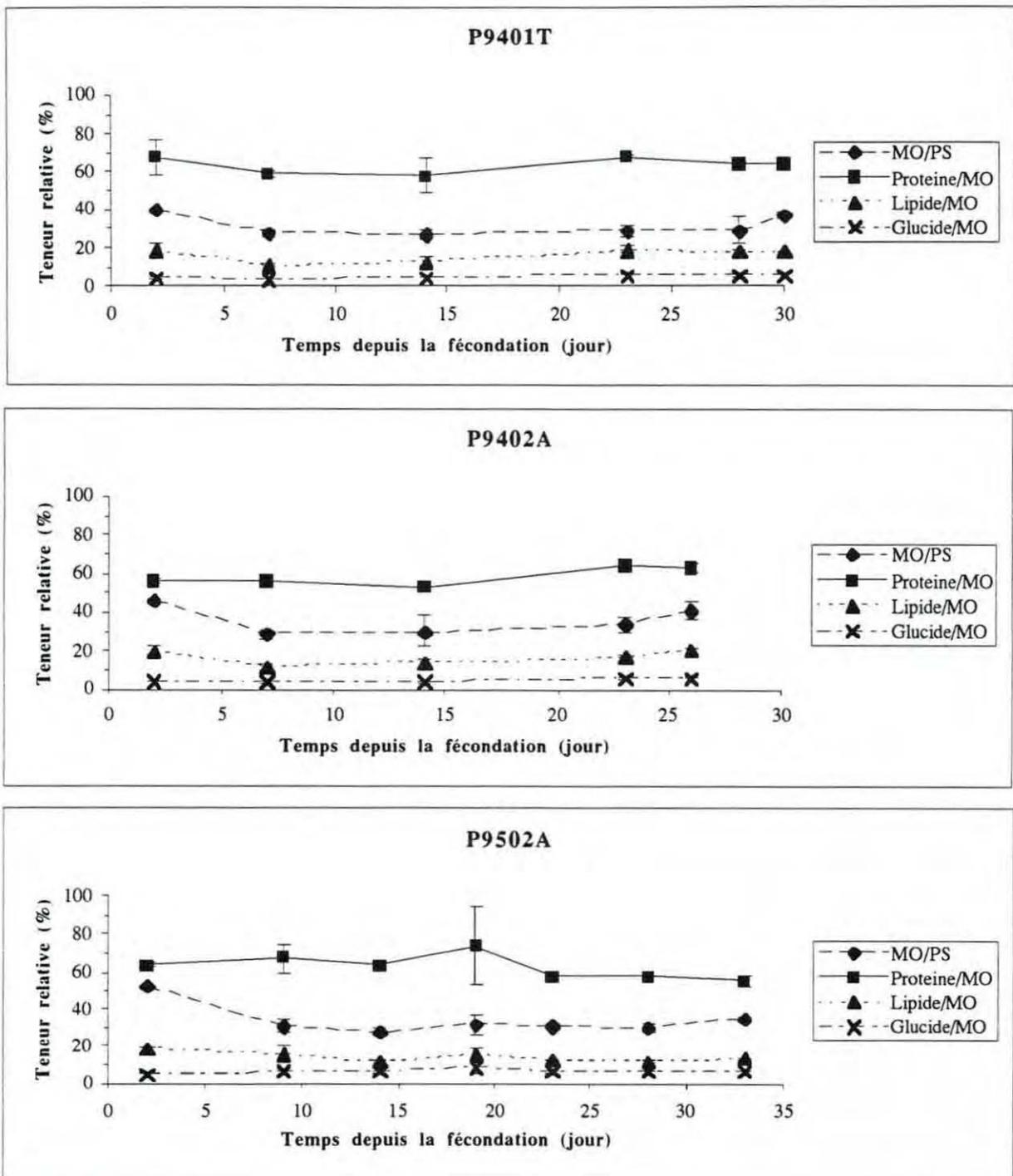


Fig. 6 : Evolution des teneurs en protéines, lipides et glucides par rapport à la matière organique (MO) au cours du développement larvaire dans trois élevages de *P. maximus* (P) conduits selon des procédures zootechniques similaires. Les barres indiquent les écarts types.

Age des larves depuis la fécondation (jour)	Elevage P9401T			Elevage P9402A			Elevage P9502A		
	Protéines	Lipides	Glucides	Protéines	Lipides	Glucides	Protéines	Lipides	Glucides
2	26,82 (0,48)	7,62 (0,14)	1,80 (0,06)	24,80 (0,89)	8,74 (0,47)	1,71 (0,00)	31,21 (0,65)	8,93 (0,38)	2,88 (0,06)
7	32,67 (0,23)	6,16 (0,42)	2,49 (0,10)	30,70 (1,85)	6,34 (0,06)	2,03 (0,11)	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	70,70 (1,40)	17,16 (1,72)	7,94 (0,24)
14	85,28 (3,65)	19,19 (0,81)	7,34 (0,39)	113,19 (0,13)	29,23 (0,52)	8,47 (0,14)	76,41 (3,73)	15,03 (0,52)	8,25 (0,16)
19	-	-	-	-	-	-	128,46 (7,10)	29,00 (4,00)	15,22 (1,09)
23	181,30 (6,77)	51,42 (1,08)	15,91 (0,28)	170,47 (1,10)	46,79 (1,71)	14,91 (0,01)	126,88 (0,84)	28,40 (0,70)	14,99 (0,75)
26	-	-	-	277,98 (3,55)	85,42 (1,84)	25,55 (1,44)	-	-	-
28	192,57 (11)	54,09 (1,67)	17,97 (1,51)	-	-	-	160,90 (1,98)	33,55 (1,95)	18,93 (0,10)
30	258,08 (19,85)	70,38 (6,38)	23,11 (1,56)	-	-	-	-	-	-
33	-	-	-	-	-	-	322,98 (12,46)	80,25 (3,45)	40,39 (3,03)

Tab. 18 : Evolution du contenu larvaire en protéines, lipides et glucides (ng. ind⁻¹) au cours du développement dans trois élevages de *P. maximus* (P) conduits selon des techniques similaires. Les valeurs entre parenthèse indiquent les écarts types.

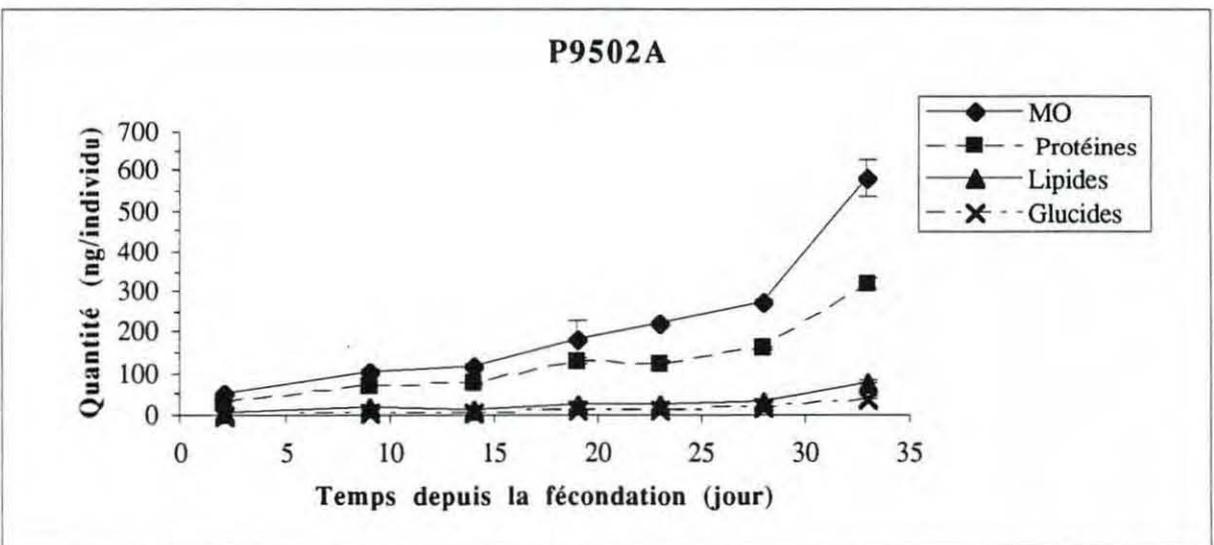
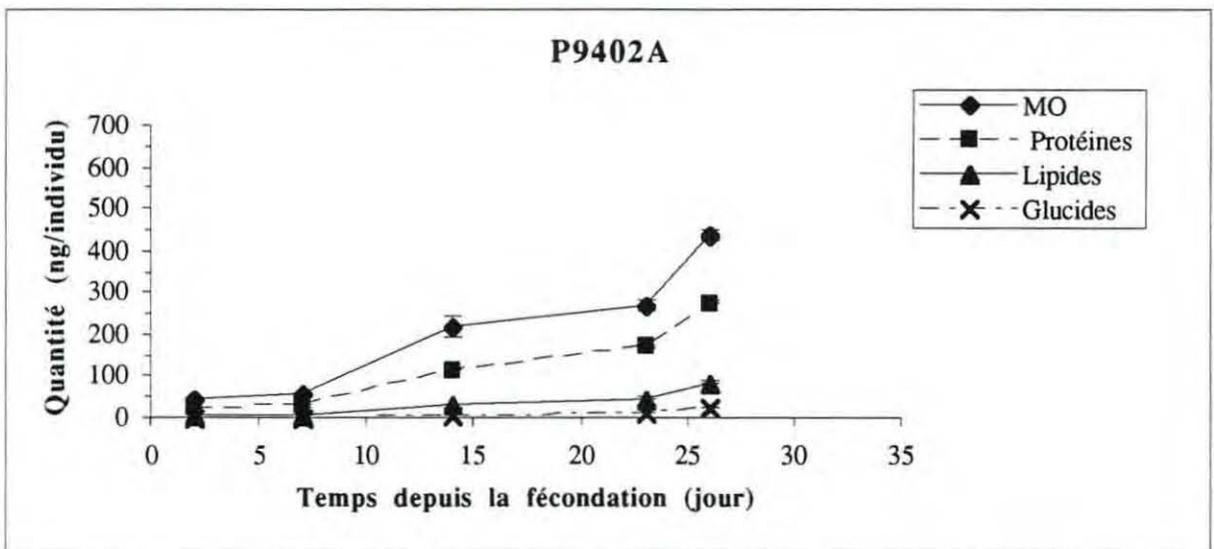
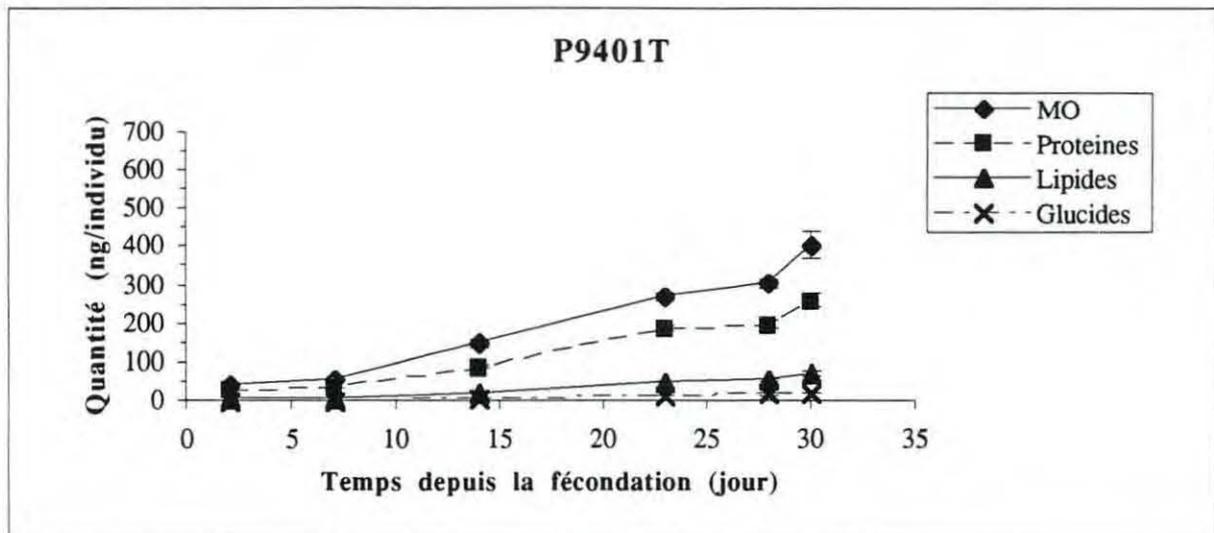


Fig. 7 : Evolution du contenu en protéines, lipides et glucides au cours du développement larvaire dans trois élevages de *P. maximus* (P). Les élevages sont conduits selon des procédures zootechniques similaires. Les barres indiquent les écarts types.

La validité de ces observations a été recherchée par des analyses de corrélations entre le temps et les différents constituants biochimiques.

Pour l'élevage P9401T, la matrice de corrélation ne montre aucune corrélation entre les rapports lipide/MO, protéine/MO, MO/PS et le temps (jour). Par contre, le rapport glucide/MO et le facteur temps sont corrélés à hauteur de 85 %, de façon très significative ($p = 0,0002$; tab. 19).

	Jour	Protéine/MO	Lipide/MO	Glucide/MO	MO/PS
Jour	1,0	0,1 (NS)	0,3 (NS)	0,8 (***)	-0,1 (NS)
Protéine/MO		•	0,8	0,5	0,5
Lipide/MO			•	0,6	0,4
Glucide/MO				•	-0,1

*** Significatif à $P \leq 0,001$; NS = non significatif.

Tab. 19 : Matrice de corrélation entre les constituants biochimiques élémentaires et le temps au cours du développement larvaire de *P. maximus* ($n = 12$). Les valeurs entre parenthèses indiquent la probabilité.

Pour l'élevage P9402A, la matrice de corrélation montre à nouveau que seule la variable glucide/MO et la variable temps sont corrélées à hauteur de 87 % de façon très significative ($p = 0,0004$). Aucune autre corrélation n'est trouvée entre ce paramètre temps et les rapports protéine/MO, lipide/MO, MO/PS (tab. 20).

	Jour	Protéine/MO	Lipide/MO	Glucide/MO	MO/PS
Jour	1.0	0,6 (NS)	0,3 (NS)	0,9 (***)	-0,1 (NS)
Protéine/MO		•	0,6	0,8	0,3
Lipide/MO			•	0,6	0,8
Glucide/MO				•	0,2

*** Significatif à $P \leq 0,001$; NS = non significatif.

Tab. 20 : Matrice de corrélation entre les constituants biochimiques élémentaires et le temps au cours du développement larvaire de *P. maximus* ($n = 10$). Les valeurs entre parenthèses indiquent la probabilité.

Par contre, pour l'élevage P9502A, la matrice de corrélation ne montre aucune corrélation entre les

différents rapports biochimiques et le facteur temps y compris pour le rapport glucide/MO (tab. 21).

	Jour	Protéine/MO	Lipide/MO	Glucide/MO	MO/PS
Jour	1,0	0,2 (NS)	-0,6 (*)	-0,4 (NS)	-0,5 (NS)
Protéine/MO		•	0,6	0,7	-0,1
Lipide/MO			•	0,2	0,6
Glucide/MO				•	-0,6

* Significatif à $P \leq 0,05$; NS = non significatif.

Tab. 21 : Matrice de corrélation entre les constituants biochimiques élémentaires et le temps au cours du développement larvaire de *P. maximus* (n = 14). Les valeurs entre parenthèses indiquent la probabilité.

Chez *P. maximus*, aucun composé élémentaire préférentiel n'est accumulé en fin de vie larvaire et aucun élément biochimique particulier ne caractérise le développement larvaire.

2.1.2 - *Crassostrea gigas*

Chez *Crassostrea gigas*, deux élevages sont suivis du stade larve D au stade larve oeillée. L'élimination systématique des individus à faible développement et des individus morts (tamisage régulier tout au long de l'élevage) permet d'exprimer les résultats de façon fiable par individu. Cette pratique d'écloserie commerciale conduit cependant à analyser les populations larvaires les plus performantes ("tête de lot") et non pas les populations moyennes. Quel que soit l'élevage une même tendance est notée, c'est à dire une augmentation progressive au cours du temps des teneurs en poids sec, matière organique, protéines, lipides et glucides (tab. 22-24, fig. 8-10). Cependant, les deux élevages présentent des cinétiques légèrement différentes.

Les évolutions des poids secs diffèrent en fin d'élevage. Le premier élevage (Gig 9401) présente une croissance pondérale progressive du 6^{ème} jour (984 ng) au 14^{ème} jour (5587 ng) suivie ultérieurement d'une forte augmentation (11741 ng. ind⁻¹ en fin d'élevage) conduisant à un taux d'accroissement journalier d'environ 686 ng. j⁻¹ (tab. 22, fig. 8). Dans le second élevage (Gig 9402), une augmentation progressive est observée tout au long de l'élevage avec des valeurs passant de 750 ng au 6^{ème} jour à 8505 ng environ au 21^{ème} jour, correspondant à un taux d'accroissement journalier d'environ 441 ng. j⁻¹ (tab. 22, fig. 8). Dans les deux cas, il faut cependant noter un faible accroissement pondéral en début d'élevage, les poids secs passant de 82 -

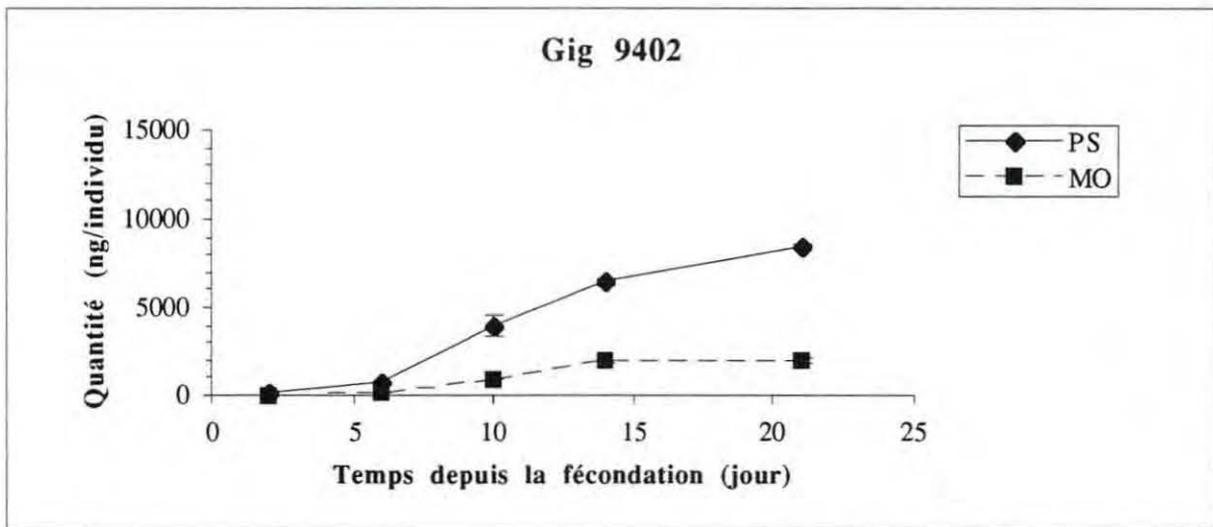
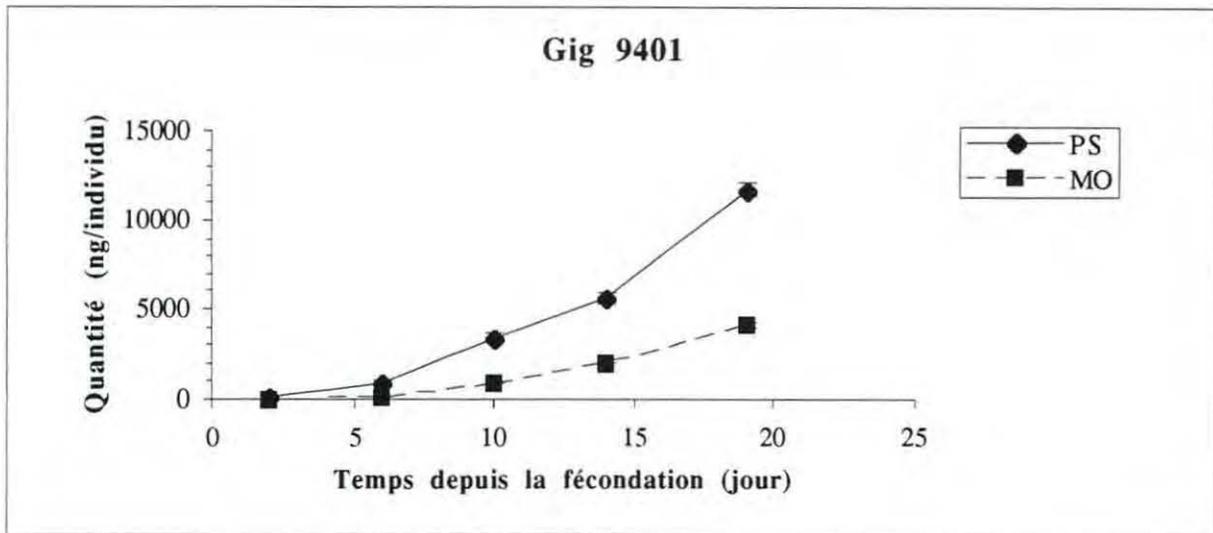


Fig. 8 : Evolution des poids sec (PS) et organique au cours du développement larvaire dans deux élevages de *C. gigas* (Gig) conduits selon des techniques similaires d'écloserie de production. Les barres indiquent les écarts types.

Age des larves (jour)	Elevage Gig9401						
	Protéines/MO	Lipides/MO	Glucides/MO	Protéines/PS	Lipides/PS	Glucides/PS	MO/PS
2	54,31 (5,95)	22,40 (2,28)	3,53 (0,55)	10,11 (1,65)	4,17 (0,65)	0,66 (0,13)	18,56 (1,01)
6	52,17 ± (0,00)	13,30 ± (0,05)	3,70 ± (0,08)	10,57 ± (0,43)	2,70 ± (0,12)	0,75 ± (0,01)	20,26 ± (0,82)
10	54,28 ± (1,61)	14,72 ± (0,57)	4,47 ± (0,05)	14,93 ± (1,48)	4,07 ± (0,68)	1,23 ± (0,14)	27,56 ± (3,56)
14	54,20 ± (0,88)	14,72 ± (0,43)	3,94 ± (0,05)	18,86 ± (1,20)	5,12 ± (0,09)	1,37 ± (0,08)	34,78 ± (1,63)
19	49,56 ± (2,26)	14,61 ± (1,00)	3,93 ± (0,18)	17,27 ± (0,73)	5,10 ± (0,33)	1,37 ± (0,06)	34,85 ± (0,12)
21	-	-	-	-	-	-	-

Age des larves (jour)	Elevage Gig9402						
	Protéines/MO	Lipides/MO	Glucides/MO	Protéines/PS	Lipides/PS	Glucides/PS	MO/PS
2	52,13 (1,94)	26,65 (0,78)	4,42 (0,09)	10,41 (0,30)	5,32 (0,11)	0,88 (0,03)	19,97 (0,16)
6	57,29 (0,63)	14,82 (0,04)	4,52 (0,12)	11,41 (0,05)	2,95 (0,01)	0,90 (0,03)	19,91 (0,13)
10	60,21 (2,34)	15,27 ± (0,28)	4,32 (0,16)	13,20 (3,60)	3,34 (0,84)	0,95 (0,26)	21,82 (5,12)
14	60,19 (4,03)	12,92 (0,44)	3,96 (0,19)	17,74 (0,28)	3,82 (0,33)	1,17 (0,11)	29,51 (1,51)
19	-	-	-	-	-	-	-
21	73,55 (7,02)	17,49 (1,74)	4,66 (0,48)	17,12 (0,35)	4,07 (0,07)	1,08 (0,01)	23,41 (2,72)

Tab. 23 : Evolution des teneurs en protides, lipides et glucides par rapport au poids sec (PS) et à la matière organique (MO) au cours du développement larvaire dans deux élevages de *C. gigas* (Gig) conduits selon des techniques similaires d'éclosion de production. Les valeurs entre parenthèses indiquent les écarts types.

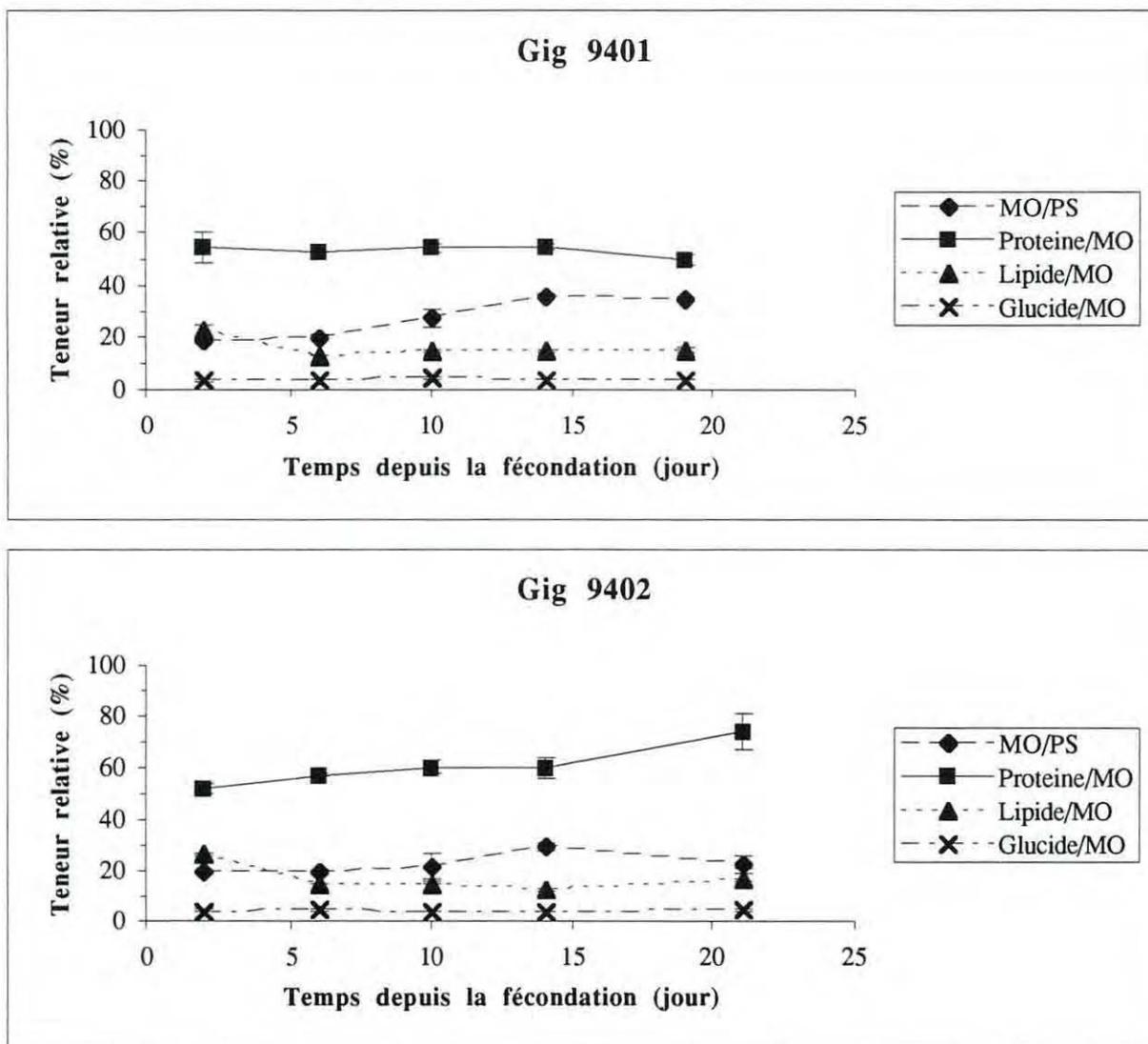


Fig. 9 : Evolution des teneurs en protéines, lipides et glucides par rapport à la matière organique (MO) au cours du développement larvaire dans deux élevages de *C. gigas* (Gig) conduits selon des techniques similaires d'écloserie de production. Les barres indiquent les écarts types.

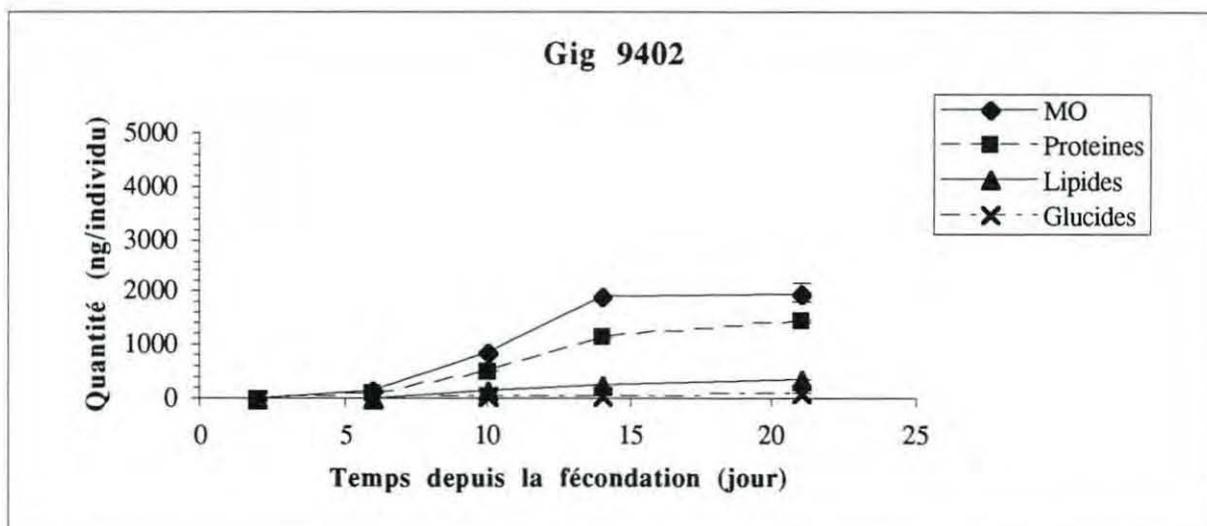
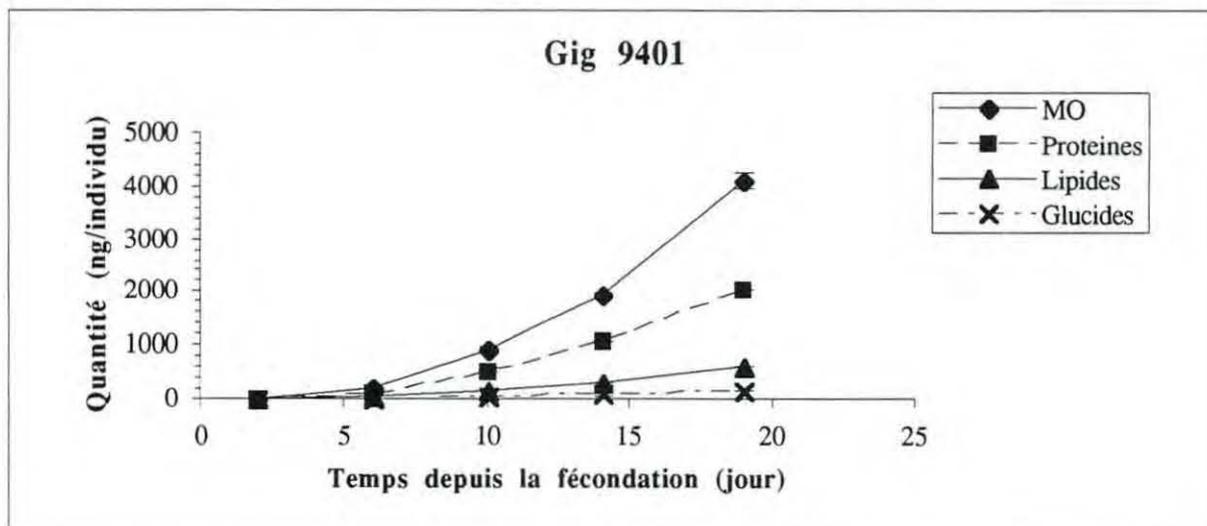


Fig. 10 : Evolution du contenu en protéines, lipides et glucides au cours du développement larvaire dans deux élevages de *C. gigas* (Gig) conduits selon des techniques similaires d'éclosion de production. Les barres indiquent les écarts types.

118 ng le deuxième jour à 984 - 750 ng le sixième jour, soit un accroissement journalier de 201 ng. ind⁻¹ la première semaine.

Age des larves (jour)	Elevage Gig 9401		Elevage Gig 9402	
	PS	MO	PS	MO
2	82,4 (9,3)	15,2 (1,1)	118,4 (3,4)	23,6 (0,5)
6	984,2 (89,0)	198,8 (12,3)	750,3 (20,7)	149,3 (4,3)
10	3380,1 (226,8)	925,7 (22,5)	3932,4 (653,2)	834,3 (0,2)
14	5587,2 (284,7)	1939,9 (34,7)	6444,5 (157,5)	1900,3 (31,7)
19	11740,8 (440,1)	4091,6 (163,0)	-	-
21	-	-	8505,0 (55,8)	1992,0 (229,5)

Tab. 22 : Evolution du poids sec (PS) et de la matière organique (MO) exprimés en ng. ind⁻¹ au cours du développement larvaire dans deux élevages de *C. gigas* conduits selon des procédures standards d'écloserie. Les valeurs entre parenthèses indiquent les écarts types.

Quant à la matière organique, son évolution est similaire à celle du poids sec. Pour le premier élevage (Gig 9401) les teneurs en matière organique passent de 15 ng le 2^{ème} jour à 4092 ng au 19^{ème} jour avec une augmentation importante en cours de troisième semaine (doublement des teneurs) alors que pour le second élevage (Gig 9402) l'évolution des teneurs est progressive, passant de 24 ng le 2^{ème} jour à 1992 ng le 21^{ème} jour (tab. 22, fig. 8). Cependant aucune augmentation de la matière organique n'est notée en fin d'élevage, les valeurs restant constantes entre le 14^{ème} jour (1900ng) et le 21^{ème} jour (1992 ng). Les taux d'accroissement journalier de la matière organique sont ainsi égaux à 240 ng. j⁻¹ pour le premier élevage et 104 ng. j⁻¹ pour le second. La matière organique représente de 19 à 35 % du poids sec tous élevages et âges des larves confondus (tab. 23, fig. 9).

Les protéines et les lipides évoluent de façon analogue à la matière organique et ces premières représentent, dans les deux élevages, comme chez *P. maximus*, le constituant essentiel avec des valeurs comprises entre 52 et 73 % de la matière organique tous élevages et âges des larves confondus (tab. 23, fig. 9).

Pour le premier élevage, une évolution progressive est notée jusqu'au 14^{ème} jour suivie ultérieurement d'une forte augmentation (doublement des valeurs : tab. 24, fig. 10). Pour le second élevage, une augmentation continue jusqu'au 14^{ème} jour suivie d'une faible augmentation est

relevée. Le contenu en protéines par larve passe ainsi de 8 ng le 2^{ème} jour à 2025 ng le 19^{ème} jour pour le premier élevage (Gig 9401) alors que ces valeurs sont de 13 et 1456 ng pour le second (Gig 9402 : tab. 24, fig. 10). Les accumulations protéiniques journalières par larve sont ainsi égales à 118,6 et 76 ng pour les élevages Gig 9401 et Gig 9402 respectivement.

Age des larves (jour)	Elevage Gig 9401			Elevage Gig 9402		
	Protéines	Lipides	Glucides	Protéines	Lipides	Glucides
2	8,2 (0,0)	3,4 (0,0)	0,5 (0,0)	12,3 (0,6)	6,3 (0,3)	1,0 (0,0)
6	103,7 (6,4)	26,4 (1,6)	7,3 (0,6)	85,6 (2,6)	22,1 (0,6)	6,7 (0,1)
10	502,2 (1,7)	136,3 (7,0)	41,3 (0,7)	502,3 (13,8)	127,3 (1,6)	35,9 (0,9)
14	1051,1 (6,6)	285,5 (11,1)	76,4 (0,7)	1143,1 (40,6)	245,6 (8,8)	75,2 (3,5)
19	2025,0 (15,5)	596,7 (5,3)	160,6 (1,1)	-	-	-
21	-	-	-	1456,3 (30,8)	346,2 (6,3)	92,1 (1,4)

Tab. 24 : Evolution du contenu en protéines, lipides et glucides (ng. ind⁻¹) au cours du développement larvaire dans deux élevages de *C. gigas* conduits selon des procédures standards d'écloserie commerciale. Les valeurs entre parenthèses indiquent les écarts types.

Les lipides constituent le deuxième composant avec des valeurs comprises entre 13 et 26 % de la matière organique tous élevages et âges des larves confondus (tab. 23, fig. 9). Le contenu en lipides par larve passe ainsi de 3 à 597 ng entre le 2^{ème} et le 19^{ème} jour pour le premier élevage et de 6 à 346 ng entre le 2^{ème} et le 21^{ème} jour pour le second (tab. 24, fig. 10). Les accumulations lipidiques journalières par larve sont ainsi égales à 35 et 18 ng pour les élevages Gig 9401 et Gig 9402 respectivement.

Les sucres ne représentent que 3,5 à 4,7 % de la matière organique tous élevages et âges des larves confondus (tab. 23, fig. 9). Le contenu en glucides par larve passe ainsi de 0,5 à 161 ng du début en fin de développement larvaire pour le premier élevage contre 1,04 à 92 ng pour le second (tab. 24, fig. 10). Les accumulations glucidiques journalières par larve sont ainsi égales à 9,4 et 4,8 ng respectivement.

Les valeurs obtenues en début et en fin d'élevage pour les deux élevages commerciaux précédents (Gig 9401 et Gig 9402) peuvent être comparées à celles acquises chez six autres élevages expérimentaux conduits pour d'autres finalités à l'écloserie d'Argenton mais toujours selon les mêmes techniques de production (élimination systématique des larves à faible croissance et des

larves mortes ; tab. 25-26). Il faut cependant noter que le premier élevage (Gig 9401) présente des valeurs en protéines, lipides et glucides plus faibles en début d'élevage et beaucoup plus fortes en fin d'élevage comparé au second (Gig 9402 ; tab. 24, fig. 10), traduisant la plus petite taille des larves en début d'élevage mais leur excellent développement ultérieur (tab. 22, fig. 8). La comparaison avec les autres élevages se fera donc avec l'élevage Gig 9402 présentant un poids de matière organique similaire au départ.

Au deuxième jour, les contenus en protéines, lipides et glucides dans les six élevages expérimentaux encadrent les valeurs obtenues pour l'élevage commercial Gig 9402 (tab. 25).

Référence de l'élevage	Age des larves (jour)	Composition proximale				
		Protéines	Lipides	Glucides	PS	MO
Ec	2	15,4 (0,8)	5,2 (0,3)	1,2 (0,2)	112,6 (0,1)	24,4 (0,9)
Mc	1	16,4 (0,4)	7,8 (0,0)	1,2 (0,1)	85,3 (0,8)	30,7 (0,6)
Ac	1	17,4 (0,1)	9,0 (0,4)	1,4 (0,1)	69,0 (0,8)	31,3 (4,7)
Ef	1	14,6 (0,9)	5,6 (0,3)	1,1 (0,1)	113,7 (0,6)	28,4 (1,1)
Mf	2	14,4 (0,5)	4,7 (0,4)	1,3 (0,0)	133,2 (0,7)	21,8 (5,9)
Af	2	12,3 (0,9)	4,3 (0,1)	1,1 (0,2)	109,1 (6,9)	23,9 (2,1)

Tab. 25 : Composition biochimique élémentaire (ng. ind⁻¹) de larves D de 1 à 2 jours dans six élevages de *C. gigas* conduits selon les mêmes techniques de production à l'écloserie d'Argenton. Les valeurs entre parenthèses indiquent les écarts types.

En effet, les contenus par larve en protéines des jeunes larves dans les six élevages sont compris entre 12,3 et 17,4 ng (moyenne = 15,1 - σ = 1,8) contre 12,3 ng pour l'élevage commercial Gig 9402. Pour les lipides, les contenu par larve sont compris entre 4 et 9 ng (moyenne = 6,1 - σ = 1,9) contre 6,3 ng pour l'élevage commercial Gig 9402 tandis que pour les glucides ces contenus sont compris entre 1 et 1,5 ng (moyenne = 1,25 - σ = 0,1) contre 1 ng pour l'élevage commercial (tab. 117). Poids sec et matière organique sont compris entre 69 - 133 ng. ind⁻¹ (moyenne = 103,8 - σ = 22,9) et 22 - 31 ng. ind⁻¹ (moyenne = 26,7 - σ = 3,9) contre environ 118 ng. ind⁻¹ et 24 ng. ind⁻¹ pour l'élevage commercial Gig 9402 (tab. 25). En ce qui concerne les élevages expérimentaux et quel que soit le composé considéré, aucune différence significative entre les différentes moyennes acquises au 2^{ème} jour d'élevage (tab. 25) n'a été mise en évidence par test non paramétrique de Kruskal Wallis.

A la fin de l'élevage larvaire (20 - 32^{ème} jour) les contenus en protéines, lipides et glucides dans les

six élevages expérimentaux encadrent également les valeurs obtenues pour l'élevage commercial Gig 9402 (tab. 26).

Référence de l'élevage	Durée de l'élevage (jour)	Composition proximale				
		Protéines	Lipides	Glucides	PS	MO
Ec	32	1652,6	322,0	90,9	8663,5	2574,0
		(615,8)	(12,0)	(12,5)	(21,5)	(34,4)
Mc	31	1446,1	376,1	64,6	7948,2	2817,0
		(1,0)	(78,6)	(17,1)	(709,4)	(263,4)
Ac	29	1270,6	325,1	87,1	6663,6	2346,6
		(66,1)	(17,1)	(4,8)	(377,6)	(17,8)
Ef	27	1237,3	278,1	99,2	6915,9	2198,1
		(56,6)	(102,9)	(1,0)	(950,8)	(7,2)
Mf	20	1566,7	385,6	121,8	8547,3	2849,1
		(148,5)	(43,3)	(6,7)	(945,7)	(246,5)
Af	24	922,8	207,7	69,7	5802,3	1795,8
		(33,4)	(9,2)	(0,6)	(145,5)	(78,9)

Tab. 26 : Composition biochimique élémentaire (ng. ind⁻¹) de pédivéligères (âgées de 20 à 32 jours) dans six élevages de *C. gigas* conduits selon les mêmes techniques de production à l'écloserie d'Argenton. Les valeurs entre parenthèses indiquent les écarts types.

Les contenus par larve en protéines dans les six élevages expérimentaux sont compris entre 923 et 1652 ng, échelle englobant donc la valeur de l'élevage commercial Gig 9402 (1456 ng). Les contenus par larve en lipides sont compris entre 208 et 386 ng contre 346 ng pour l'élevage commercial et les glucides entre 65 et 122 ng. ind⁻¹ contre 92 ng. ind⁻¹. Pour le poids sec, les valeurs sont comprises entre 5802 et 8664 ng dans les six élevages expérimentaux contre 8505 ng dans l'élevage commercial. Quant à la matière organique, qui est de 1992 ng. ind⁻¹ dans l'élevage Gig 9402, elle varie entre 1796 et 2849 ng. ind⁻¹ pour les élevages expérimentaux. En ce qui concerne les élevages expérimentaux et quel que soit le composé considéré (tab. 26), aucune différence significative entre les différentes moyennes acquises en fin d'élevage n'a été mise en évidence par test non paramétrique de Kruskal Wallis. Les compositions biochimiques proximales en fin d'élevage larvaire sont donc du même ordre de grandeur entre des élevages conduits dans deux sites différents et selon des techniques d'élevage différentes (température, régime alimentaire).

En ce qui concerne les élevages commerciaux Gig 9401 et Gig 9402 aucune évolution apparente des teneurs relatives en protéines, lipides et glucides par rapport au poids sec ou à la matière organique n'est notée au cours de la vie larvaire, les valeurs étant relativement stables (tab. 23, fig. 9).

La validité de ces observations a été recherchée par des analyses de corrélations entre le temps et les différents constituants biochimiques.

Pour le premier élevage (Gig 9401), la matrice de corrélation ne montre aucune relation entre les rapports lipide/MO, protéine/MO, glucide/MO et le temps. Par contre, le rapport MO/PS et le facteur temps sont corrélés à hauteur de 93 %, avec une probabilité fortement significative ($p < 0,0001$; tab. 27).

	Jour	Protéine/MO	Lipide/MO	Glucide/MO	MO/PS
Jour	1.0	-0,4 (NS)	-0,6 (NS)	0,4 (NS)	0,9 (***)
Protéine/MO		•	0,4	0,4	-0,2
Lipide/MO			•	-0,3	-0,5
Glucide/MO				•	0,4

*** Significatif à $P \leq 0,001$; NS = non significatif.

Tab. 27 : Matrice de corrélation entre les différents constituants biochimiques élémentaires et le temps chez *C. gigas* (n = 10). Les valeurs entre parenthèses indiquent la probabilité.

Pour le second élevage (Gig 9402), seule la variable protéine/MO et le temps sont corrélés à hauteur de 89 % de façon très significative ($p = 0,0002$). Aucune autre corrélation n'est trouvée entre ce paramètre temps et les rapports lipide/MO, glucide/MO, MO/PS (tab. 28).

	Jour	Protéine/MO	Lipide/MO	Glucide/MO	MO/PS
Jour	1,0	0,9 (***)	-0,5 (NS)	0,1 (NS)	0,5 (NS)
Protéine/MO		•	-0,3	0,4	0,2
Lipide/MO			•	0,3	-0,5
Glucide/MO				•	-0,5

*** Significatif à $P \leq 0,001$; NS = non significatif.

Tab. 28 : Matrice de corrélation entre les différents constituants biochimiques élémentaires et le temps chez *C. gigas* (n = 10). Les valeurs entre parenthèses indiquent la probabilité.

Aucun élément particulier ne se dégage donc au cours de ces deux élevages. En effet, lorsqu'une corrélation entre deux variables a été établie, celle-ci n'est pas constante : le premier élevage démontre une corrélation entre MO/PS et le temps et le second entre le rapport protéine/MO et le facteur temps. Tout semble se passer de façon aléatoire.

2.2 - CORRELATION ENTRE CONSTITUANTS BIOCHIMIQUES ET METAMORPHOSE

Les relations entre paramètres biochimiques acquis en fin d'élevage larvaire chez *P. maximus* (avant le transfert des pédivéligères en micro-nurserie) et métamorphose sont rapportées dans le tableau 29.

De cette matrice seule la seconde ligne sera étudiée ici en détail (ligne en italique), certaines corrélations étant triviales et/ou ne s'inscrivant pas dans l'objectif du présent travail. Il est néanmoins intéressant de noter que le pourcentage de métamorphose est à nouveau corrélé avec le taux de double barre, cette corrélation étant inférieure à celle obtenue précédemment ($r = 0,53$; tab. 29). Par ailleurs, il est rassurant de constater que l'indice de condition larvaire (IC) et l'énergie totale (Σ totale) sont assez bien corrélés ($r = 0,67$ et $p = 0,0005$) car ces deux valeurs sont calculées sur la même base : la matière organique est la somme des lipides, glucides et protides, et l'énergie totale est une somme pondérée de ces trois classes. Le taux de métamorphose est faiblement corrélé avec les paramètres biochimiques excepté avec le pourcentage de lipides, c'est à dire la teneur par rapport à la matière organique. Pour ce paramètre, le taux de corrélation est égal à 0,58 ($p = 0,005$) représentant donc un poids équivalent à celui du pourcentage de double barre pour cette séquence de données (n = 21). Une régression linéaire montre néanmoins que cet

	% //	% métamorphose	PS	Cendres	MO	IC	Protides	Lipides	Glucides	Σ totale	% Protides	% Lipides	% Glucides
% //	1	0,533 (0,012)	0,183 (0,432)	0,230 (0,321)	- 0,025 (0,917)	- 0,377 (0,092)	0,325 (0,153)	0,137 (0,558)	0,294 (0,198)	0,123 (0,601)	0,422 (0,056)	0,297 (0,194)	0,509 (0,017)
% métamorphose	•	1	- 0,148 (0,527)	- 0,197 (0,398)	0,039 (0,869)	0,133 (0,571)	0,221 (0,339)	0,338 (0,136)	0,089 (0,707)	0,356 (0,115)	0,235 (0,309)	0,583 (0,005)	0,108 (0,646)
PS	•	•	1	0,955 ($< 0,0001$)	0,673 (0,0005)	- 0,512 (0,016)	0,232 (0,317)	0,316 (0,165)	0,597 (0,003)	- 0,730 ($< 0,0001$)	- 0,525 (0,013)	- 0,495 (0,021)	- 0,229 (0,322)
Cendres	•	•	•	1	0,424 (0,055)	- 0,733 ($< 0,0001$)	0,038 (0,870)	0,049 (0,836)	0,455 (0,037)	- 0,819 ($< 0,0001$)	- 0,438 (0,046)	- 0,596 (0,004)	- 0,088 (0,707)
MO	•	•	•	•	1	0,269 (0,2414)	0,581 (0,005)	0,842 ($< 0,0001$)	0,668 (0,0006)	- 0,196 (0,399)	- 0,537 (0,011)	- 0,031 (0,897)	- 0,499 (0,020)
IC	•	•	•	•	•	1	0,275 (0,232)	0,496 (0,021)	- 0,051 (0,829)	0,674 (0,0005)	- 0,031 (0,896)	0,543 (0,01)	- 0,341 (0,131)
Protides	•	•	•	•	•	•	1	0,698 (0,0002)	0,523 (0,014)	0,396 (0,075)	0,335 (0,139)	0,373 (0,097)	- 0,046 (0,846)
Lipides	•	•	•	•	•	•	•	1	0,496 (0,021)	0,270 (0,241)	- 0,223 (0,335)	0,502 (0,019)	- 0,404 (0,069)
Glucides	•	•	•	•	•	•	•	•	1	- 0,194 (0,405)	- 0,206 (0,376)	- 0,082 (0,729)	0,233 (0,313)
Σ totale	•	•	•	•	•	•	•	•	•	1	0,678 (0,0005)	0,854 ($< 0,0001$)	0,223 (0,337)
% Protides	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	1	0,479 (0,027)	0,622 (0,002)
% Lipides	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	1	0,138 (0,556)
% Glucides	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	1

Tab. 29 : Matrice de corrélation entre les différents paramètres biochimiques acquis en fin d'élevage larvaire chez *P. maximus* (n = 21). Les valeurs entre parenthèses indiquent la probabilité.

ajustement n'est pas parfait puisque seul 34 % de la variance de la métamorphose est expliquée par celle de la quantité de lipides par larve (fig. 11).

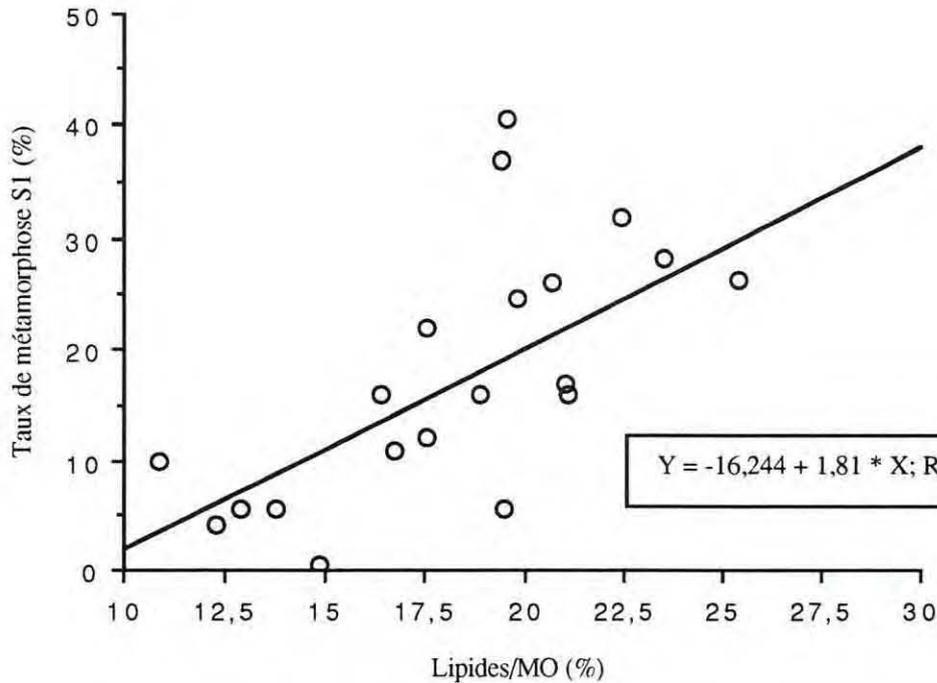


Fig. 11 : Régression linéaire entre les teneurs relatives en lipides et le taux de métamorphose à l'issue de la première semaine d'élevage post-larvaire chez *P. maximus* (n = 21).

Le poids relatif de chacun de ces paramètres (pourcentage de double barre et pourcentage de lipides) nous a conduits à établir une régression multiple intégrant ces deux paramètres. Leur combinaison explique environ 49,5 % de la métamorphose (somme des r^2 partiel ; tab. 30).

Variable	Coefficient de régression	Ecart type	F (1,18)	Probabilité (%)	R ² partiel
Double barre (%)	0,25	0,11	4,9	3,7	0,21
Lipides (%)	145,44	55,17	6,9	1,6	0,28

Tab. 30 : Régression linéaire multiple, variable expliquée = taux de métamorphose, variables explicatives = taux de double barre et taux de lipides (n = 21).

3 - CINÉTIQUE DES AMINES BIOGÈNES AU COURS DU DÉVELOPPEMENT LARVAIRE ET POST-LARVAIRE

3.1 - *CRASSOSTREA GIGAS*

3.1.1 - Evolution au cours de la phase larvaire

Afin de valider notre technique et de comparer nos données avec celles de la littérature (Coon et Bonar, 1986), la cinétique des amines biogènes a été étudiée chez *C. gigas* au cours du développement larvaire. Chez cette espèce l'adrénaline n'a pas été décelée. Sérotonine, dopamine et noradrénaline ont par contre été dosées tout au long de l'élevage larvaire à des teneurs permettant leur quantification. Un seul élevage a été analysé. Pour permettre l'expression des amines biogènes en $\mu\text{g} \cdot \mu\text{g}^{-1}$ de protéines, les résultats obtenus précédemment au cours de l'étude de la composition proximale pendant le développement larvaire ont été utilisés.

Chez *C. gigas* cette régression linéaire est très significative ($p < 0,0001$) et la droite de régression (fig. 12) explique 92 % de la variance de y ($y = 106,925x - 401,656$).

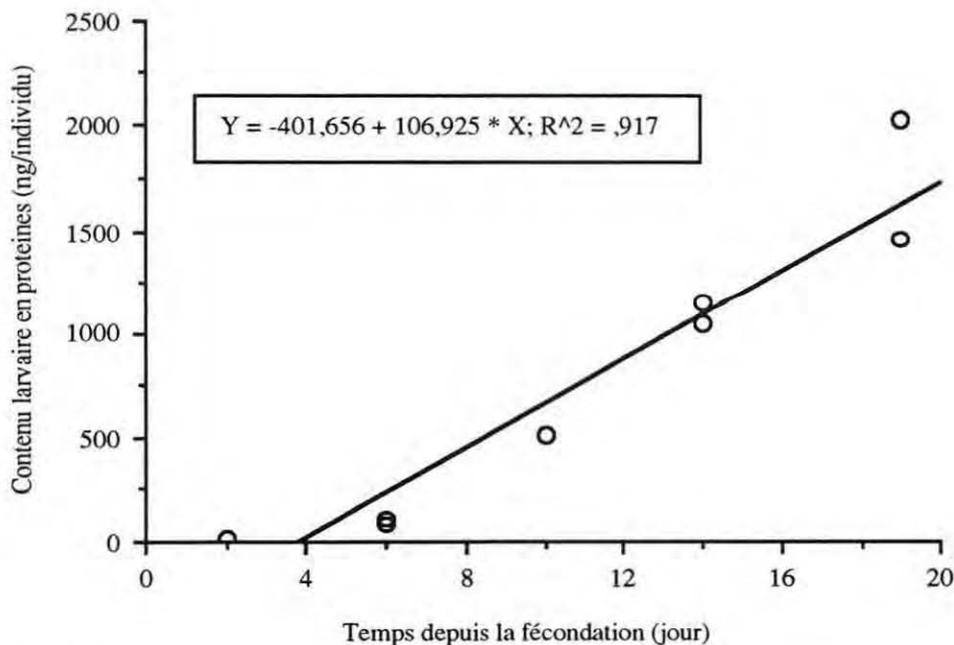


Fig. 12 : Régression linéaire entre le temps (jour) et le contenu larvaire en protéines ($\text{ng} \cdot \text{ind}^{-1}$) chez *C. gigas* ($n = 10$).

Sérotonine

Le taux de sérotonine augmente de façon importante au cours du développement larvaire, quelle que soit son expression (pmol/1 000 individus ou pg. μg^{-1} de protéines). Ainsi les teneurs en sérotonine passent de 1,9 pg. μg^{-1} de protéines le 6^{ème} jour à 29,6 pg. μg^{-1} de protéines le 20^{ème} jour (tab. 31).

Age des larves depuis la fécondation (jour)	Concentration de 5HT (pmol/1 000 individus)	Concentration de 5HT (pg. μg^{-1} de protéines)
6	0,5 (0,1)	1,9 (0,2)
10	1,2 (0,4)	2,9 (1,0)
15	7,8 (1,8)	13,2 (3,0)
20	23,4 (1,2)	29,6 (1,5)

Tab. 31 : Evolution des teneurs moyennes de sérotonine (pmol/1 000 individus et pg. μg^{-1} de protéines) au cours du développement larvaire de *C. gigas*. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts types.

Catécholamines

Dopamine et noradrénaline ne suivent pas la même cinétique au cours du développement larvaire. La dopamine se comporte comme la sérotonine, et augmente au cours du temps. Cette accumulation est régulière, cette progression se faisant par un facteur multiplicatif de 2 à chaque période considérée. La dopamine passe ainsi progressivement de 12,41 pg. μg^{-1} de protéines le 6^{ème} jour d'élevage à 96,71 pg. μg^{-1} de protéines le 20^{ème} jour (tab. 32).

Age des larves depuis la fécondation (jour)	Concentration de DA (pmol/1 000 individus)	Concentration de DA (pg. μg^{-1} de protéines)
6	0,7 (0,4)	12,4 (7,5)
10	2,3 (0,0)	24,8 (0,3)
15	6,9 (1,3)	50,3 (9,6)
20	17,6 (3,5)	96,7 (18,9)

Tab. 32 : Evolution des teneurs moyennes de dopamine (pmol/1 000 individus et pg. μg^{-1} de protéines) au cours du développement larvaire de *C. gigas*. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts types.

La noradrénaline présente des faibles teneurs qui passent de 8,9 pg. μg^{-1} de protéines le 10^{ème} jour à

6,5 pg. μg^{-1} de protéines le 20^{ème} jour en présentant une valeur minimum le 15^{ème} jour (3,1 pg. μg^{-1} de protéines ; tab. 33).

Age des larves depuis la fécondation (jour)	Concentration de NA (pmol/1 000 individus)	Concentration de NA (pg. μg^{-1} de protéines)
6	-	-
10	0.7	8,9 (0,0)
15	0,4 (0,0)	3,1 (0,2)
20	1,1 (0,1)	6,5 (0,7)

Tab. 33 : Evolution des teneurs moyennes de noradrénaline (pmol/1 000 individus et pg. μg^{-1} de protéines) au cours du développement larvaire de *C. gigas*. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts types.

Accumulation journalière

Pour chaque prélèvement, 6^{ème} - 10^{ème} - 15^{ème} et 20^{ème} jour, les accroissements journaliers relatifs en amines biogènes ont été calculés à l'exception de la noradrénaline qui ne présente pas d'évolution constante. Pour des élevages conduits à la température de 25°C, ces différentes dates correspondent à la fois à l'âge des larves et au stade d'évolution suivant : 6^{ème} jour - larve D âgée dite en évolution, 10^{ème} jour - jeune umbonée, 15^{ème} jour - umbonée âgée, 20^{ème} jour - pédivéligère. Pour chaque stade la taille moyenne de l'animal est rapportée. On note que cette accumulation journalière relative est plus forte en fin d'élevage larvaire qu'entre toutes les autres périodes. Ainsi l'accumulation journalière en sérotonine est de 3,3 pg. μg^{-1} de protéines au cours de la troisième semaine, 15^{ème} - 20^{ème} jour (passage du stade umboné âgé au stade pédivéligère oillée) contre 2 pg. μg^{-1} de protéines au cours de la deuxième semaine, 10^{ème} - 15^{ème} jours et 0,3 pg. μg^{-1} de protéines en début de deuxième semaine, 6^{ème} - 10^{ème} jours (tab. 34). Les écarts sont encore plus marqués pour la dopamine qui présente une accumulation journalière de 9,3 pour la période 15^{ème} - 20^{ème} jour alors qu'elle n'est égale qu'à 5,1 entre les 10^{ème} - 15^{ème} jour et 3,1 entre les 6^{ème} et 10^{ème} jour.

Age des larves (jours)	6	10	15	20
Stade	Larve D en évolution	Jeune umbonée	Umbonée âgée	Pédivéligère ocellée
Longueur (μm)	80-90	110-120	220-230	270-280
Sérotonine (pg. μg^{-1} de protéines)	1,9 (0,2)	2,9 (1,0)	13,2 (3,0)	29,6 (1,5)
Accumulation journalière		0,3	2,0	3,3
Dopamine (pg. μg^{-1} de protéines)	12,4 (7,4)	24,8 (0,3)	50,3 (9,6)	96,7 (18,9)
Accumulation journalière		3,1	5,1	9,3
Noradrénaline (pg. μg^{-1} de protéines)	-	8,9 (0,0)	3,1 (0,2)	6,5 (0,7)

Tab. 34 : Evolution des teneurs moyennes de sérotonine, de dopamine et de noradrénaline (pg. μg^{-1} de protéines) et accroissement journalier de ces amines biogènes au cours du développement larvaire de *C. gigas*. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts types.

3.2 - PECTEN MAXIMUS

La validation des techniques d'extraction et d'identification des amines biogènes par notre technique ayant été effectuée sur *C. gigas* (modèle), la cinétique de ces composés a été étudiée sur *P. maximus*, espèce cible de notre étude. Dans un premier temps, trois élevages larvaires de coquille St Jacques ont été suivis de la larve D à la pédivéligère. Comme pour *C. gigas* les amines biogènes seront exprimées à la fois en pmol/1 000 individus et en pg. μg^{-1} de protéines. Dans un second temps, l'évolution de ces amines biogènes a été recherchée en phase post-larvaire dans deux de ces élevages. Pour ce dernier stade, il n'a pas été possible d'établir une relation entre le taux de croissance post-larvaire et le taux de protéines, les échantillons ayant été formolés. De ce fait, pour ce stade les amines biogènes ne seront exprimées qu'en pmol/1 000 individus.

3.2.1 Evolution au cours de la phase larvaire

Chez *P. maximus*, comme chez *C. gigas*, l'adrénaline n'a pas été décelée. Sérotonine, dopamine et noradrénaline ont par contre été dosées tout au long de l'élevage larvaire à des teneurs variables selon les élevages mais suffisantes pour permettre leur quantification.

Sérotonine

La sérotonine présente une teneur croissante tout au long du développement larvaire dans les trois élevages (tab. 35, fig. 13). Cette augmentation est importante au cours de la première semaine jusqu'au 6^{ème} - 8^{ème} jour dans les trois élevages considérés. Les teneurs passent ainsi d'environ 0,3 - 1,3 pmol/1 000 individus à 2 - 4 pmol/1 000 individus, soit un accroissement selon un facteur multiplicatif de 6, 9 et 3 pour les élevages P9701T, P9702A et P9703A respectivement. En début de troisième semaine, les 16^{ème} et 17^{ème} jours, les concentrations atteignent environ 8 pmol/1 000 individus (7,48 à 8,09), soit un accroissement selon un facteur multiplicatif de 4 et 2,5 pour les élevages P9701T et P9702A. Aucune analyse correspondante n'a pu être effectuée pour l'élevage P9703A au cours de cette période. En fin de troisième semaine (20^{ème} - 21^{ème} jour) une moindre augmentation est notée avec des teneurs comprises entre 8,5 et 9,3 pmol/1 000 individus. Au cours de la quatrième semaine (26^{ème} et 27^{ème} jour), une brusque augmentation des teneurs de sérotonine est à nouveau relevée dans les trois élevages, les valeurs étant alors comprises entre 29 et 54 pmol/1 000 individus, soit un facteur multiplicatif d'environ 3,5 - 6 et 3 pour les élevages P9701T, P9702A et P9703A respectivement.

Dopamine

Pour la dopamine, comme pour la sérotonine, une augmentation des teneurs est notée tout au long du développement larvaire et ce pour les trois élevages (tab. 36, fig. 13). Cette augmentation est importante au cours de la première semaine jusqu'aux 6^{ème} - 8^{ème} jour, les teneurs passent ainsi d'environ 0,7 - 1,6 pmol/1 000 individus à 4 - 9 pmol/1 000 individus, soit un accroissement selon un facteur multiplicatif de 6 à 5 pour les élevages P9701T, P9702A et P9703A respectivement. En début de troisième semaine, les 16^{ème} et 17^{ème} jours, les concentrations sont de 13 et de 24 pmol/1 000 individus soit un accroissement d'environ 3 pour les élevages P9701T et P9702A. Pour l'élevage P9703A aucune analyse n'a été effectuée pendant cette période. Une moindre augmentation est notée en fin de troisième semaine (20^{ème} - 21^{ème} jour), avec des teneurs de 23 et 26 pmol/1 000 individus, soit un accroissement d'un facteur 2 et 1 pour les deux élevages P9701T et

Age des larves (jour)	Élevage P9701T	Élevage P9702A	Élevage P9703A
2	0,34 (0,03)	0,37 (0,14)	1,31 (0,09)
6	-	-	3,75 (0,29)
7	1,99 (0,03)	-	-
8	-	3,42 (1,12)	-
10	-	-	4,35 (0,35)
12	4,64 (0,38)	-	-
13	-	5,62 (1,97)	-
16	7,48 (0,38)	-	-
17	-	8,09 (2,16)	-
19	9,46 (0,3)	-	-
20	-	9,28 (2,34)	16,76 (0,83)
21	8,47 (3,51)	-	-
23	11,04 (3,05)	-	-
24	-	24,31 (5,74)	-
26	29,07 (1,24)	-	-
27	-	53,98 (3,08)	50,02 (5,38)

Tab. 35 : Evolution des teneurs moyennes de sérotonine (pmol/l 000 individus) au cours du développement larvaire dans trois élevages de *P. maximus* (P) conduits selon des procédures zootechniques similaires. Les valeurs entre parenthèses indiquent les écarts types.

Age des larves (jour)	Élevage P9701T	Élevage P9702A	Élevage P9703A
2	0,69 (0,19)	1,48 (0,28)	1,62 (1,12)
6	-	-	7,64 (1,04)
7	4,22 (0,03)	-	-
8	-	8,86 (0,65)	-
10	-	-	9,58 (1,43)
12	7,04 (0,86)	-	-
13	-	15,99 (3,41)	-
16	13,36 (0,89)	-	-
17	-	24,33 (0,02)	-
19	20,62 (0,87)	-	-
20	-	25,82 (0,03)	24,10 (0,85)
21	23,32 (0,48)	-	-
23	24,19 (0,35)	-	-
24	-	36,91 (6,56)	-
26	39,74 (3,24)	-	-
27	-	57,60 (10,90)	61,5 (4,00)

Tab. 36 : Evolution des teneurs moyennes de dopamine (pmol/l 000 individus) au cours du développement larvaire dans trois élevages de *P. maximus* (P) conduits selon des procédures zootechniques similaires. Les valeurs entre parenthèses indiquent les écarts types.

Age des larves (jour)	Élevage P9701T	Élevage P9702A	Élevage P9703A
2	-	0,13 (0,01)	0,11 (0,07)
6	-	-	0,49
7	0,21 (0,00)	-	-
8	-	0,92 (0,14)	-
10	-	-	0,82
12	0,73 (0,09)	-	-
13	-	2,84 (0,21)	-
16	1,85 (0,02)	-	-
17	-	4,45 (0,26)	-
19	2,95 (0,35)	-	-
20	-	3,25	4,91
21	3,41 (0,22)	-	-
23	2,70 (0,14)	-	-
24	-	4,58	-
26	4,98	-	-
27	-	7,73	5,96 (1,39)

Tab. 37 : Evolution des teneurs moyennes de noradrénaline (pmol/l 000 individus) au cours du développement larvaire dans trois élevages de *P. maximus* (P) conduits selon des procédures zootechniques similaires. Les valeurs entre parenthèses indiquent les écarts types.

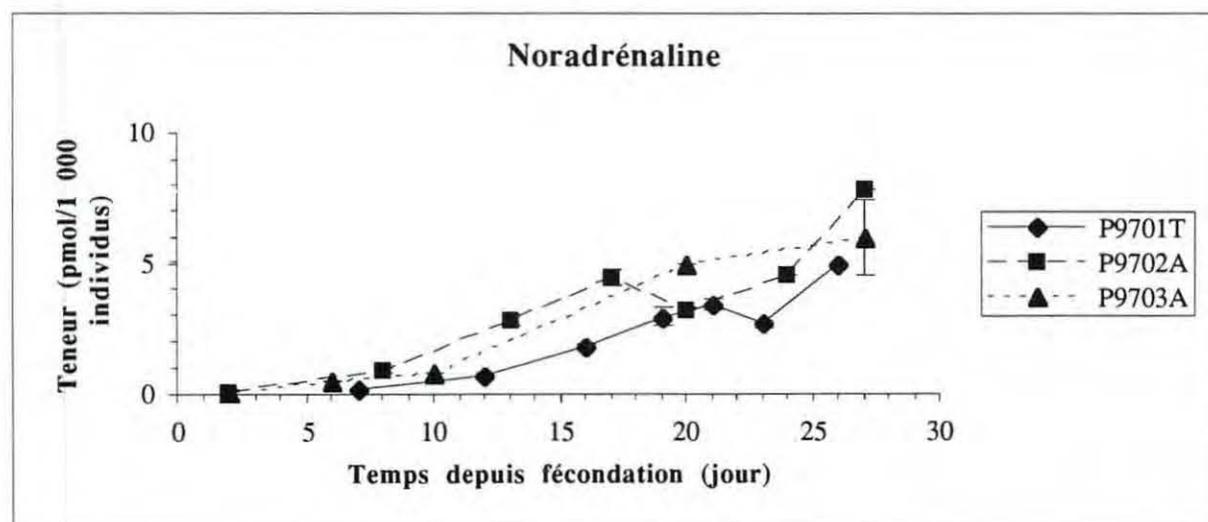
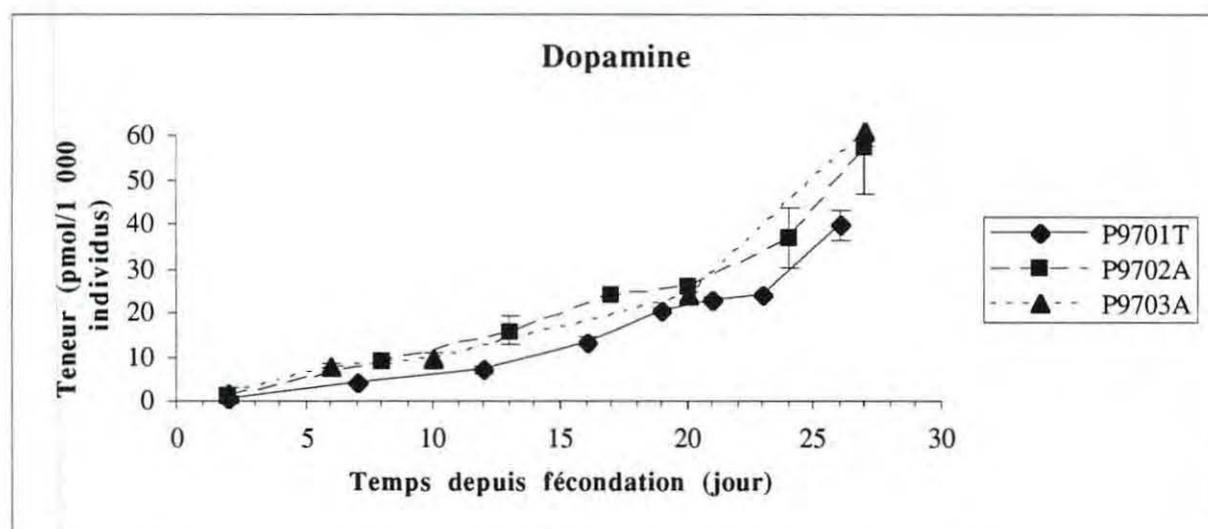
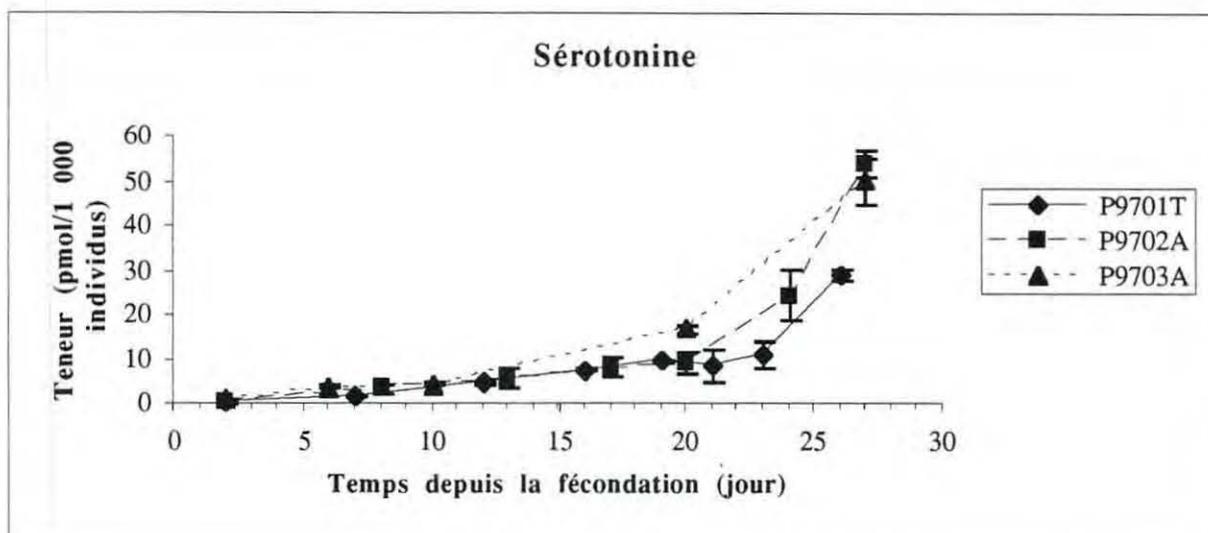


Fig. 13 : Evolution des teneurs moyennes (pmol/1 000 individus) en sérotonine, dopamine et noradrénaline de trois élevages larvaires de *P. maximus* (P) conduits selon des procédures zootechniques similaires. Les barres indiquent les écarts types.

P9702A. Au cours de la quatrième semaine (26^{ème} et 27^{ème} jours), l'augmentation des teneurs de dopamine est plus élevée avec des teneurs comprises entre 40 et 61,5 pmol/1 000 individus, soit un facteur multiplicatif de 2 à 2,5 pour les élevages P9701T, P9702A et P9703A respectivement.

Noradrénaline

La noradrénaline suit la même évolution que la dopamine dans les trois élevages (tab. 37, fig. 13). Une augmentation des teneurs au cours du développement larvaire est notée mais avec une cinétique légèrement différente. Ainsi cet accroissement est important au cours de la première semaine (6^{ème} et 8^{ème} jour), les valeurs passant de 0,11 - 0,13 pmol/1 000 individus le 2^{ème} jour à 0,5 - 0,9 pmol/1 000 individus les 6^{ème} - 8^{ème} jours, soit une accrémentation selon un facteur multiplicatif de 7 et 4 pour les deux élevages (P9702A et P9703A) En début de troisième semaine, les 16^{ème} et 17^{ème} jours, les concentrations sont de 1,9 pmol/1 000 individus pour le premier élevage (P9701T) et de 4,5 pmol/1 000 individus pour le second (P9702A), soit un accroissement respectif de 9 et 5. Aucune analyse correspondante n'a été effectuée au cours de cette période pour l'élevage P9703A. Aux 20^{ème} - 21^{ème} jour, les teneurs n'évoluent quasiment plus alors qu'en quatrième semaine (26^{ème} et 27^{ème} jour) les valeurs atteignent 5 - 7,7 et 6 pmol/1 000 individus pour les élevages P9701T, P9702A et P9703A respectivement, soit une accrémentation selon un facteur multiplicatif de 1,5 - 2,5 et 1.

Pour permettre l'expression des amines biogènes en pg. μg^{-1} de protéines, les résultats obtenus précédemment lors de l'étude de l'évolution de la composition proximale en phase larvaire ont été utilisés. Les données ont été transformées au moyen d'une régression linéaire.

Chez *P. maximus* cette régression linéaire est également fortement significative ($p < 0,0001$) et la droite de régression (fig. 14) explique 91 % de la variance de y ($y = 6,937x + 0,638$).

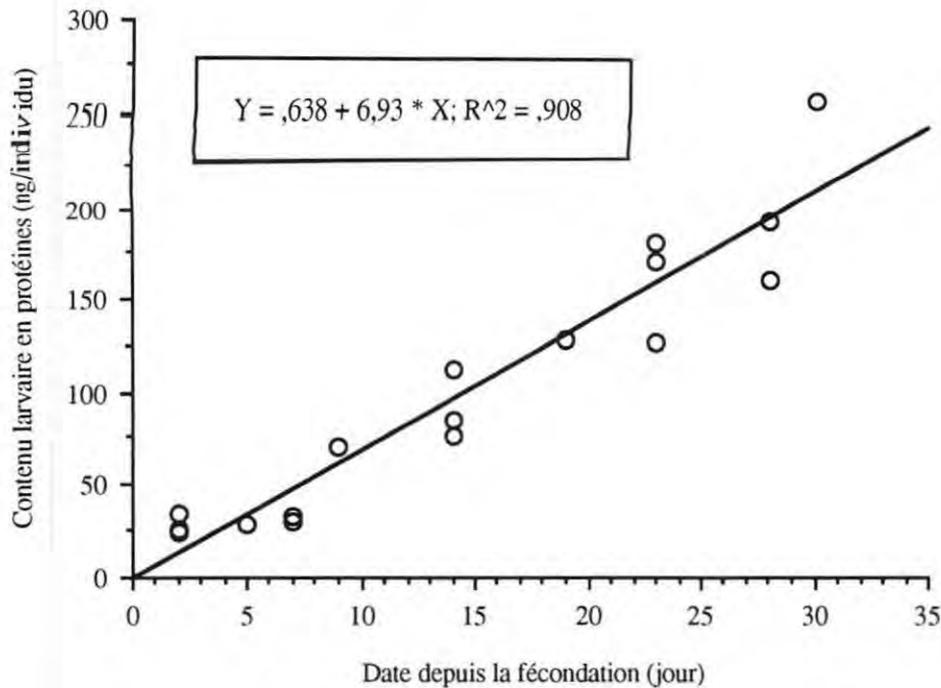


Fig. 14 : Régression linéaire entre le temps (jour) et le contenu larvaire en protéines (ng. ind⁻¹) chez *P. maximus* (n = 17).

Lorsque les amines biogènes sont exprimées en pg. μg^{-1} de protéines leur évolution au cours du temps est sensiblement similaire à celle obtenue précédemment à l'exception de l'élevage P9703A où une légère diminution des teneurs en sérotonine et dopamine est observée au cours des deux premières semaines (tab. 38-39-40). En effet, au 10^{ème} jour les teneurs sont inférieures à celles observées au 6^{ème} jour. Aucune explication n'a été trouvée pour expliquer ce point particulier.

Sérotonine

Au cours des deux premières semaines, les élevages P9701T et P9702A présentent une augmentation régulière des teneurs selon un facteur multiplicatif de 2,5 (4 - 4,5 pg. μg^{-1} de protéines le 2^{ème} jour à 10 - 11 pg. μg^{-1} de protéines les 12^{ème} et 13^{ème} jours ; tab. 38, fig. 15). Puis jusqu'en fin de troisième semaine (20 et 21^{ème} jour), les teneurs restent constantes (10,2 et 11,7 pg. μg^{-1} de protéines pour les élevages P9701T et P9702A) puis augmentent à nouveau au cours de la quatrième semaine. Les valeurs atteignent ainsi 28,3 - 50,6 et 46,9 pg. μg^{-1} de protéines pour les trois élevages soit un accroissement de 3 - 4,5 et 2 pour les élevages P9701T, P9702A et P9703A respectivement.

Age des larves (jour)	Elevage P9701T	Elevage P9702A	Elevage P9703A
2	4,13 (0,29)	4,49 (1,71)	15,84 (1,08)
6	-	-	15,64 (1,23)
7	6,25 (0,09)	-	-
8	-	10,73 (3,50)	-
10	-	-	10,95 (0,88)
12	9,75 (0,80)	-	-
13	-	10,89 (3,81)	-
16	11,81 (0,60)	-	-
17	-	12,01 (3,21)	-
19	12,59 (0,40)	-	-
20	-	11,72 (2,96)	21,19 (1,05)
21	10,19 (4,22)	-	-
23	12,14 (3,36)	-	-
24	-	25,63 (6,05)	-
26	28,30 (1,20)	-	-
27	-	50,60 (2,88)	46,88 (5,04)

Tab. 38 : Evolution des teneurs moyennes de sérotonine (pg. μg^{-1} de protéines) au cours du développement larvaire dans trois élevages de *P. maximus* (P) conduits selon des procédures zootechniques similaires. Les valeurs entre parenthèses indiquent les écarts types.

Age des larves (jour)	Elevage P9701T	Elevage P9702A	Elevage P9703A
2	36,67 (10,22)	78,09 (14,58)	85,22 (58,77)
6	-	-	138,36 (18,76)
7	65,69 (0,41)	-	-
8	-	120,81 (8,80)	-
10	-	-	104,75 (15,59)
12	64,30 (7,83)	-	-
13	-	134,90 (28,70)	-
16	91,64 (6,13)	-	-
17	-	157,14 (0,15)	-
19	119,23 (5,01)	-	-
20	-	141,85 (0,14)	132,43 (4,67)
21	122,07 (2,52)	-	-
23	115,69 (1,66)	-	-
24	-	169,14 (30,06)	-
26	168,16 (13,71)	-	-
27	-	234,73 (44,42)	250,62 (16,30)

Tab. 39 : Evolution des teneurs moyennes en dopamine (pg. μg^{-1} de protéines) au cours du développement larvaire dans trois élevages de *P. maximus* (P) conduits selon des procédures zootechniques similaires. Les valeurs entre parenthèses indiquent les écarts types.

Age des larves (jour)	Elevage P9701T	Elevage P9702A	Elevage P9703A
2	-	7,73 (0,57)	6,56 (3,98)
6	-	-	9,77
7	3,61 (0,09)	-	-
8	-	13,92 (2,07)	-
10	-	-	9,92
12	7,37 (0,95)	-	-
13	-	26,44 (1,91)	-
16	14,03 (0,15)	-	-
17	-	31,78 (1,86)	-
19	18,86 (2,26)	-	-
20	-	19,75	29,80
21	19,71 (1,24)	-	-
23	14,29 (0,75)	-	-
24	-	23,21	-
26	23,28	-	-
27	-	34,81 (3,94)	26,85 (6,27)

Tab. 40 : Evolution des teneurs moyennes en noradrénaline (pg. μg^{-1} de protéines) au cours du développement larvaire dans trois élevages de *P. maximus* (P) conduits selon des procédures zootechniques similaires. Les valeurs entre parenthèses indiquent les écarts types.

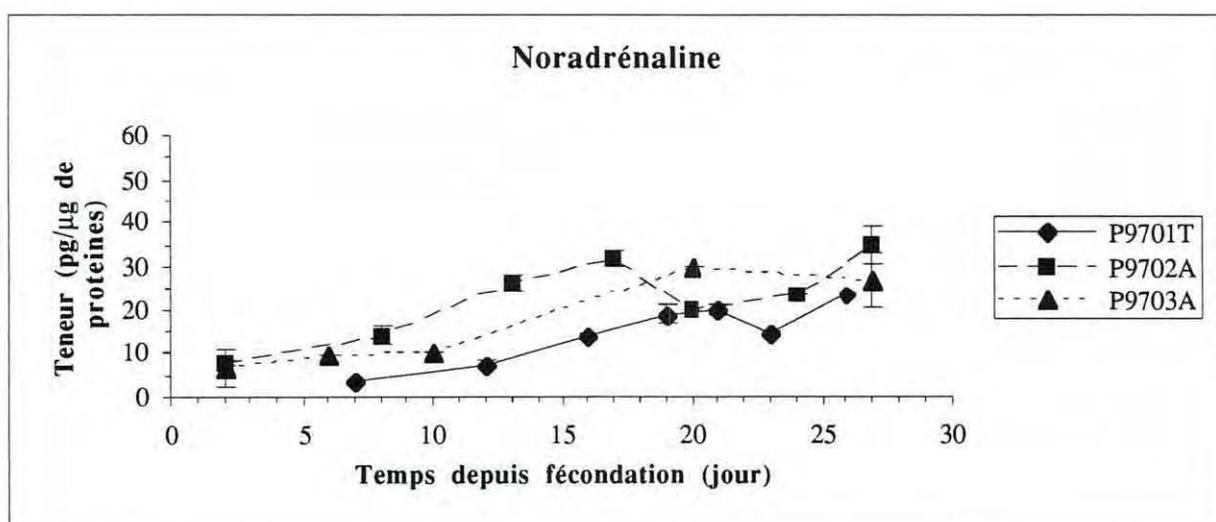
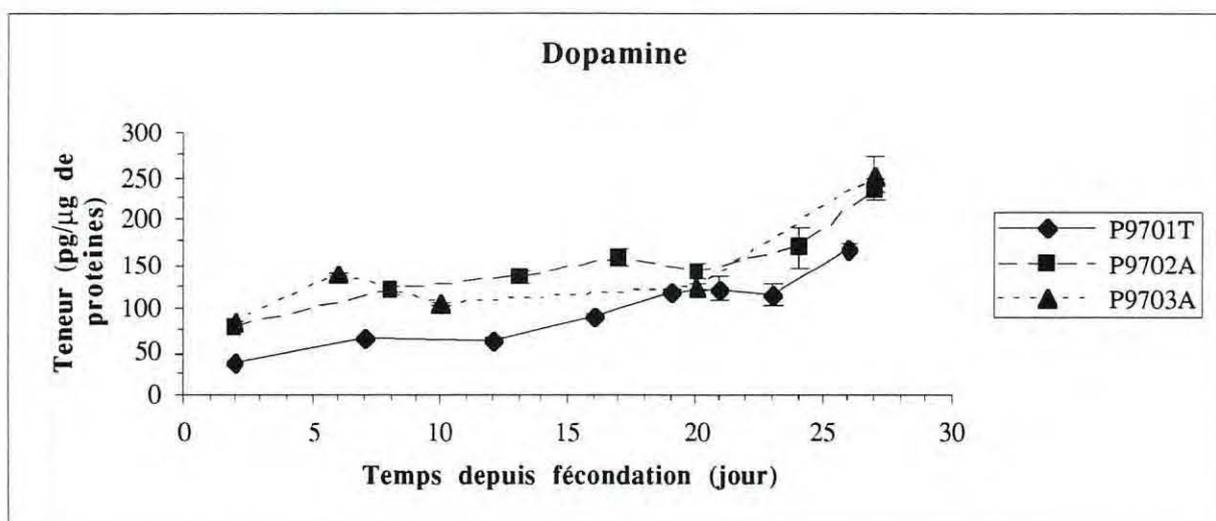
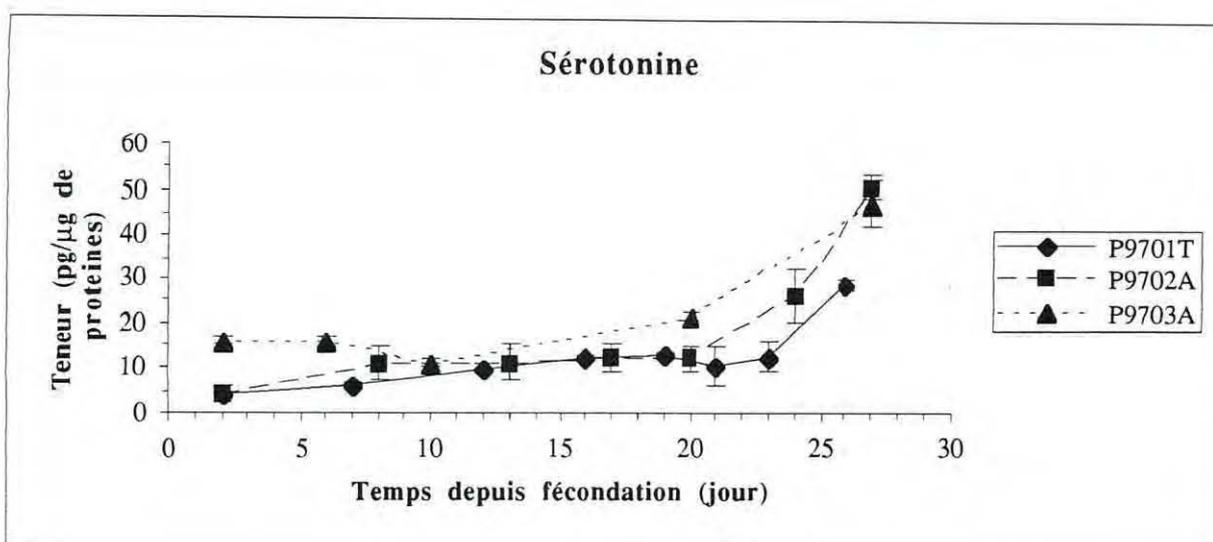


Fig. 15 : Evolution des teneurs moyennes (pg. μg^{-1} de protéines) en sérotonine, dopamine et noradrénaline de trois élevages larvaires de *P. maximus* (P) conduits selon des procédures zootechniques similaires. Les barres indiquent les écarts types.

Dopamine

L'évolution de la dopamine est semblable à celle de la sérotonine. Au cours des deux premières semaines les teneurs passent de 37 - 78 et 85 pg. μg^{-1} de protéines à 92 - 135 et 105 pg. μg^{-1} de protéines pour les élevages P9701T, P9702A et P9703A, soit une augmentation d'un facteur multiplicatif de 2,5 - 1,5 et 1 respectivement (tab. 39, fig. 15). Au cours de la troisième semaine, les teneurs restent constantes puis augmentent à nouveau en quatrième semaine avec des valeurs de 168 - 235 et 251 pg. μg^{-1} de protéines dans les trois élevages, soit un accroissement de 1,5 à 2.

Noradrénaline

Jusqu'aux 13^{ème} - 16^{ème} jour, les teneurs augmentent, passant de 3,6 - 7,7 - 6,6 pg. μg^{-1} de protéines à 14 - 26,4 - 9,9 pg. μg^{-1} de protéines pour les élevages P9701T, P9702A et P9703A respectivement (tab. 40, fig. 15). Ultérieurement jusqu'en début de troisième semaine, à l'inverse des autres composés qui ne cessent d'augmenter, une sensible diminution est notée. Au cours de la quatrième semaine les teneurs augmentent légèrement, les valeurs finales atteignant 23,3 - 34,8 et 26,8 pg. μg^{-1} de protéines pour les élevages P9701T, P9702A et P9703A respectivement.

Accumulation journalière

Pour décrire la cinétique des amines biogènes chez *P. maximus*, trois élevages larvaires ont été suivis. Les séquences de prélèvements n'étant pas rigoureusement identiques la moyenne des différentes teneurs a été établie et les valeurs regroupées selon des séquences hebdomadaires. Ces dernières correspondent à des stades précis de l'évolution larvaire chez la coquille St Jacques : 2^{ème} - 8^{ème} jour, larve D ; 10^{ème} - 16^{ème} jour, jeune umbonée ; 17^{ème} - 23^{ème}, umbonée âgée et 24^{ème} - 27^{ème} jour, pédivéligère double barre. Pour chaque période considérée, l'accumulation journalière pour les différentes amines biogènes est calculée. Pour chaque stade considéré, l'échelle de taille moyenne de la larve est notée.

Là encore, comme chez l'huître, on constate une très forte accumulation journalière relative en fin d'élevage larvaire, les écarts observés étant cependant plus marqués. Ainsi, pour la sérotonine, cette accumulation journalière est de 12,6 pg. μg^{-1} de protéines pour la période 24^{ème} - 27^{ème} jour (passage des larves umbonées au stade double barre) contre 1,6 à 2,2 pg. μg^{-1} de protéines pour les première à troisième semaines (tab. 41). Il en est de même pour la dopamine dont l'accumulation journalière est de 68,6 pg. μg^{-1} de protéines en fin de vie larvaire, celle-ci étant

seulement comprise entre 14 et 22 pg. μg^{-1} de protéines au cours des précédentes semaines. A l'inverse de *C. gigas*, la noradrénaline évolue chez *P. maximus* comme les autres amines biogènes, l'accumulation journalière atteignant 9 pg. μg^{-1} de protéines en fin de vie larvaire contre 1,4 à 3,7 pg. μg^{-1} de protéines pour les autres périodes considérées.

Age des larves (jour)	2 - 8	10 - 16	17 - 23	24 - 27
Stade	Larve D en évolution	Jeune umbonée	Umbonée âgée	Pédivéligère Double barre
Longueur (μm)	90-140	150-170	180-210	230-260
Sérotonine (pg. μg^{-1} de protéines)	9,5 (5,1)	10,8 (2,3)	13,3 (4,6)	37,8 (12,2)
Accumulation journalière	1,6	1,8	2,2	12,6
Dopamine (pg. μg^{-1} de protéines)	84,5 (42,9)	98,9 (30,6)	131,1 (13,1)	205,7 (50,2)
Accumulation journalière	14,1	16,5	21,9	68,6
Noradrénaline (pg. μg^{-1} de protéines)	8,3 (4,2)	14,4 (7,7)	22,4 (6,5)	27,0 (6,4)
Accumulation journalière	1,4	2,4	3,7	9,0

Tab. 41 : Evolution des teneurs moyennes en sérotonine, dopamine et noradrénaline (pg. μg^{-1} de protéines) et accroissement journalier de ces amines biogènes au cours du développement larvaire de *P. maximus*. Les valeurs entre parenthèses indiquent les écarts types.

3.2.2 Evolution au cours de la phase post-larvaire

Deux des élevages précédents, P9702A et P9703A ont été poursuivis en phase post-larvaire pendant deux à quatre semaines. Les quantités en amines biogènes sont évaluées chaque semaine et exprimées en pmol/1 000 individus pour les raisons précédemment évoquées.

A l'issue de la première semaine, les teneurs en sérotonine pour les deux élevages sont du même ordre de grandeur, 26 à 28 pmol/1 000 individus, soit environ 15 fois moins qu'au stade pédivéligère au 27^{ème} jour (tab. 42, fig. 16). Une augmentation des teneurs est obtenue au cours de la deuxième semaine avec des valeurs comprises entre 85 et 89 pmol/1 000 individus. Ultérieurement, une stagnation de ces valeurs est observée, 80 - 85 pmol/1 000 individus pour les troisième et quatrième semaines.

Temps depuis transfert en micro-nurserie (semaine)	Elevage P9702A	Elevage P9703A
1	26,3	28,1 (1,7)
2	88,9	84,7 (31,9)
3	85,4	-
4	80,8	-

Tab. 42 : Evolution des teneurs moyennes de sérotonine (pmol/1 000 individus) dans deux élevages de *P. maximus* au cours du développement post-larvaire. Les valeurs entre parenthèses indiquent les écarts types.

Pour la dopamine, comme pour la sérotonine, les teneurs observées à l'issue de la première semaine, sont du même ordre de grandeur, 28 pmol/1 000 individus, soit 13 fois moins qu'au stade pédivéligère au 27^{ème} jour (tab. 43, fig. 16). Une augmentation des teneurs est observée au cours de la deuxième semaine avec des valeurs comprises entre 87 et 102 pmol/1 000 individus. Par la suite, une diminution progressive des teneurs en dopamine est notée au cours des troisième et quatrième semaines avec des valeurs respectivement égales à 72 et 52 pmol/1 000 individus.

Temps depuis transfert en micro-nurserie (semaine)	Elevage P9702A	Elevage P9703A
1	28,1	28,3 (0,2)
2	86,7	102,0 (34,0)
3	72,1	-
4	52,4	-

Tab. 43 : Evolution des teneurs moyennes de dopamine (pmol/1 000 individus) dans deux élevages de *P. maximus* au cours du développement post-larvaire. Les valeurs entre parenthèses indiquent les écarts types.

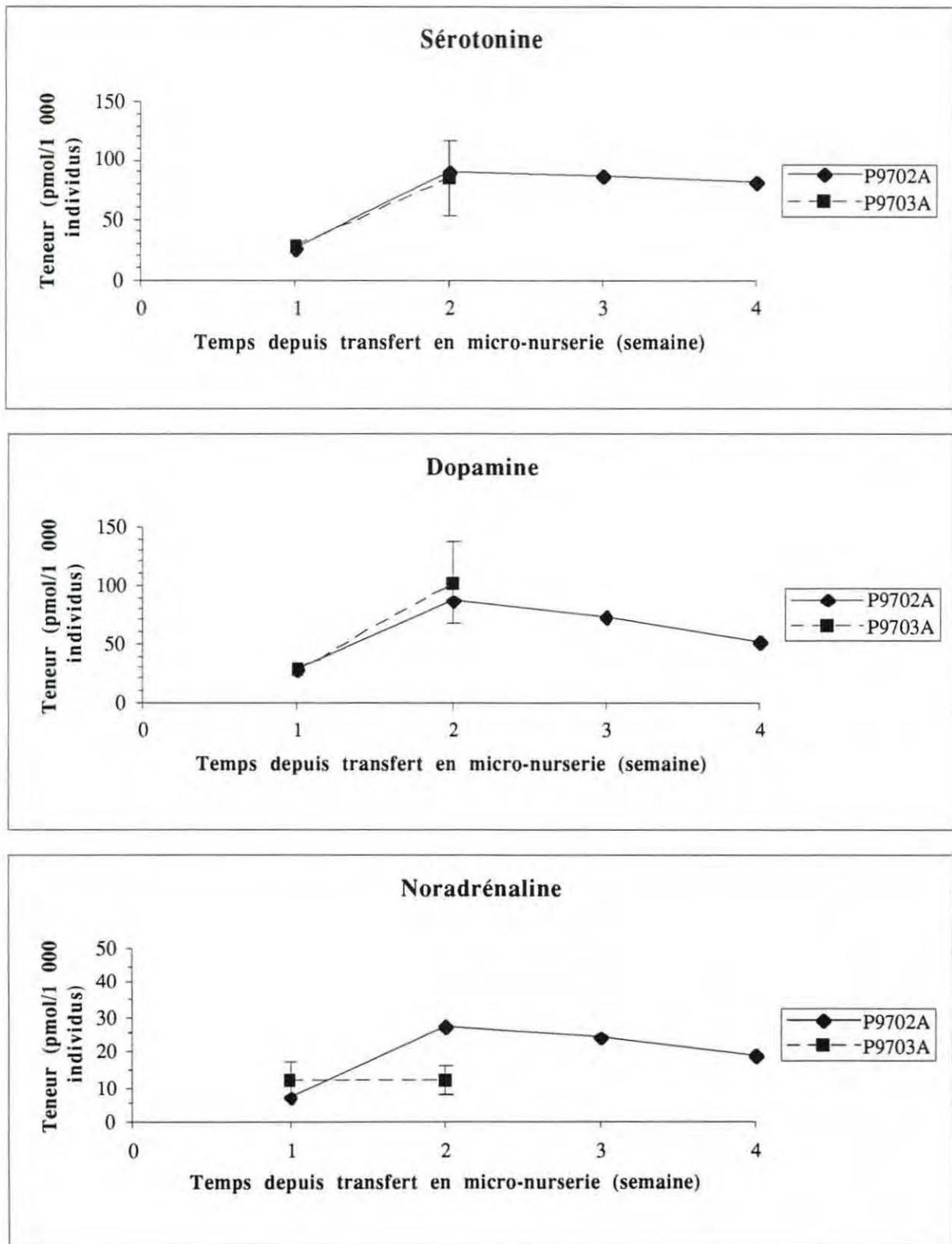


Fig. 16 : Evolution des teneurs moyennes (pmol/1 000 individus) en sérotonine, dopamine et noradrénaline au cours du développement post-larvaire de deux élevages de *P. maximus* (P) conduits selon des procédures zootechniques similaires. Les barres indiquent les écarts types.

L'évolution de la noradrénaline au cours des deux élevages est différente (tab. 44, fig. 16). A l'issue de la première semaine les teneurs sont comprises entre 7 et 12 pmol/1 000 individus, soit environ 5 fois moins qu'au stade pédivéligère, le 27^{ème} jour. Au cours de la deuxième semaine une stagnation de ces valeurs est observée pour l'élevage P9703A, tandis qu'une augmentation des teneurs en deuxième semaine (≈ 28 pmol/1 000 individus), suivie par une diminution progressive est obtenue pour l'élevage P9702A.

Temps depuis le transfert en micro-nurserie (semaine)	Elevage P9702A	Elevage P9703A
1	6,7	11,9 (5,3)
2	27,8	11,9 (3,9)
3	24,3	-
4	18,8	-

Tab. 44 : Evolution des teneurs moyennes de noradrénaline (pmol/1 000 individus) dans deux élevages de *P. maximus* au cours du développement post-larvaire. Les valeurs entre parenthèse indiquent les écarts types.

3.2.3 Evolution globale des amines biogènes de la larve D au stade post-larvaire

Afin d'obtenir l'évolution globale des amines biogènes au cours de la vie larvaire et post-larvaire nous avons fait abstraction des variations inter lots en réalisant la moyenne des données acquises sur chaque élevage. Pour la phase larvaire, les valeurs considérées correspondent à la moyenne des teneurs obtenues sur les deux élevages P9702A et P9703A dont la cinétique est similaire. Pour la phase post-larvaire, les valeurs considérées correspondent à la moyenne de ces deux mêmes élevages P9702A et P9703A qui, là encore, présentent des évolutions comparables excepté pour la noradrénaline en semaine 2 (fig. 17).

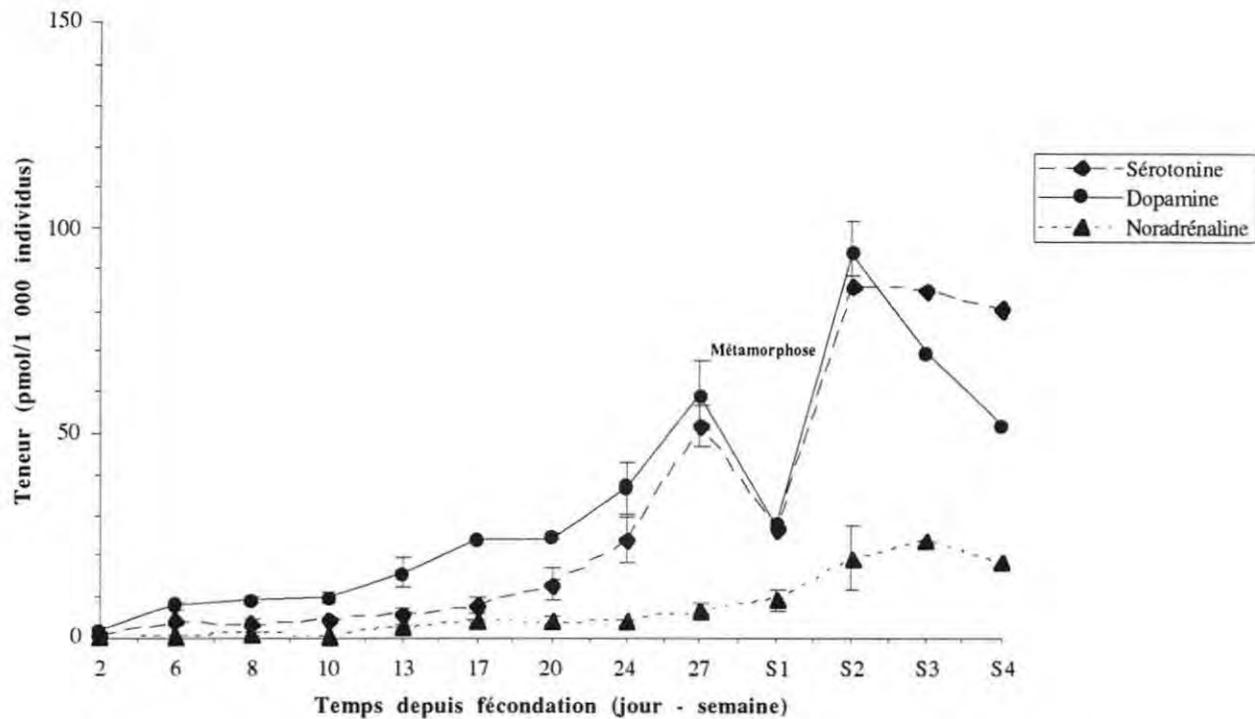


Fig. 17 : Evolution des teneurs moyennes (pmol/1 000 individus) en amines biogènes au cours du développement larvaire et post-larvaire de *P. maximus*. Les barres indiquent les écarts types.

Cette courbe met en avant un accroissement régulier en sérotonine et dopamine du 2^{ème} au 20^{ème} jour avec des teneurs passant de 0,8 à 13 pmol/1 000 individus pour le premier et de 1,6 à 25 pmol/1 000 individus pour le second. Ultérieurement, une forte augmentation en fin de vie larvaire est notée pour ces deux amines (52 et 60 pmol/1 000 individus pour la sérotonine et la dopamine respectivement le 27^{ème} jour). La noradrénaline a un accroissement moins rapide tout au long du développement larvaire, mais les teneurs passent néanmoins de 0,12 pmol/1 000 individus le 2^{ème} jour à 6,8 pmol/1 000 individus avec une faible accumulation en fin de vie larvaire.

Une semaine après le transfert des animaux en micro-nurserie, les teneurs obtenues pour la sérotonine et la dopamine sont du même ordre de grandeur que celles détectées au 20^{ème} jour d'élevage. Ainsi pour la sérotonine les teneurs sont égales à 13 pmol/1 000 individus le 20^{ème} jour et 27 pmol/1 000 individus une semaine après le passage en micro-nurserie. Concernant la dopamine les valeurs sont égales à 25 pmol/1 000 individus le 20^{ème} jour et 28 pmol/1 000 individus une semaine après le transfert des animaux. Par contre au cours de la deuxième semaine les teneurs augmentent, atteignant 87 et 94 pmol/1 000 individus pour la sérotonine et la dopamine respectivement. Par la suite les teneurs diminuent légèrement pour la sérotonine et de façon plus marquée pour la dopamine. Pour la noradrénaline une cinétique différente est notée puisque les teneurs continuent leur progression après la métamorphose avec des valeurs de 9 pmol/1 000

individus une semaine après le passage en micro-nurserie et 20 pmol/1 000 individus au bout de deux semaines.

La métamorphose s'accompagne donc d'une chute des deux amines biogènes, sérotonine et dopamine, accumulées tout au long de la vie larvaire. Cette diminution est ainsi évaluée à 3,5 pmol. j⁻¹ pour la sérotonine, 4,5 pmol. j⁻¹ pour la dopamine.

La métamorphose chez *P. maximus* s'accompagne donc d'une diminution de la sérotonine, de la dopamine et d'une augmentation progressive de la noradrénaline. Les teneurs en amines biogènes en fin d'élevage larvaire pourraient donc être un indicateur de la compétence larvaire à la métamorphose chez la coquille St Jacques. Cependant, dans l'état actuel de nos travaux, il n'est pas possible de confirmer cette hypothèse. Pour ce faire la démarche expérimentale consiste à déterminer sur plusieurs élevages larvaires les concentrations en amines biogènes le jour précédent le transfert des animaux en micro-nurserie et d'établir des corrélations avec les pourcentages de métamorphose à l'issue de la première semaine.

DISCUSSION - CONCLUSION

Dans un premier temps, la recherche d'éléments caractérisant l'état physiologique des pédivéligères à travers l'état des réserves a été opérée. L'étude de la composition biochimique proximale rapportée ici, montre une augmentation au cours du temps des protéines, des lipides et des glucides chez les deux espèces considérées, *Pecten maximus* et *Crassostrea gigas*. Quel que soit l'élevage, les glucides sont présents en faible quantité. Avec des taux compris entre 50 et 75 % de la matière organique, les protéines constituent le composé majeur des larves de *C. gigas* et de *P. maximus*. Avec des teneurs comprises entre 15 et 25 % de la matière organique chez l'huître et 10 à 20 % chez la coquille St Jacques, les lipides forment le deuxième élément de réserve. Toutefois, les contenus en ces différents composés sont beaucoup plus élevés en fin d'élevage chez *C. gigas* que chez *P. maximus*. Ainsi chez l'huître, les protéines atteignent des valeurs comprises entre 1 500 et 2000 ng. ind⁻¹ (tab. 23) contre 250 - 350 ng. ind⁻¹ chez la coquille St Jacques (tab. 18). Les lipides quant à eux ont des valeurs comprises entre 350 et 600 ng. ind⁻¹ chez l'huître et 70 - 85 ng. ind⁻¹ chez la coquille St Jacques (tab. 110). A l'inverse, en début d'élevage (larve D - 2 jours), les contenus en protéines et lipides sont plus forts chez *P. maximus* avec des valeurs 2 à 2,5 fois supérieures (tab. 18 et 23). Les accumulations en ces différents composés biochimiques sont donc beaucoup plus fortes chez *C. gigas*. Pour les protéines et les lipides cette accumulation journalière est environ 10 fois plus importante chez l'huître que chez la coquille, alors que pour les glucides cette accumulation est 7 fois plus importante (tab. 45 et 46).

Lorsque ces élevages de *P. maximus* sont comparés avec les six élevages d'huître conduits à l'écloserie d'Argenton pour une toute autre finalité, les écarts sont moins marqués mais restent cependant notables (tab. 47), accumulation journalière en protéines et lipides 5 à 6 fois plus importante pour l'huître, et pour les glucides 3,5 fois plus importante. Par contre, les accumulations sont inférieures dans les six élevages d'Argenton comparés à ceux de l'écloserie de production où un tamisage plus sélectif a été opéré tout au long de l'élevage (tab. 46 et 47).

	P9401T	P9402A	P9502A
Age des larves (jour)	30	26	33
Longueur moyenne (μm)	211,8	241,7	223,9
Croissance larvaire ($\mu\text{m. j}^{-1}$)	3,9	5,5	3,7
Taux de double barre (%)	17	39,6	11,7
Taux de mortalité (%)	7,9	0	6,4
Taux de métamorphose (%)	12,1 (2,1)	26,2 (2,2)	5,4
Accumulation journalière en protides (ng. ind ⁻¹)	8,3	10,5	9,4
Accumulation journalière en lipides (ng. ind ⁻¹)	2,2	3,2	2,3
Accumulation journalière en glucides (ng. ind ⁻¹)	0,8	1,0	1,1

Tab. 45 : Caractéristiques des élevages de *P. maximus* (P) et accumulations journalières en protides, lipides et glucides au cours de la vie larvaire.

	Gig 9401 Satmar	Gig 9402 Satmar
Age des larves (jour)	19	21
Longueur moyenne (μm)	330,8	353,4
Croissance larvaire ($\mu\text{m. j}^{-1}$)	13,9	13,7
Larves oeillées (%)	79	98
Taux de métamorphose (%)	61,4 (3,8)	36,0 (1,9)
Accumulation journalière en protides (ng. ind ⁻¹)	119,0	76,0
Accumulation journalière en lipides (ng. ind ⁻¹)	35,0	18,0
Accumulation journalière en glucides (ng. ind ⁻¹)	9,4	4,8

Tab. 46 : Caractéristiques des élevages de *C. gigas* (Gig) et accumulation journalière en protides, lipides et glucides au cours de la vie larvaire.

Chez *P. maximus* de fortes différences dans les caractéristiques d'élevage larvaire entre les différents lots sont notées. On constate ainsi qu'il n'existe pas de relation apparente entre les performances de développement larvaire (croissance en $\mu\text{m. j}^{-1}$) et une accumulation plus ou

moins forte des composés biochimiques. L'élevage P9502A qui a un développement larvaire plus faible ($3,7 \mu\text{m. j}^{-1}$) présente une accumulation moyenne en composants biochimiques élémentaires comparable aux autres, pour les autres paramètres mesurés. De même aucune relation évidente ne peut être dégagée entre les caractéristiques biochimiques de l'élevage et la réussite à la métamorphose. Ainsi un élevage présentant de plus faible taux de métamorphose s'avère avoir des teneurs biochimiques semblables aux autres. Par contre, l'élevage présentant le plus faible taux de double barre conduit à un plus faible taux de métamorphose.

Chez *C. gigas* on constate que l'élevage présentant une plus petite longueur moyenne mais un taux de croissance similaire à l'autre élevage conduit à un taux supérieur de métamorphose. Celui-ci semble être relié à des taux plus élevés d'accumulation en composés biochimiques élémentaires.

	Ec	Mc	Ac	Ef	Mf	Af	Moyenne (écart type)
Durée de l'élevage (jour)	32	31	29	27	20	24	
Longueur moyenne (μm)	328,4	327,3	328,0	321,0	323,1	307,34	
Croissance larvaire ($\mu\text{m. j}^{-1}$)	8,5	8,6	8,8	9,6	13,3	10,2	
Larves oeillées (%)	67	83	87	50	72	48	
Taux de métamorphose (%)	Non déterminé						
Accumulation journalière en protides (ng. ind⁻¹)	54,6	47,7	44,8	47,0	86,2	41,4	53,6 (16,6)
Accumulation journalière en lipides (ng. ind⁻¹)	10,6	12,3	12,3	10,5	21,2	9,2	12,7 (4,3)
Accumulation journalière en glucides (ng. ind⁻¹)	3,0	2,1	3,1	3,8	6,7	3,1	3,6 (1,6)

Tab. 47 : Caractéristiques des six élevages d'Argenton de *C. gigas* et accumulation journalière en protides, lipides et glucides au cours de la vie larvaire.

Lorsque l'évolution de ces éléments est analysée au cours du temps, on remarque que dans un des élevages d'huître, une corrélation existe avec le rapport MO/PS tandis que dans le second élevage une corrélation est établie avec la variable protéines/MO.

Chez *P. maximus*, une corrélation entre le temps et la teneur en sucre (MO) est mise en évidence dans seulement deux des trois élevages. Lorsqu'une variable est corrélée avec le temps, cette

corrélation n'est pas constante d'un élevage à l'autre. Tout semble se passer de façon aléatoire. Aucun élément particulier d'accumulation en fin de vie larvaire n'est donc mis en évidence que ce soit chez *P. maximus* ou chez *C. gigas*.

Ces résultats dans le contexte d'écloserie ne concordent que partiellement avec ceux de Dwiono (1992). Ils sont en accord en ce qui concerne l'augmentation de tous les composés principaux en cours de phase larvaire traduisant tout simplement la croissance des animaux. Par contre il notait une accumulation préférentielle des lipides neutres (majorité des lipides) que l'on ne retrouve pas dans nos travaux, tout comme Delaunay *et al.* (1992). Cependant différents auteurs montrent également ces accumulations préférentielles en fin de vie larvaire. Ainsi Whyte *et al.* (1987) montrent une augmentation des lipides à partir du 20^{ème} jour et considèrent de ce fait les lipides comme une réserve probable pour la métamorphose de *Mizuhopecten yessoensis* sans qu'aucune analyse en phase post-larvaire vienne conforter cette hypothèse. Chez *C. gigas* cette même idée est discutée mais His et Maurer (1988) montrent que les protéines représentent 78 % de la matière organique et pourraient de ce fait constituer les éléments de réserve pour la métamorphose de l'huître creuse, confirmant ainsi les travaux de Bartlett (1979). Chez *Ostrea edulis* des informations contradictoires sont apportées. Ainsi Holland et Spencer (1973) montrent une accumulation préférentielle des lipides en cours d'élevage larvaire et leur utilisation en cours de métamorphose. A l'inverse, chez cette même espèce Rodriguez *et al.* (1990), montrent que ce sont les protéines, constituant 70 % de la matière organique, qui assurent ce rôle de réserve en fournissant 62 % de l'énergie requise pour la métamorphose. Les lipides représentent 20 % de la matière organique et, dans ce contexte ne fourniraient qu'un apport énergétique de 28 %. Une accumulation préférentielle en l'un des composé (protéine ou lipide) au cours de la vie larvaire dépendant du régime alimentaire est avancée par ces auteurs.

Aucune accumulation d'un composé spécifique n'ayant été notée, la recherche de critère de compétence à la métamorphose a donc été effectuée de la façon la plus large possible. En ce qui concerne les caractéristiques zootechniques d'élevage, chez *P. maximus* la longueur des pédivéligères en fin d'élevage n'est pas la variable la plus discriminante pour caractériser la métamorphose. Si pour aborder cette dernière une taille minimale est nécessaire ce critère n'est pas pertinent dans une échelle donnée (taille des larves $\geq 220 \mu\text{m}$). Il en est de même pour le taux de croissance pourtant plus approprié pour caractériser le développement larvaire. Des résultats similaires ont été rapportés chez *C. gigas* (Coon *et al.*, 1990) où deux critères ont été abordés, la taille larvaire et le développement de la tache ocellaire. La compétence est corrélée à ces deux critères mais pas dépendante, et il est donc probable que ce phénomène soit général chez les bivalves. Par contre, la métamorphose peut être reliée aux taux de double barre mais ce paramètre n'explique que 45 % du processus. Deux hypothèses peuvent être formulées pour expliquer ce résultat : d'autres variables explicatives existent parmi les paramètres mesurés ou

non mesurées ici (facteurs physico-chimiques d'élevage) et interviennent fortement. Concernant la première, les taux de métamorphose sont faiblement corrélés avec tous les paramètres biochimiques mesurés excepté avec la teneur relative en lipide. La combinaison taux de double barre et teneur relative en lipide explique environ 50 % de la métamorphose (somme des r^2 partiels, tab. 30) sur la seconde série de données ($n = 21$). Par rapport aux seules données zootechniques ($n = 44$), une amélioration d'environ 5 % est apportée par l'emploi de deux variables explicatives qui montrent des poids relatifs équivalents ($r^2 = 0,28$ pour les lipides et $r^2 = 0,21$ pour le taux de double barre, tab. 30). Les seules variables explicatives significatives que notre analyse met en évidence sont le critère morphologique double barre et le critère biochimique % en lipide. Compte tenu de ces premiers résultats nous sommes amenés à considérer l'hypothèse d'une importance significative (50 % de variance résiduelle) des facteurs environnementaux. Rappelons que contrairement à la phase larvaire, l'élevage post-larvaire s'effectue en système ouvert donnant de ce fait un poids effectif à ces facteurs malgré leur relatif contrôle (température, filtration...). Les travaux engagés dans ce sens au laboratoire montrent, d'une part, que les facteurs chimiques (inducteurs ou effecteurs externes) n'interviennent que faiblement sur la métamorphose de *P. maximus* (Nicolas *et al.*, 1998) et que d'autre part, le facteur nutritionnel est dominant. Ainsi de façon triviale, les taux de métamorphose de pédivéligères alimentées ou maintenues à jeun dès leur transfert en micro-nurserie vont du simple au double (60 % vs 30%). Le rôle de l'alimentation est cependant plus complexe puisqu'aucune différence en terme de rendement à la métamorphose n'a été observée lorsque des pédivéligères sont soumis à quatre concentrations phytoplanctoniques croissantes : 7, 17, 35 et 66 cellules. μL^{-1} (Robert, données non publiées).

Les analyses des amines biogènes en HPLC nous ont permis de doser de façon fiable et reproductible la sérotonine, la dopamine et la noradrénaline. Chez *C. gigas* et chez *P. maximus*, les teneurs de sérotonine augmentent au cours du temps. Les quantités en fin d'élevage varient selon les lots : 30 pg. μg^{-1} de protéine pour l'huître contre 28 à 50 pg. μg^{-1} de protéine chez la coquilles St Jacques. Chez *P. maximus*, le passage à la métamorphose s'accompagne d'une chute des concentrations en sérotonine. En fin d'élevage larvaire la quantité est de 52 pmol/1 000 individus contre 27 pmol/1 000 individus au bout d'une semaine d'élevage post-larvaire, soit une disparition de la moitié de la sérotonine.

Pour les amines biogènes, le taux de dopamine est supérieur à celui de la noradrénaline et ce chez les deux espèces. Dans nos travaux, chez l'huître creuse, les teneurs en noradrénaline passent de 6 à 9 pg. μg^{-1} de protéine et les teneurs en dopamine passent de 12 à 97 pg. μg^{-1} de protéine entre les 10^{ème} et 20^{ème} jours d'élevage. Les teneurs déterminées au cours de nos analyses sont nettement supérieures à celles de Coon et Bonar (1986) qui rapportent des teneurs de noradrénaline de 0,06 à 1,1 pg. μg^{-1} de protéine et des teneurs de dopamine de 7,5 à 11,5 pg. μg^{-1} de protéine, soit des valeurs 10 fois moins élevées. Ces écarts peuvent provenir d'une différence

de sensibilité du matériel et/ou des techniques d'extraction utilisées. Ces mêmes auteurs montrent qu'après métamorphose les teneurs sont de 1,0 pg de noradrénaline. μg^{-1} de protéine et de 7,1 pg de dopamine. μg^{-1} de protéine, c'est à dire similaires à celles décelées en pré-métamorphose. A l'inverse, nos travaux montrent que la sérotonine chute après la métamorphose alors que la noradrénaline continue de progresser.

La littérature rapporte que la L-Dopa et les catécholamines (DA, A, NA) sont des dérivés de la tyrosine. Elles interviennent dans différentes fonctions biologiques, en tant qu'hormones, neurotransmetteurs. Elles sont ainsi trouvés dans les ganglions cérébro-pédieux des coquille St Jacques avec des teneurs comprises entre 100 et 500 ng. ganglion⁻¹ en fonction des composés (Paulet *et al.*, 1993). Les dérivés de la tyrosine induisent la fixation d'espèce de bivalves comme *C. virginica* et *Mytilus edulis* (Pawlik et Hadfield, 1990) ; la L-Dopa induit un comportement de recherche de substrat chez *C. gigas*, alors que adrénaline et noradrénaline induisent la métamorphose directement sans phase de recherche préalable de substrat (Bonar *et al.*, 1990 ; Coon *et al.*, 1990). Bonar *et al.* (1990) proposent la L-Dopa comme un médiateur externe qui serait incorporé dans la larve et transformé en dopamine sous l'action des récepteurs aminergiques. Ceci suppose que les catécholamines activent un processus endogène pour la métamorphose et les auteurs proposent la noradrénaline comme médiateur (Bonar *et al.*, 1990). Il n'est pas possible d'extrapoler de telles hypothèses chez *P. maximus* car l'action des inducteurs de la métamorphose est faible chez cette espèce (voir Chapitre 3). De plus les travaux de Coon *et al.* (1990) reposent sur une discrimination entre fixation et métamorphose, tout à fait possible chez l'huître mais pas chez *P. maximus* (fixation temporaire).

Chez *P. maximus* les teneurs en sérotonine et dopamine en fin d'élevage larvaire pourraient constituer un indicateur de la compétence larvaire à la métamorphose. Cependant dans l'état actuel de nos travaux, il n'est pas possible de le confirmer. Pour ce faire il faudrait vérifier dans un premier temps l'intensité de cette disparition sur plusieurs élevages et dans un second temps chercher à relier les teneurs en amines biogènes le jour précédent le transfert des animaux en micro-nurserie et les taux de métamorphose. Le devenir de ces molécules peut néanmoins déjà être posé. Trois hypothèses peuvent être avancées pour expliquer la diminution de la sérotonine et de la dopamine. Ces amines biogènes seraient stockées dans un organe qui disparaîtrait à la métamorphose. Le vélum, le muscle rétracteur du vélum et le muscle adducteur antérieur sont lysés au cours de cette période (Dwiono, 1992). Le stockage de ces composés dans le vélum et les muscles nous semble peu probable et cette hypothèse peu crédible. Le tryptophane et la tyrosine, acides aminés précurseurs de la sérotonine et de la dopamine, pourraient être utilisés au cours de la métamorphose dans la synthèse des protéines, et la diminution de ces deux amines biogènes trouverait ainsi son origine. Pour valider cette hypothèse le dosage des deux acides aminés s'avère nécessaire. Enfin, il n'est pas exclu que durant cette période sérotonine et dopamine soient dégradées respectivement en 5-HIAA (5-Hydroxyindole-3-acetic acid) et HVA

(4-Hydroxy-3-methoxy-phenylacetic acid ; Homovanillic acid). Pour le vérifier le dosage de ces deux métabolites doit être effectué.

Ces premiers résultats confirment donc le bien fondé de l'utilisation du taux de double barre comme critère de compétence à la métamorphose, celui-ci est cependant insuffisant. La relation entre taux de métamorphose et teneur en lipides a été démontrée, celle-ci ayant un poids équivalent voire supérieur à celui du taux de double barre. Il serait donc judicieux de prendre en considération ce descripteur pour apprécier la métamorphose. En ce qui concerne les amines biogènes, elles pourraient jouer un rôle dans la métamorphose de *P. maximus*. Des travaux complémentaires sont cependant indispensables pour confirmer la relation entre cinétique des amines biogènes et métamorphose.

CHAPITRE 3

FACTEURS CHIMIQUES

FACTEURS CHIMIQUES

INTRODUCTION	106
RESULTATS	109
1 - ADRENALINE	109
1.1 - EFFET TEMPS	109
1.2 - EFFET DOSE	113
2 - L DOPA	118
2.1 - EFFET TEMPS	118
2.2 - EFFET DOSE	119
3 - JACARANONE	123
3.1 - EFFET TEMPS	123
3.2 - EFFET DOSE	123
4 - KCl	126
4.1 - EFFET DOSE	126

5 - NH₄Cl	127
5.1 - EFFET DOSE	127
6 - RHODYMENIA SP	128
6.1 - EXTRAIT LYOPHILISE	128
6.2 - EXTRAIT ALCOOLIQUE	131
DISCUSSION	136

INTRODUCTION

La métamorphose de nombreux invertébrés marins peut être induite par des produits chimiques divers dont les modes d'action sont mal définis et dont la nature varie avec les espèces considérées.

Bien que le rôle des facteurs chimiques ait été suspecté depuis longtemps (Zobell et Allen, 1935 ; Cole et Knight-Jones, 1939 ; Hidu, 1969), il faudra attendre les années 80 pour que cette voie se développe, suite aux travaux de Morse *et al.* chez *Haliotis tuberculata* (1979) et ceux de Weiner et Colwell chez *Crassostrea virginica* (1982). Deux écoles sont apparues : l'une considère que le film bactérien qui recouvre toute surface immergée est essentiel et agit par un mécanisme du type "clé-serrure" pour fixer les larves qui se métamorphosent ultérieurement. L'autre estime que ce sont des petites molécules qui agissent comme effecteurs externes pour déclencher un processus hormonal interne. Ces travaux concernent essentiellement les Ostréidés avec les huîtres creuses *C. gigas* (Coon *et al.*, 1985) et *C. virginica* (Coon *et al.*, 1986) et l'huître européenne, *Ostrea edulis* (Shpigel *et al.*, 1989). Par contre, chez les Pectinidés les travaux sont rares. Or, les pélecypodes épigés ne présentent pas tous le même type de fixation. Dans le cas des Ostréidés, la larve se fixe rapidement au substrat grâce à un ciment sécrété par le pied (Cranfield, 1973) et l'animal reste fortement ancré à son support (Medcof, 1961). Dans le cas des Pectinidés et Mytilidés, cette fixation s'effectue par l'intermédiaire de filaments byssogènes terminés par des disques adhésifs (Caddy, 1972), et la jeune post-larve garde la possibilité de se détacher, de se déplacer et de se fixer à nouveau (Beaumont et Barnes, 1992). En conséquence, l'impact des signaux chimiques sur la métamorphose des Pectinidés et des Ostréidés peut être différent. L'adoption d'un seul modèle de contrôle de la métamorphose ne semble pas satisfaisant.

C'est dans ce sens que les travaux concernant l'influence des facteurs chimiques sur la métamorphose ont été développés. L'huître *C. gigas* constitue dans ce travail l'espèce modèle, référencée dans de nombreux travaux, tandis que la coquille Saint Jacques, *Pecten maximus* est l'espèce cible sur laquelle l'amélioration des processus de métamorphose est recherchée. Pour discriminer au mieux les effets des molécules testées, la plupart des expériences sont réalisées en parallèle sur les deux espèces, dans un même environnement d'élevage (site, eau, techniques d'élevages...). Le choix des molécules testées, adrénaline - L-Dopa - NH₄Cl - KCl, a été établi

pour leur effet reconnu chez de nombreuses espèces (références dans le tableau 48), ou par des observations préliminaires sur *P. maximus* (jacaranone). L'ensemble des résultats concernant l'effet de ces différentes molécules sur la métamorphose des bivalves est consigné dans le tableau 48.

Au Chili, dans la baie d'Antofagasta les larves du pétoncle *Argopecten purpuratus* se fixent principalement sur une algue rouge *Rhodymenia sp* (Miguel Avendano, 1997, comm. pers.). La recherche d'inducteur naturel a donc été effectuée à partir d'extraits de cette algue.

Espèces	Inducteurs	Valeur optimale déclenchant la métamorphose	Références bibliographiques
<i>Crassostrea gigas</i>	L-Dopa	10 ⁻⁵ M, sans fixation	Cooper, 1982
	L-Dopa	métamorphose sans fixation	Cooper, 1984
	L-Dopa	2,5 10 ⁻⁵ M, fixation + métamorphose	Coon <i>et al.</i> , 1985
	Adrénaline	10 ⁻⁴ M, pas de fixation	
	Noradrénaline		
	L-Dopa	10 ⁻⁴ M	McAnally Salas <i>et al.</i> , 1989
	Adrénaline	10 ⁻³ M, pas de fixation	
	Noradrénaline		
	Adrénaline	10 ⁻⁴ M	Coon et Bonar., 1987
	Noradrénaline		
	L-Dopa	10 ⁻⁴ M, étude sur la compétence	Coon <i>et al.</i> , 1990
	Adrénaline		
<i>Crassostrea gigas</i> <i>Crassostrea virginica</i>	L-Dopa	10 ⁻⁴ M	Bonar, 1991
	Adrénaline		
	Noradrénaline		
	L-Dopa	10 ⁻⁴ M, pas de fixation	Beiras et Widdows, 1996
	Adrénaline		
	Noradrénaline		
<i>Crassostrea gigas</i> <i>Crassostrea virginica</i>	KCl	20 mM	
	NH ₄ ⁺	inactif	
	Adrénaline	10 ⁻⁴ M, pas de fixation (noradrénaline - bon)	Coon <i>et al.</i> , 1986
	Noradrénaline		
	L-Dopa	10 ⁻⁵ M	Bonar <i>et al.</i> , 1990
	Adrénaline	10 ⁻⁵ M	
	Noradrénaline	10 ⁻⁴ M	
<i>Crassostrea gigas</i> <i>Crassostrea virginica</i>	Adrénaline	10 ⁻⁴ M, <i>C. gigas</i> réagit mieux	Haws et Dimichele, 1993
	L-Dopa	contrôle la fixation	Coon <i>et al.</i> , 1988
	Adrénaline	contrôle la métamorphose	
	NH ₄ ⁺	comportement de recherche	Walch <i>et al.</i> , 1988
<i>Ostrea edulis</i>	Adrénaline	meilleur effet de la combinaison adrénaline et brisure	Shpigel <i>et al.</i> , 1989
<i>Saccostrea commercialis</i>	KCl	8 - 12 mM	Nell et Holliday, 1986
	CuCl ₂		
<i>Chlamys hastata</i>	L-Dopa	pas d'effet	Hodgson et Bourne, 1988
<i>Chlamys islandica</i>	Algue rouge	effet positif	Harvey <i>et al.</i> , 1993
<i>Mizuhopecten yessoensis</i>	L-Dopa	10 ⁻⁴ M	Kingzett <i>et al.</i> , 1990
	Adrénaline	10 ⁻⁴ M à 10 ⁻⁶ M, pas de différences	
	Noradrénaline		
	Sérotonine	10 ⁻⁴ M, peu d'effet	
	NH ₄ ⁺	10 ⁻² M 30', 0,5 10 ⁻² M 10-30-60'	
<i>Pecten maximus</i>	L-Dopa	5 10 ⁻⁶ M	Chevolot et Cochard, 1989
	Adrénaline	5 10 ⁻⁶ M	
	Noradrénaline	pas d'effet, forte mortalité	
	Jacaranone	5 10 ⁻⁶ M	
	L-Dopa	1 mg. L ⁻¹	Chevolot <i>et al.</i> , 1991
<i>Pecten maximus</i>	Adrénaline	1 mg. L ⁻¹	
	Noradrénaline	pas d'effet	
	Jacaranone	0,5 mg. L ⁻¹	
<i>Mytilus edulis</i>	L-Dopa	10 ⁻⁵ M	Eyster et Pechenik, 1987
	KCl	élévation de 5 à 20 mM, pas de réponse	
<i>Crepidula fornicata</i>	KCl	20 mM, effet positif	Pechenik et Heyman, 1987

Tab. 48 : Synthèse bibliographique de l'action des inducteurs utilisés dans ce travail chez les mollusques.

RESULTATS

1 - ADRÉNALINE

1.1 - Effet temps

Chez *Crassostrea gigas*, à la teneur de 1 mg. L⁻¹ d'adrénaline, le nombre de post-larves compris entre 85 et 90 % est constant, quelle que soit la durée de la baignation. Par contre, seules 30 % de post-larves sont dénombrées chez les témoins (tab. 49, fig. 18). De plus, 70 à 75 % de ces post-larves ne sont pas fixées alors que ce nombre ne représente que 6 % de la population chez les témoins.

Par ailleurs, une faible mortalité post-larvaire est relevée dans tous les élevages soumis à l'adrénaline, quelles que soient les conditions (< 5 %).

	Temps (heures)					
	0 (témoin)	2	6	12	24	48
Taux de fixation (%)	23,4	11,8	15,5	20,0	11,4	14,4
Taux de métamorphose (%)	29,4 (3,3)	85,9 (1,1)	86,5 (1,2)	90,2 (2,6)	85,5 (1,1)	85,0 (0,2)
Mortalité post-larvaire (%)	18,7	5,0	3,5	2,7	3,5	2,7
Nombre de larves (%)	71,3	13,8	13,3	9,1	14,4	15,1
Mortalité larvaire (%)	98,4	82,5	84,2	74,8	87,2	88,1

Tab. 49 : Influence du temps de contact de l'adrénaline (1 mg. L⁻¹) sur la fixation, la métamorphose et les mortalités de *C. gigas*. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts types.

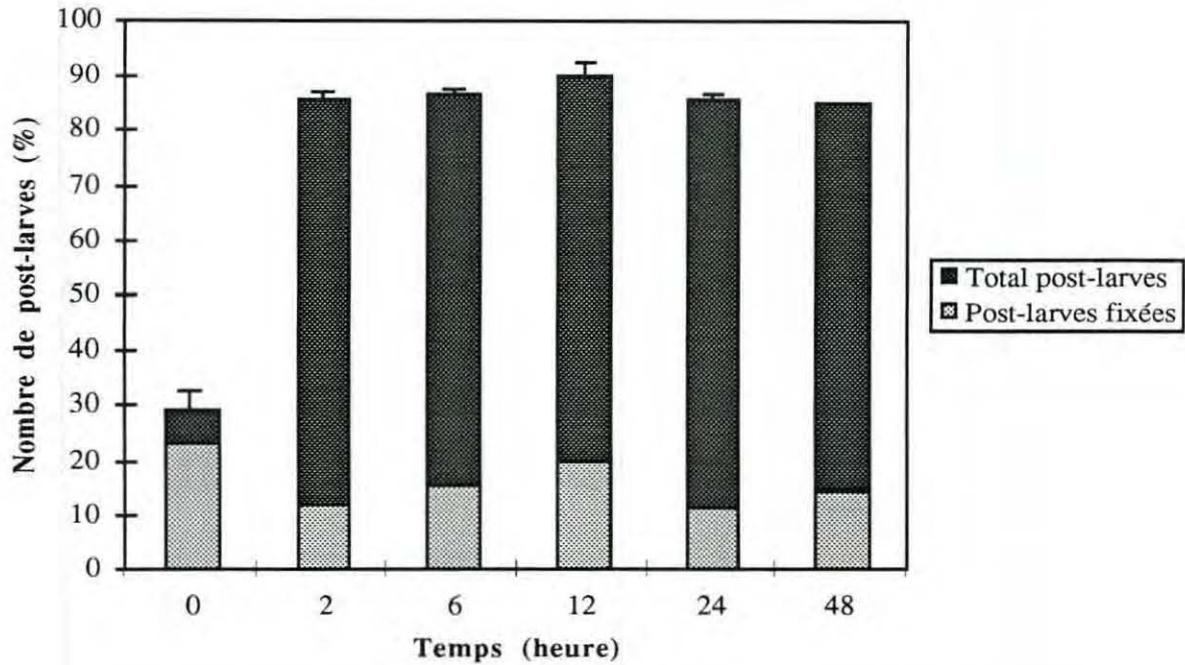


Fig. 18 : Influence du temps de contact de l'adrénaline (1 mg. L^{-1}) sur la fixation et la métamorphose de *C. gigas*. Les barres représentent les écarts types.

Une analyse de variance à un facteur met en évidence l'effet significatif au seuil de 0,1 % du facteur durée de la baignation sur le taux de métamorphose (tab. 50).

Variable	DL	CM	F ratio	P
Temps	5	1941,3	236,4	(***)
Résiduelle	8	8,2		

*** Significatif à $P \leq 0,001$.

DL = degré de liberté. CM = carré moyen.

Tab. 50 : Action de la durée de baignation de l'adrénaline sur la métamorphose de *C. gigas*.

Cependant un test de comparaison multiple de moyennes montre que les différences de métamorphose ne sont significatives qu'entre le témoin et les autres valeurs (tab. 51).

Groupes	0	2	6	12	24	48
0	•	(***)	(***)	(***)	(***)	(***)
2		•	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)
6			•	(NS)	(NS)	(NS)
12				•	(NS)	(NS)
24					•	(NS)
48						•

*** Significatif à $P \leq 0,001$; NS = non significatif.

Tab. 51 : Effet de la durée de baignade de l'adrénaline sur la métamorphose de *C. gigas*. Un test de comparaison multiple de Scheffé montre les différences entre les temps d'exposition (groupes).

Chez *Pecten maximus*, à la teneur de 1 mg. L^{-1} d'adrénaline, le nombre de post-larves augmente en fonction de la durée de l'exposition. Ainsi, après 24 heures, 18 % de post-larves sont dénombrées, contre 1 % chez les témoins. De plus, toutes les post-larves sont fixées (fig. 19). Cependant, quelle que soit sa durée, cette baignade n'entraîne ni mortalités post-larvaires (tab. 52, fig. 19), ni d'importantes mortalités larvaires (12 % après 48 heures d'exposition contre 4 % chez les témoins).

	Temps (heures)					
	0 (témoin)	2	6	12	24	48
Taux de métamorphose (%)	1,2 (0,3)	3,1 (1,8)	9,6 (2,9)	8,3 (0,1)	18,0 (9,0)	13,3 (6,6)
Mortalité post-larvaire (%)	0,0	0,0	0,0	0,0	1,5	2,8
Nombre de larves (%)	98,8	96,9	90,4	91,7	82,0	86,7
Mortalité larvaire (%)	3,9	9,5	11,5	12,9	13,1	11,6

Tab. 52 : Influence du temps de contact de l'adrénaline (1 mg. L^{-1}) sur la métamorphose et les mortalités de *P. maximus*. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts types.

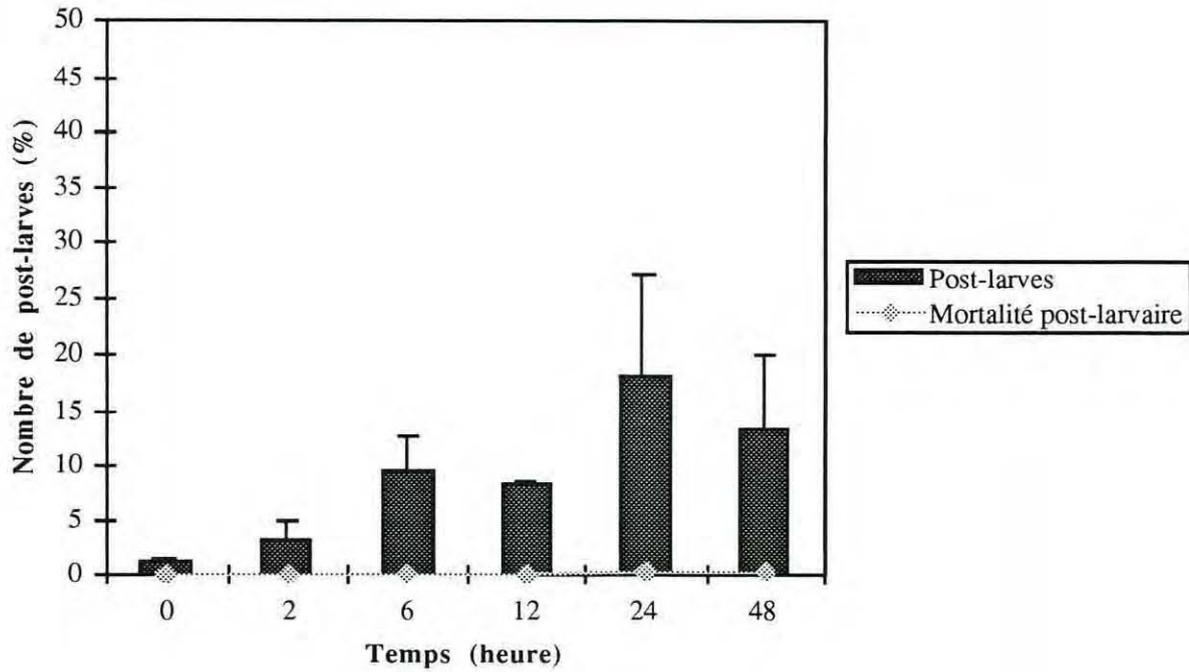


Fig. 19 : Influence du temps de contact de l'adrénaline (1 mg. L⁻¹) sur la métamorphose et la mortalité post-larvaire de *P. maximus*. Les barres représentent les écarts types.

Une analyse de variance à un facteur met en évidence l'effet significatif au seuil de 5 % du facteur durée de la baignation sur le taux de métamorphose (tab. 53).

Variable	DL	CM	F ratio	P
Temps	5	98,6	5,7	(*)
Résiduelle	8	17,2		

* Significatif à $P \leq 0,05$.

DL = degré de liberté. CM = carré moyen.

Tab. 53 : Action de la durée de baignation de l'adrénaline sur la métamorphose de *P. maximus*.

Cependant, un test de comparaison multiple de moyennes montre que les différences de métamorphose ne sont significatives qu'aux valeurs quasi extrêmes, 0 et 24 heures, la forte variabilité intra-lot masquant l'effet temps (tab. 54).

Groupes	0	2	6	12	24	48
0	•	(NS)	(NS)	(NS)	(*)	(NS)
2		•	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)
6			•	(NS)	(NS)	(NS)
12				•	(NS)	(NS)
24					•	(NS)
48						•

* Significatif à $P \leq 0,05$; NS = non significatif.

Tab. 54 : Effet de la durée de baignade de l'adrénaline sur la métamorphose de *P. maximus*. Un test de comparaison multiple de Scheffé montre les différences entre les temps d'exposition (groupes).

1.2 - Effet dose

Chez *C. gigas*, 30 % de métamorphose sont enregistrés chez les témoins mais une forte augmentation du nombre de post-larves est notée aux concentrations supérieures à 0,1 mg. L⁻¹ (tab. 55, fig. 20). Ainsi à cette valeur celui-ci atteint 71 % et ce pourcentage augmente jusqu'à la teneur de 0,5 mg. L⁻¹ (82 %) puis se stabilise ultérieurement (85 %).

Aux plus faibles teneurs, 0,1 et 0,2 mg. L⁻¹, le nombre de post-larves non fixées est nettement supérieur à celui dénombré chez les témoins, 37 à 47 % (vs 6 % chez les témoins). Mais ces taux sont encore supérieurs aux plus fortes concentrations (60 à 75 %). Parallèlement à l'augmentation des teneurs en adrénaline, une diminution des mortalités post-larvaires est constatée (tab. 55).

	Concentration (mg. L ⁻¹)							
	0 (témoin)	0,1	0,2	0,5	1	2	5	10
Taux de fixation (%)	23,4	33,9	27,9	12,2	12,3	9,9	13,6	10,4
Taux de métamorphose (%)	29,4 (3,3)	71,0 (0,4)	75,4 (5,0)	82,0 (2,6)	84,6 (0,4)	82,7 (2,0)	84,1 (5,9)	72,8 (6,9)
Mortalité post-larvaire (%)	18,7	10,5	14,3	9,5	1,4	2,5	2,0	2,3
Nombre de larves (%)	70,6	28,9	24,6	18,0	15,3	17,3	15,8	27,2
Mortalité larvaire (%)	98,4	84,4	88,7	90,1	95,7	95,4	96,1	98,3

Tab. 55 : Influence de teneurs croissantes en l'adrénaline (mg. L⁻¹) sur la fixation, la métamorphose et les mortalités de *C. gigas*. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts types.

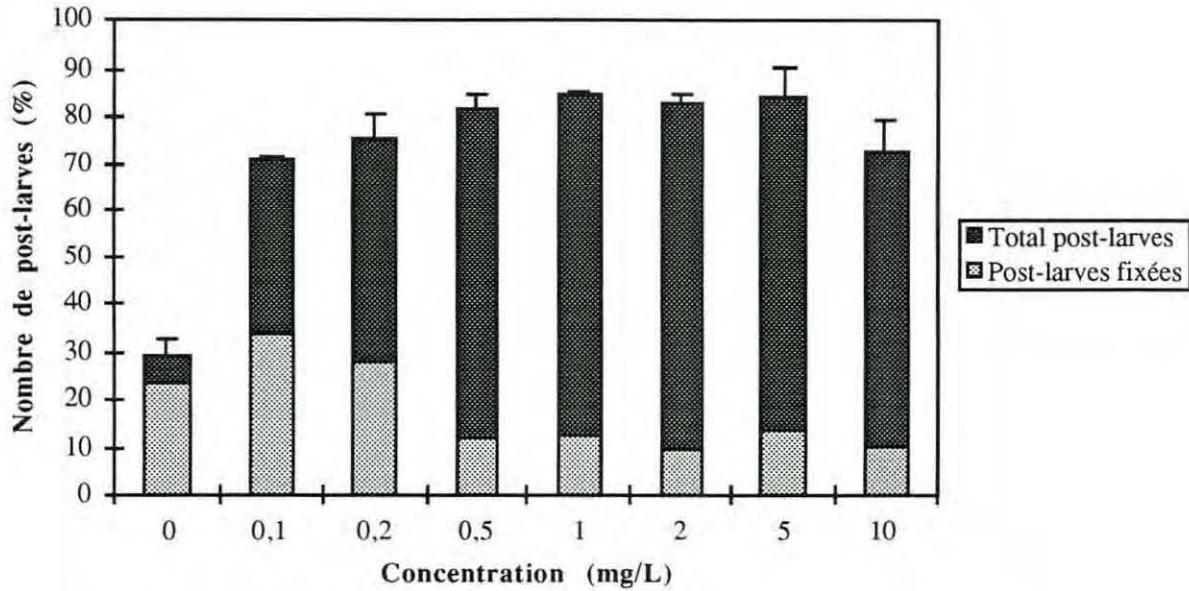


Fig. 20 : Influence de teneurs croissantes en adrénaline (mg. L^{-1}) sur la fixation et la métamorphose de *C. gigas*. Les barres représentent les écarts types.

Une analyse de variance démontre l'influence significative au seuil de 0,1 % du facteur concentration sur le taux de métamorphose de *C. gigas* (tab. 56).

Variable	DL	CM	F ratio	P
Concentration	7	1243,2	43,9	(***)
Résiduelle	10	28,3		

*** Significatif à $P \leq 0,001$.

DL = degré de liberté. CM = carré moyen.

Tab. 56 : Action de la concentration d'adrénaline (mg. L^{-1}) sur la métamorphose de *C. gigas*.

Un test de comparaison multiple de moyennes montre que ces différences ne sont en fait significatives qu'entre le témoin et toutes les autres teneurs (tab. 57). Aucune différence n'est observée entre les autres groupes, démontrant ainsi que l'action de cette molécule est optimale dès $0,1 \text{ mg. L}^{-1}$.

Groupes	0	0,1	0,2	0,5	1	2	5	10
0	•	(***)	(***)	(***)	(***)	(***)	(***)	(***)
0,1		•	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)
0,2			•	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)
0,5				•	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)
1					•	(NS)	(NS)	(NS)
2						•	(NS)	(NS)
5							•	(NS)
10								•

*** Significatif à $P \leq 0,001$; NS = non significatif.

Tab. 57 : Effet de la concentration en adrénaline (mg. L^{-1}) sur la métamorphose de *C. gigas*. Un test de comparaison multiple de Scheffé montre les différences entre les concentrations (groupes).

Chez *P. maximus*, exposé pendant 24 h à l'adrénaline, le taux de métamorphose augmente de 17 à 32 % (contre 1 % chez les témoins) au bout d'une semaine pour des teneurs comprises entre 2 et 10 mg. L^{-1} (tab. 58, fig. 21). Cependant, quelle que soit la concentration, toutes les post-larves sont fixées et les mortalités post-larvaires restent faibles, inférieures à 4 % (fig. 21). La teneur de 10 mg. L^{-1} provoque le maximum de métamorphose.

	Concentration (mg. L^{-1})							
	0 (témoin)	0,1	0,2	0,5	1	2	5	10
Taux de métamorphose (%)	1,1 (0,1)	1,4 (0,2)	0,9 (0,0)	2,7 (0,3)	5,1 (0,2)	16,4 (1,5)	25,1 (0,0)	32,4 (1,1)
Mortalité post-larvaire (%)	0,0	0,0	0,0	1,3	0,7	2,1	1,1	4,2
Nombre de larves (%)	98,8	98,6	99,1	97,3	94,8	83,6	74,8	67,6
Mortalité larvaire (%)	4,3	6,6	4,8	3,5	7,3	10,2	65,3	23,4

Tab. 58 : Influence de teneurs croissantes en adrénaline (mg. L^{-1}) sur la métamorphose et les mortalités de *P. maximus*. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts types.

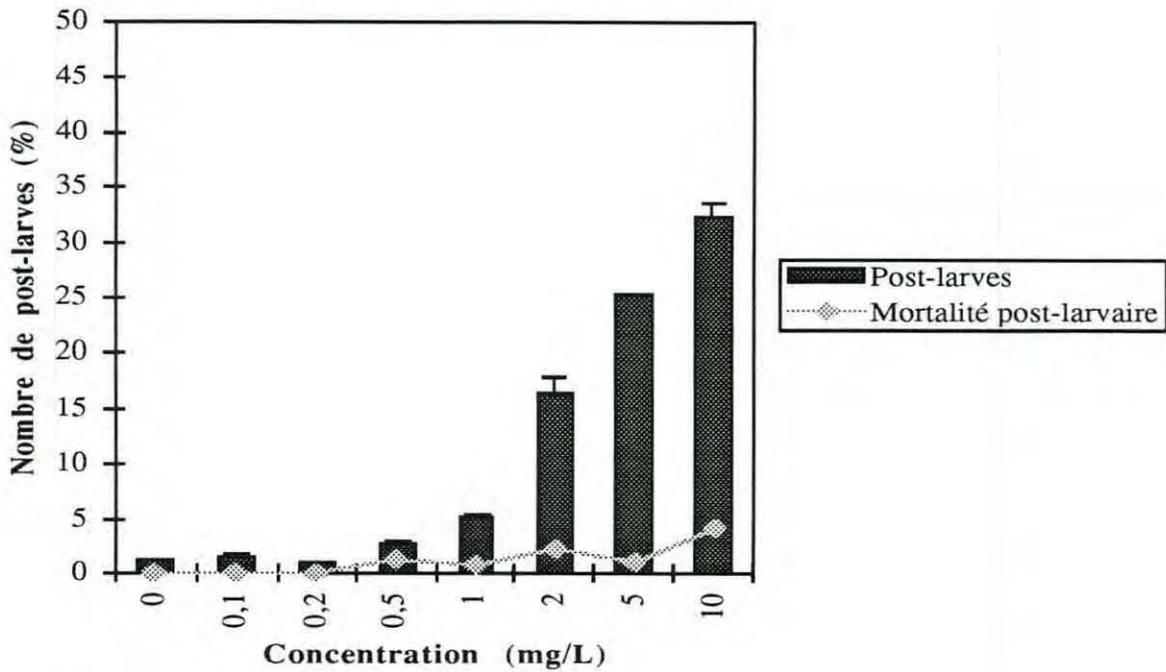


Fig. 21 : Influence de teneurs croissantes en adrénaline (mg. L^{-1}) sur la métamorphose et la mortalité post-larvaire de *P. maximus*. Les barres représentent les écarts types.

Une analyse de variance met en évidence une différence significative au seuil de 0,1 % du facteur concentration sur le taux de métamorphose (tab. 59).

Variable	DL	CM	F ratio	P
Concentration	7	289,9	114,3	(***)
Résiduelle	8	2,5		

*** Significatif à $P \leq 0,001$.

DL = degré de liberté. CM = carré moyen.

Tab. 59 : Action de la concentration en adrénaline (mg. L^{-1}) sur la métamorphose de *P. maximus*.

Un test de comparaison multiple de moyennes fait apparaître deux groupes de données. Aux concentrations $\geq 2 \text{ mg. L}^{-1}$, le taux de métamorphose est significativement différent pour chaque concentration (tab. 60). Aux concentrations inférieures à 1 mg. L^{-1} , aucune différence n'est notée entre les taux de métamorphose. Cette valeur constitue donc le seuil limite d'action de cette molécule chez *P. maximus*.

Groupes	0	0,1	0,2	0,5	1	2	5	10
0	•	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)	(***)	(***)	(***)
0,1		•	(NS)	(NS)	(NS)	(***)	(***)	(***)
0,2			•	(NS)	(NS)	(***)	(***)	(***)
0,5				•	(NS)	(**)	(***)	(***)
1					•	(**)	(***)	(***)
2						•	(NS)	(***)
5							•	(*)
10								•

*** Significatif à $P \leq 0,001$; ** Significatif à $P \leq 0,01$; * Significatif à $P \leq 0,05$; NS = non significatif.

Tab. 60 : Effet de la concentration en adrénaline (mg. L^{-1}) sur la métamorphose de *P. maximus*. Un test de comparaison multiple de Scheffé montre les différences entre les concentrations (groupes).

Dans deux autres expériences, conduites selon les mêmes protocoles expérimentaux mais avec des lots de larves différents, les teneurs pour lesquelles sont enregistrées les maxima de métamorphose divergent.

Dans le premier cas, ce maximum de métamorphose (38 % vs 18 % chez les témoins) est obtenu à la teneur de 2 mg. L^{-1} (tab. 61) alors que dans le second cas, cet optimum (12 % vs 2 % chez les témoins) est obtenu à 0,5 mg. L^{-1} (fig. 22).

	Concentration (mg. L^{-1})		
	0	2	5
Taux de fixation (%)	18,4	29,1	10,6
Taux de métamorphose (%)	19,8 (0,8)	37,6 (1,2)	19,5 (0,7)
Mortalité post-larvaire (%)	4,4	6,9	6,6
Nombre de larves (%)	80,2	62,4	80,5
Mortalité larvaire (%)	4,9	74,8	89,4

Tab. 61 : Influence de teneurs croissantes en adrénaline (mg. L^{-1}) sur la fixation, la métamorphose et les mortalités de *P. maximus*. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts types.

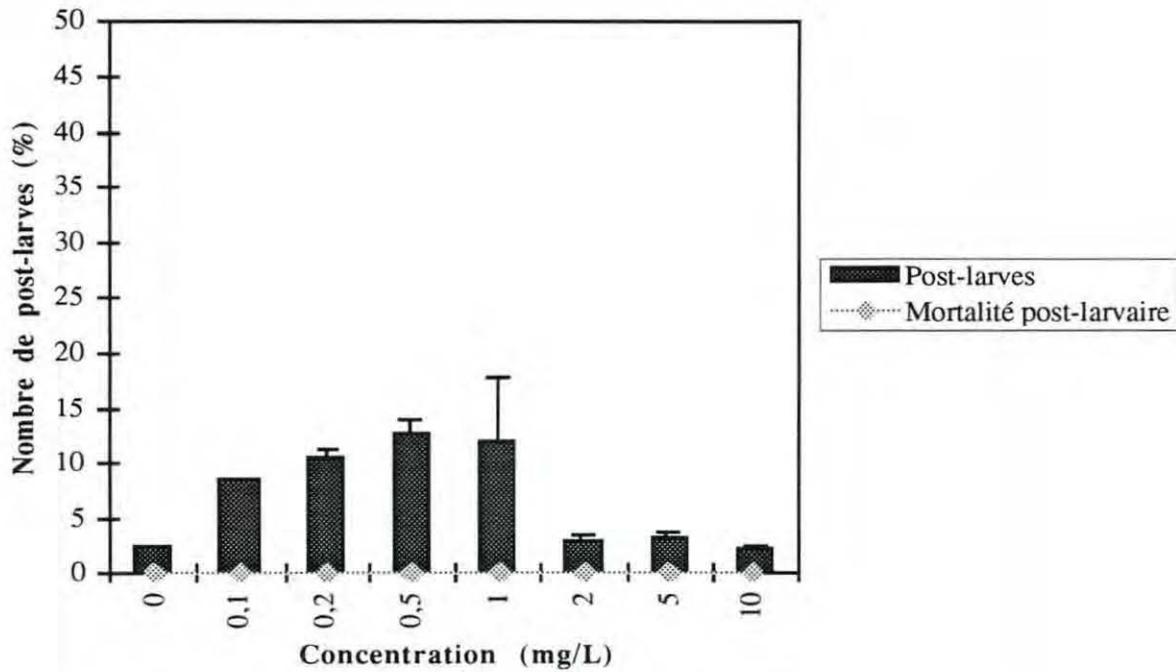


Fig. 22 : Influence de teneurs croissantes en adrénaline (mg. L^{-1}) sur la métamorphose et la mortalité post-larvaire de *P. maximus*. Les barres représentent les écarts types.

Cependant, quelle que soit la valeur optimale, toute la population post-larvaire est attachée au support de fixation et les mortalités post-larvaires restent faibles, inférieures à 5 %. Quant à la population larvaire, la mortalité est de 89 % pour les concentrations les plus élevées.

2 - L-DOPA

2.1 - Effet temps

Chez *P. maximus*, à la teneur de 1 mg. L^{-1} de L-Dopa, le nombre de post-larves est sensiblement le même quelle que soit la durée d'exposition (< 4 %). Cependant les larves évoluent normalement. En effet, aucune mortalité notable n'est dénombrée et le nombre de pédivéligères apte à la métamorphose est élevé (90 à 95 % de double barre vs 51 % en début d'expérimentation). De plus, aucune action de ce facteur n'est relevée sur la mortalité post-larvaire (tab. 62). Cette expérience n'a pas été dupliquée, ce qui explique l'absence d'écarts types.

	Temps (heures)					
	0 (témoin)	2	6	12	24	48
Taux de métamorphose (%)	1,2	1,3	3,1	1,9	3,1	2,9
Nombre de double barre (%)	90,8	92,3	93,0	95,3	93,64	93,9
Mortalité post-larvaire (%)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Mortalité larvaire (%)	3,9	4,2	2,6	1,7	1,7	1,4

Tab. 62 : Influence du temps de contact de la L-Dopa (1 mg. L⁻¹) sur la métamorphose et les mortalités de *P. maximus*.

Compte tenu de la faible incidence du temps de baignation sur *P. maximus* et des données par ailleurs existantes dans la littérature, cette expérience n'a pas été réitérée chez *C. gigas*.

2.2 - Effet dose

Chez *C. gigas*, l'exposition à la L-Dopa de 0,1 à 10 mg. L⁻¹ a peu d'influence sur la métamorphose. Le maximum de post-larves, 25 %, est relevé à la teneur de 0,5 mg. L⁻¹ (tab. 63, fig. 23). Cette valeur est peu différente de celle enregistrée chez les témoins (15 %). A 5 mg. L⁻¹ un effet inhibiteur apparaît, celui-ci étant particulièrement marqué à la concentration de 10 mg. L⁻¹ où aucune post-larve n'est notée. Jusqu'à la teneur de 5 mg. L⁻¹, toutes les post-larves sont fixées (70 % vs 85 % chez les témoins).

	Concentration (mg. L ⁻¹)							
	0 (témoin)	0,1	0,2	0,5	1	2	5	10
Taux de fixation (%)	12,9	7,5	13,3	19,9	10,5	8,9	1,4	0,3
Taux de métamorphose (%)	14,9 (1,9)	9,7 (2,8)	16,2 (0,2)	25,5 (3,3)	14,5 (2,1)	17,4 (1,7)	4,3 (0,8)	0,4 (0,3)
Mortalité post-larvaire (%)	33,4	40,2	51,6	53,4	47,4	50,5	53,9	61,4
Nombre de larves (%)	85,1	90,3	83,8	74,5	85,5	82,5	95,7	99,6
Mortalité larvaire (%)	94,4	95,9	97,7	97,3	98,1	99,1	99,0	99,8

Tab. 63 : Influence de teneurs croissantes en L-Dopa (mg. L⁻¹) sur la fixation, la métamorphose et les mortalités de *C. gigas*. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts types.

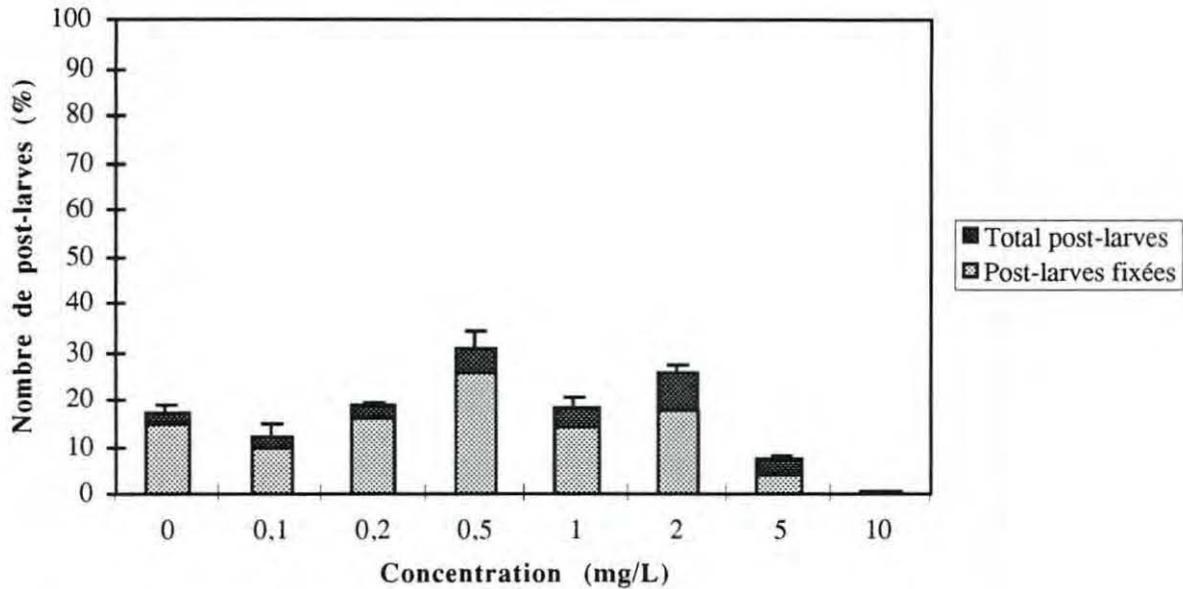


Fig. 23 : Influence de teneurs croissantes en L-Dopa (mg. L^{-1}) sur la fixation et la métamorphose de *C. gigas*. Les barres représentent les écarts types.

Une analyse de variance met en évidence l'influence significative au seuil de 0,1 % du facteur concentration sur le taux de métamorphose (tab. 64).

Variable	DL	CM	F ratio	P
Concentration	7	127,6	18,2	(***)
Résiduelle	9	7,0		

*** Significatif à $P \leq 0,001$.

DL = degré de liberté. CM = carré moyen.

Tab. 64 : Action de la concentration en L-Dopa (mg. L^{-1}) sur la métamorphose de *C. gigas*.

Un test de comparaison multiple de moyennes montre des différences significatives entre la valeur maximale (10 mg. L^{-1}) et les autres teneurs, à l'exception des concentrations $0,1$ et 5 mg. L^{-1} , ainsi qu'entre les teneurs de $0,1$ et $0,5 \text{ mg. L}^{-1}$, $0,5$ et 5 mg. L^{-1} et 2 et 5 mg. L^{-1} , mettant ainsi en avant l'effet inhibiteur de la L-Dopa à forte teneur. Aucune différence n'est observée entre les autres groupes (tab. 65).

Groupes	0	0,1	0,2	0,5	1	2	5	10
0	•	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)	(*)
0,1		•	(NS)	(*)	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)
0,2			•	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)	(*)
0,5				•	(NS)	(NS)	(**)	(***)
1					•	(NS)	(NS)	(*)
2						•	(*)	(**)
5							•	(NS)
10								•

*** Significatif à $P \leq 0,001$; ** Significatif à $P \leq 0,01$; * Significatif à $P \leq 0,05$; NS = non significatif.

Tab. 65 : Effet de la concentration en L-Dopa (mg. L^{-1}) sur la métamorphose de *C. gigas*. Un test de comparaison multiple de Scheffé montre les différences entre les concentrations (groupes).

Chez *P. maximus*, exposé pendant 24 h à la L-Dopa une augmentation progressive du nombre de post-larves est enregistrée à l'issue d'une semaine. Ainsi, à la teneur de 5 mg. L^{-1} , la métamorphose atteint 12 % contre 2 % chez les témoins (tab. 66, fig. 24). Ultérieurement, à la teneur de 10 mg. L^{-1} un effet inhibiteur est noté puisque seulement 2,5 % de post-larves sont dénombrées.

	Concentration (mg. L^{-1})							
	0 (témoin)	0,1	0,2	0,5	1	2	5	10
Taux de métamorphose (%)	2,3 (0,2)	3,1 (0,1)	3,0 (0,5)	3,9 (0,7)	4,7 (0,2)	6,1 (0,6)	11,8 (0,2)	2,6 (0,4)
Mortalité post-larvaire (%)	0,0	0,9	0,0	3,1	1,2	0,9	0,7	0,0
Nombre de larves (%)	97,7	96,9	96,9	96,1	95,3	93,9	88,2	97,4
Mortalité larvaire (%)	42,5	43,0	41,0	41,9	43,4	45,2	83,4	93,7

Tab. 66 : Influence de teneurs croissantes en L-Dopa (mg. L^{-1}) sur la métamorphose et les mortalités de *P. maximus*. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts types.

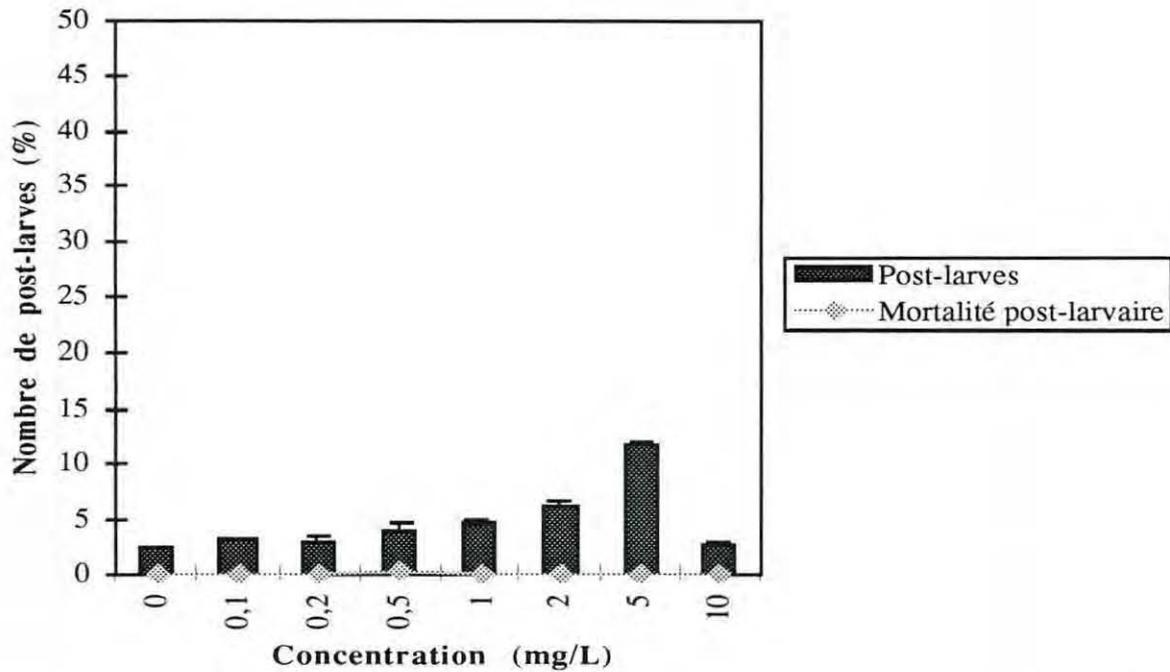


Fig. 24 : Influence de teneurs croissantes en L-Dopa (mg. L^{-1}) sur la métamorphose et la mortalité post-larvaire de *P. maximus*. Les barres représentent les écarts types.

Une analyse de variance met en évidence l'effet hautement significatif (0,1 %) du facteur concentration sur le taux de métamorphose (tab. 67).

Variable	DL	CM	F ratio	P
Concentration	7	19,5	59,2	(***)
Résiduelle	8	0,3		

*** Significatif à $P \leq 0,001$.

DL = degré de liberté. CM = carré moyen.

Tab. 67 : Action de la concentration en L-Dopa (mg. L^{-1}) sur la métamorphose de *P. maximus*.

Cependant, un test de comparaison multiple de moyennes montre que ces différences sont significatives entre les teneurs 2 et 5 mg. L^{-1} et toutes les autres (tab. 68). De plus, la différence entre les groupes 2 et 5 est significative, démontrant ainsi que la valeur de 5 mg. L^{-1} entraîne le maximum de métamorphose.

Groupes	0	0,1	0,2	0,5	1	2	5	10
0	•	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)	(*)	(***)	(NS)
0,1		•	(NS)	(NS)	(NS)	(*)	(***)	(NS)
0,2			•	(NS)	(NS)	(*)	(***)	(NS)
0,5				•	(NS)	(NS)	(***)	(NS)
1					•	(NS)	(***)	(NS)
2						•	(***)	(*)
5							•	(***)
10								•

*** Significatif à $P \leq 0,001$; * Significatif à $P \leq 0,05$; NS = non significatif.

Tab. 68 : Effet de la concentration en L-Dopa (mg. L^{-1}) sur la métamorphose de *P. maximus*. Un test de comparaison multiple de Scheffé montre les différences entre les concentrations (groupes).

Quelles que soient les teneurs, toutes les post-larves sont fixées. La mortalité post-larvaire reste particulièrement faible ($< 3\%$) y compris à la plus forte teneur testée, 10 mg. L^{-1} . Aucune toxicité de ce composé n'est donc mise en évidence sur les post-larves. Par contre, aux valeurs $\geq 5 \text{ mg. L}^{-1}$ les mortalités larvaires augmentent fortement, doublant pratiquement en passant de 40 à 95 % (tab. 66).

3 - JACARANONE

3.1 - Effet temps

L'action toxique de la jacaranone est rapide puisque des mortalités foudroyantes sont observées après seulement 24 h d'exposition (100 % vs 17 % de mortalité larvaire chez les témoins).

Cette expérience n'a pas été réitérée chez *P. maximus*.

3.2 - Effet dose

Chez *C. gigas*, la jacaranone exerce un effet inhibiteur dès les plus faibles teneurs. Ainsi 31 % de métamorphose sont dénombrés chez les témoins contre 3 % à la plus faible teneur testée, $0,1$

mg.L⁻¹. Dès la valeur de 0,5 mg. L⁻¹, la métamorphose est inhibée, moins de 1 % de post-larves étant enregistré (tab. 69). Parallèlement, une mortalité larvaire massive est notée (98 à 100 % *vs* 58 % chez les témoins) quelle que soit la teneur en jacaranone.

	Concentration (mg. L ⁻¹)							
	0 (témoin)	0,1	0,2	0,5	1	2	5	10
Taux de métamorphose (%)	31,5 (7,7)	2,7 (1,9)	3,7 (3,1)	0,8 (0,2)	0,1 (0,1)	0,1 (0,0)	0,1 (0,1)	0,5 (0,1)
Nombre de larves (%)	68,5	97,3	96,3	99,2	99,9	99,9	99,8	99,5
Mortalité larvaire (%)	58,1	98,7	99,5	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Tab. 69 : Influence de teneurs croissantes en jacaranone (mg. L⁻¹) sur la métamorphose et la mortalité larvaire de *C. gigas*. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts types.

Chez *P. maximus*, le nombre de post-larves augmente progressivement avec la teneur en jacaranone jusqu'à 0,5 mg. L⁻¹ (17 % contre 3 % chez les témoins), puis diminue à 5 mg. L⁻¹ où 8,5 % de métamorphose sont néanmoins obtenus (tab. 70, fig. 25). Ce n'est qu'à 10 mg. L⁻¹ qu'un effet toxique est noté puisque seulement 1 % de post-larves est enregistré.

	Concentration (mg. L ⁻¹)							
	0	0,1	0,2	0,5	1	2	5	10
Taux de métamorphose (%)	3,2 (0,1)	4,0 (0,1)	9,2 (4,6)	17,1 (1,7)	11,9 (1,4)	7,4 (0,3)	8,4 (0,5)	1,0 (0,1)
Mortalité post-larvaire (%)	2,4	3,2	4,9	0,9	2,4	2,2	6,1	17,3
Nombre de larves (%)	96,8	95,9	90,8	82,9	88,1	92,6	91,6	98,9
Mortalité larvaire (%)	21,7	26,9	39,9	58,1	81,2	89,6	90,5	97,8

Tab. 70 : Influence de teneurs croissantes en jacaranone (mg. L⁻¹) sur la métamorphose et les mortalités de *P. maximus*. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts types.

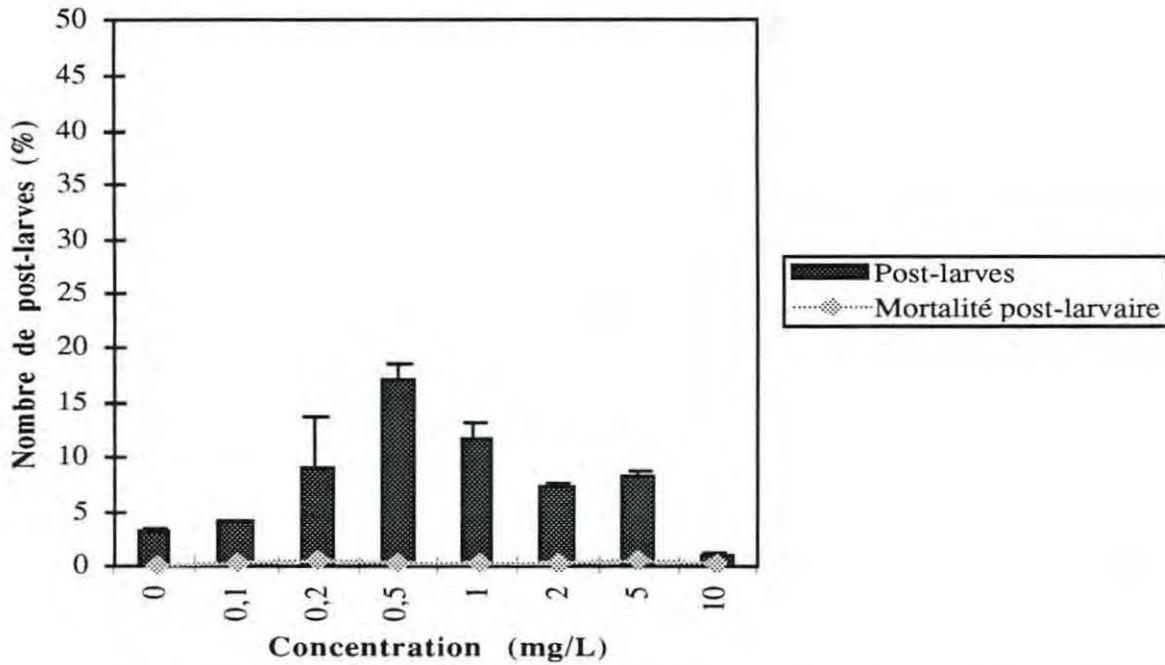


Fig. 25 : Influence de teneurs croissantes en jacaranone (mg. L^{-1}) sur la métamorphose et la mortalité post-larvaire de *P. maximus*. Les barres représentent les écarts types.

Une analyse de variance démontre l'effet significatif (1 %) du facteur concentration sur le taux de métamorphose (tab. 71).

Variable	DL	CM	F ratio	P
Concentration	7	53,0	8,1	(**)
Résiduelle	8	6,5		

** Significatif à $P \leq 0,01$.

DL = degré de liberté. CM = carré moyen.

Tab. 71 : Action de la concentration en jacaranone (mg. L^{-1}) sur la métamorphose de *P. maximus*.

Cependant, un test de comparaison multiple de moyennes montre que ces différences ne sont significatives qu'entre les groupes 0 - 0,5 mg. L^{-1} , 0,1 - 0,5 mg. L^{-1} et 0,5 - 10 mg. L^{-1} (tab. 72). L'optimum pour la métamorphose est entre à 0,5 et 5 mg. L^{-1} . Dans tous les cas de figures, les post-larves sont fixées et ces taux sont supérieurs à 90 %.

Groupes	0	0,1	0,2	0,5	1	2	5	10
0	•	(NS)	(NS)	(*)	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)
0,1		•	(NS)	(*)	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)
0,2			•	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)
0,5				•	(NS)	(NS)	(NS)	(*)
1					•	(NS)	(NS)	(NS)
2						•	(NS)	(NS)
5							•	(NS)
10								•

* Significatif à $P \leq 0,05$; NS = non significatif.

Tab. 72 : Effet de la concentration en jacaranone (mg. L^{-1}) sur la métamorphose de *P. maximus*. Un test de comparaison multiple de Scheffé montre les différences entre les concentrations (groupes).

Les mortalités post-larvaires sont faibles ($< 17\%$; tab. 70). Cependant, la jacaranone semble être toxique pour les larves puisque les mortalités augmentent avec la concentration, 22% chez les témoins et 98% à 10 mg. L^{-1} (tab. 70).

4 - KCl

4.1 - Effet dose

Chez *C. gigas*, de faibles taux de métamorphose ($3,4\%$) sont enregistrés chez les témoins alors qu'après l'ajout de KCl toute la population est morte. De plus, dès les plus faibles teneurs, toutes les larves exposées au chlorure de potassium pendant 24 h sont mortes. Cependant, la qualité des larves peut être mise en avant car 98% des larves étaient également mortes chez les témoins. De ce fait aucune conclusion ne peut être tirée de cette expérience chez l'huître.

Chez *P. maximus*, exposé à des teneurs croissantes en chlorure de potassium pendant 24 h, le nombre de post-larves est peu différent de celui enregistré chez les témoins, jusqu'à la teneur de 8

mM (4 à 6 % de métamorphose vs 3,5 % chez les témoins). Cependant, aux plus fortes concentrations, une toxicité est notée (tab. 73). De plus, à ces valeurs toutes les larves sont mortes alors que la mortalité larvaire n'est que de 22 % chez les témoins.

	Concentration (mM)					
	0 (témoin)	4	8	12	16	20
Taux de métamorphose (%)	3,2 (0,1)	4,3 (0,3)	5,6 (1,5)	0,2 (0,1)	0,1 (0,0)	0,1 (0,0)
Nombre de larves (%)	96,8	95,7	94,3	99,8	99,9	99,9
Mortalité larvaire (%)	21,7	35,9	89,2	100,0	100,0	100,0

Tab. 73 : Influence de teneurs croissantes en KCl (mM) sur la métamorphose et la mortalité larvaire de *P. maximus*. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts types.

5 - NH₄Cl

5.1 - Effet dose

Chez *P. maximus*, exposé au chlorure d'ammonium pendant 24 h, le nombre de post-larves reste proche de celui du témoin puis atteint 24 % à la teneur de 10⁻² M (tab. 74, fig. 26). Aux teneurs inférieures, les taux sont compris entre 6 et 9 % alors que pour 10⁻¹ M toutes les post-larves sont mortes par éclatement. La mortalité post-larvaire reste semblable à celle des témoins (2 %), exceptée à 10⁻³ M où elle est de 11 %. L'ajout de NH₄Cl ne provoque pas de mortalité au niveau de la population larvaire exceptée à la teneur de 10⁻² M où 67 % des larves sont mortes (tab. 74).

	Concentration (M)						
	0 (témoin)	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}
Taux de métamorphose (%)	5,9 (1,5)	8,6 (0,1)	7,9 (0,9)	9,4 (1,9)	5,8 (1,1)	24,3 (2,8)	
Mortalité post-larvaire (%)	2,0	0,7	4,3	3,4	10,8	1,1	
Nombre de larves (%)	94,1	91,4	92,0	90,6	94,2	75,7	
Mortalité larvaire (%)	7,3	11,7	11,7	8,9	13,3	66,9	

Tab. 74 : Influence de teneurs croissantes en NH_4Cl (M) sur la métamorphose et les mortalités de *P. maximus*. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts types.

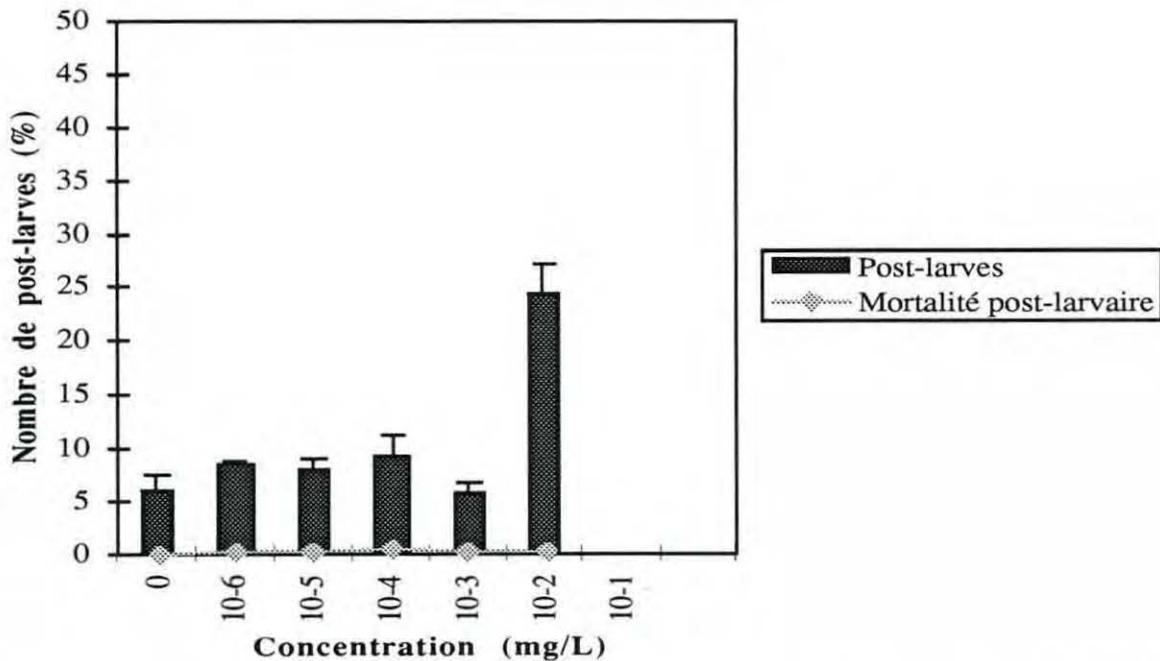


Fig. 26 : Influence de teneurs croissantes en NH_4Cl (M) sur la métamorphose et la mortalité post-larvaire de *P. maximus*. Les barres représentent les écarts types.

Chez *C. gigas*, le témoin présente une métamorphose de 3,4 % tandis que sous l'ajout de NH_4Cl toute la population larvaire est morte.

Cependant les témoins présentent 97 % de mortalité larvaire et là aussi aucune conclusion ne peut être dégagée chez l'huître.

6 - RHODYMENIA SP

6.1 - Extrait lyophilisé

Dans cette expérimentation, réalisée chez *P. maximus*, l'ajout de la macrophyte *Rhodymenia sp* sous forme lyophilisée entraîne une augmentation progressive de la métamorphose en fonction de la concentration. Le taux de post-larves passe de 6,6 % chez les témoins à 20,7 % pour 20 mg. L⁻¹ (tab. 75, fig. 27). Cette algue n'empêche pas la fixation à la métamorphose puisque toutes les post-larves sont fixées à leur support. De plus, cette solution ne provoque pas de mortalité post-larvaire, celle-ci restant ≤ 2 % (tab. 75). Il en est de même pour les mortalités larvaires avec un différentiel de 10 % à la plus forte teneur, 20 mg. L⁻¹, par rapport au témoin (tab. 75).

	Concentration (mg. L ⁻¹)				
	0 (témoin)	0,1	1	10	20
Taux de métamorphose (%)	6,6 (0,7)	8,3 (1,6)	5,7 (1,2)	10,1 (1,4)	20,7 (0,2)
Mortalité post-larvaire (%)	0,4	0,2	0,6	1,1	2,1
Nombre de larves (%)	93,4	91,7	94,3	89,9	79,3
Mortalité larvaire (%)	14,9	17,1	17,9	19,1	28,1

Tab. 75 : Influence de teneurs croissantes d'extrait lyophilisé de *Rhodymenia sp* (mg. L⁻¹) sur la métamorphose et les mortalités de *P. maximus*. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts types.

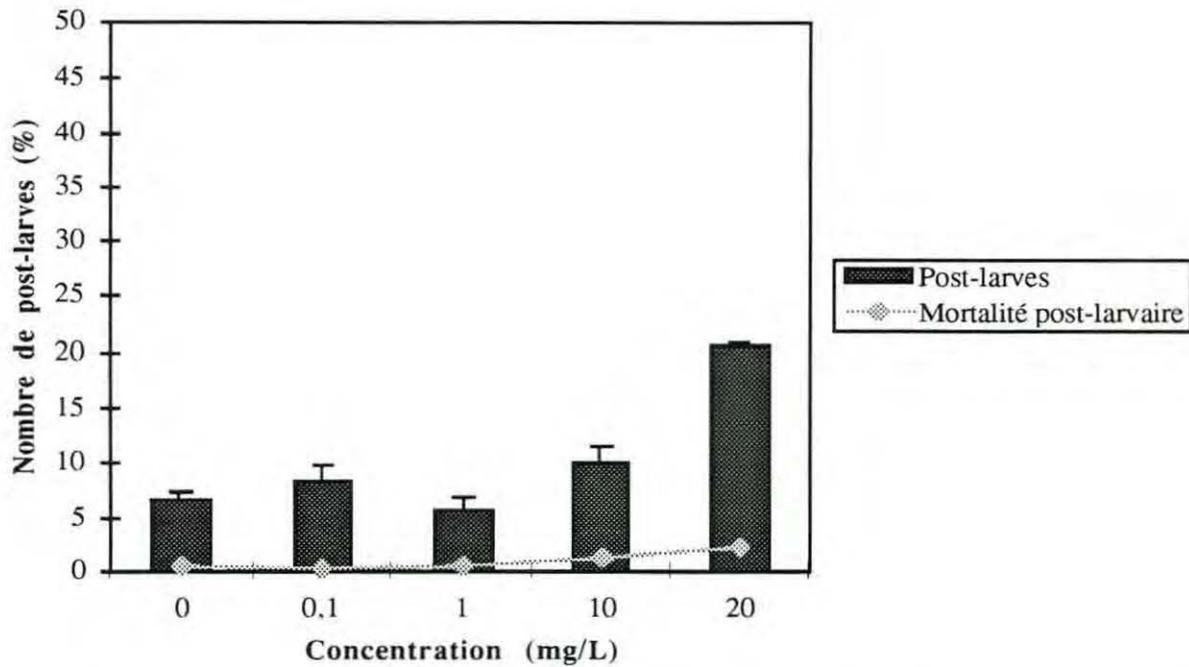


Fig. 27 : Influence de teneurs croissantes d'extrait lyophilisé de *Rhodymenia sp* (mg. L^{-1}) sur la métamorphose et la mortalité post-larvaire de *P. maximus*. Les barres représentent les écarts types.

Une analyse de variance à un facteur montre l'action significative au seuil de 1 % du facteur concentration sur le taux de métamorphose (tab. 76).

Variable	DL	CM	F ratio	P
Concentration	4	73,4	27,9	(**)
Résiduelle	5	2,6		

** Significatif à $P \leq 0,01$.

DL = degré de liberté. CM = carré moyen.

Tab. 76 : Action de la concentration de l'extrait lyophilisé de *Rhodymenia sp* (mg. L^{-1}) sur la métamorphose de *P. maximus*.

Cependant, un test de comparaison multiple de moyennes montre que les différences de métamorphose ne sont significatives qu'entre la plus forte teneur (20 mg. L^{-1}) et les autres (tab. 77).

Groupes	0	0,1	1	10	20
0	•	(NS)	(NS)	(NS)	(**)
0,1		•	(NS)	(NS)	(**)
1			•	(NS)	(**)
10				•	(*)
20					•

** Significatif à $P \leq 0,01$; * Significatif à $P \leq 0,05$; NS = non significatif.

Tab. 77 : Effet de la concentration d'extrait lyophilisé de *Rhodymenia sp* (mg. L^{-1}) sur la métamorphose de *P. maximus*. Un test de comparaison multiple de Scheffé montre les différences entre les concentrations (groupes).

6.2 - Extrait alcoolique

Sous cette forme d'extraction, les résultats obtenus avec la suspension sont semblables à ceux obtenus avec l'extrait lyophilisé. En effet, le maximum de post-larves est de 20 % pour une teneur de 20 mg. L^{-1} (tab. 78, fig. 28). La mortalité post-larvaire est quasiment inexistante. Par contre, à forte teneur (20 mg. L^{-1}), la mortalité larvaire est importante 60 % (tab. 78).

	Concentration (mg. L^{-1})				
	0 (témoin)	0,1	1	10	20
Taux de métamorphose (%)	6,6 (0,7)	6,5 (0,7)	12,2 (0,3)	15,5 (0,3)	19,6 (1,2)
Mortalité post-larvaire (%)	0,4	0,3	1,1	0,2	0,0
Nombre de larves (%)	93,4	93,5	87,8	84,5	80,4
Mortalité larvaire (%)	14,9	16,3	19,1	24,9	59,6

Tab. 78 : Influence de teneurs croissantes d'extrait alcoolique de *Rhodymenia sp* (mg. L^{-1}) sur la métamorphose et les mortalités de *P. maximus*. Les valeurs entre parenthèse correspondent aux écarts types.

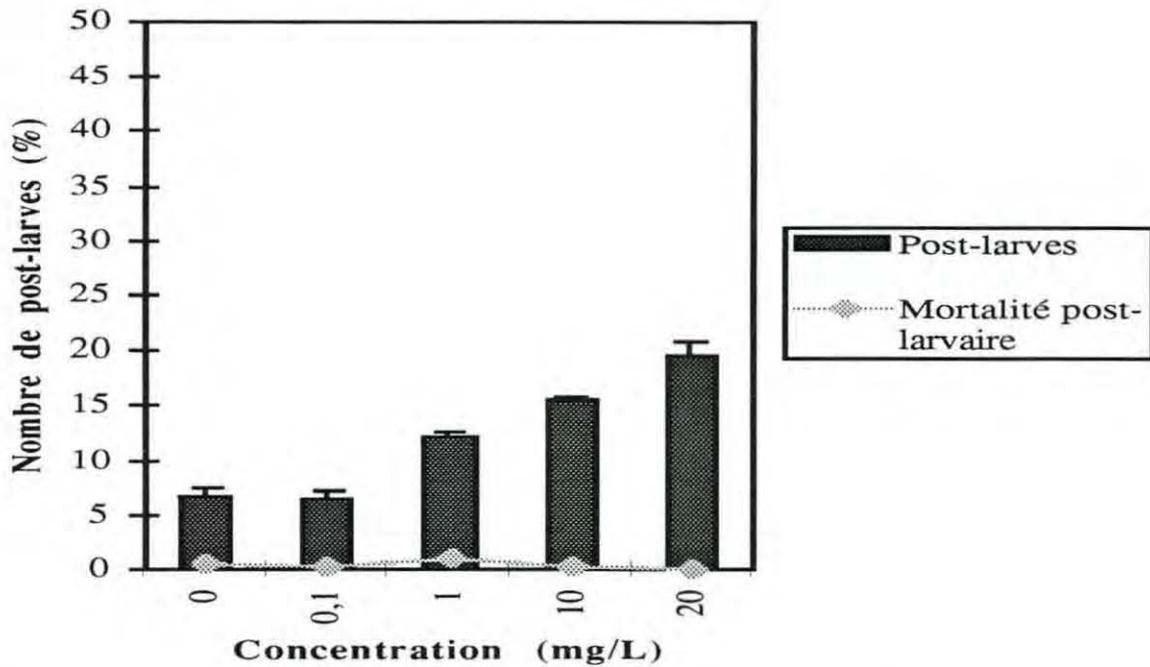


Fig. 28 : Influence de teneurs croissantes d'extrait alcoolique de *Rhodymenia sp* (mg. L^{-1}) sur la métamorphose et la mortalité post-larvaire de *P. maximus*. Les barres représentent les écarts types.

Une analyse de variance à un facteur montre l'action significative au seuil de 0,1 % du facteur concentration sur le taux de métamorphose (tab. 79).

Variable	DL	CM	F ratio	P
Concentration	4	64,1	58,9	(***)
Résiduelle	5	1,1		

*** Significatif à $P \leq 0,001$.

DL = degré de liberté. CM = carré moyen.

Tab. 79 : Action de la concentration d'extrait alcoolique de *Rhodymenia sp* (mg. L^{-1}) sur la métamorphose de *P. maximus*.

Cependant, un test de comparaison multiple de moyennes montre que ces différences ne sont significatives qu'entre les extrêmes et que les différences entre les groupes intermédiaires 0 - 0,1 mg. L^{-1} , 1 - 10 mg. L^{-1} et 10 - 20 mg. L^{-1} ne le sont pas (tab. 80).

Groupes	0	0,1	1	10	20
0	•	(NS)	(*)	(**)	(***)
0,1		•	(*)	(**)	(***)
1			•	(NS)	(**)
10				•	(NS)
20					•

*** Significatif à $P \leq 0,001$; ** Significatif à $P \leq 0,01$; * Significatif à $P = 0,05$; NS = non significatif.

Tab. 80 : Effet de la concentration d'extrait alcoolique de *Rhodymenia sp* (mg. L⁻¹) sur la métamorphose de *P. maximus*. Un test de comparaison multiple de Scheffé montre les différences entre les temps d'exposition (groupes).

L'ensemble des données concernant l'influence des facteurs chimiques sur le taux moyen de métamorphose, sur les mortalités post-larvaires et larvaires est consigné dans le tableau 81 pour *P. maximus* et 82 pour *C. gigas*.

	Conditions	Taux de métamorphose (%)	Mortalité post-larvaire (%)	Mortalité larvaire (%)
Adrénaline (effet temps)	0	1,2	0,0	3,9
	24 h	18	1,5	13,1
Adrénaline (effet dose)	0	1,2	0,0	4,3
	10 mg. L ⁻¹	32,4	4,2	23,4
L-Dopa (effet temps)	0	1,2	0,0	3,9
	24 h	3,1	0,0	1,7
L-Dopa (effet dose)	0	2,3	0,0	42,5
	5 mg. L ⁻¹	11,8	0,7	83,4
Jacaranone (effet dose)	0	3,2	2,4	21,7
	0,5 mg. L ⁻¹	17,1	1,0	58,1
KCl (effet dose)	0	3,2	2,4	21,7
	8 mM	5,7	3,2	89,2
NH ₄ Cl (effet dose)	0	5,9	2,1	7,3
	10 ⁻² M	24,34	1,1	67,0
<i>Rhodymenia sp</i> (extrait lyophilisé)	0	6,6	0,4	15,0
	20 mg. L ⁻¹	20,7	2,2	28,1
<i>Rhodymenia sp</i> (extrait alcoolique)	0	6,6	0,4	15,0
	20 mg. L ⁻¹	19,6	0,0	59,6

Tab. 81 : Récapitulatif des données concernant l'influence de l'induction chimique sur la métamorphose et les mortalités de *P. maximus*.

	Conditions	Taux de métamorphose (%)	Mortalité post-larvaire (%)	Mortalité larvaire (%)
Adrénaline (effet temps)	0	29,4	18,7	98,4
	24 h	85,46	3,5	87,2
Adrénaline (effet dose)	0	29,4	18,7	98,4
	1 mg. L ⁻¹	84,6	1,4	95,7
L-Dopa (effet temps)	-	-	-	-
	-	-	-	-
L-Dopa (effet dose)	0	14,9	33,4	94,5
	0,5 mg. L ⁻¹	25,5	53,4	97,4
Jacaranone (effet dose)	0	31,5	10,9	58,1
	0,1 mg. L ⁻¹	2,7	33,1	98,7
KCl (effet dose)	0	3,4	13,6	98
	-		Mortalité totale	
NH₄Cl (effet dose)	0	3,4	13,6	98
	-		Mortalité totale	
<i>Rhodymenia</i> sp (extrait lyophilisé)	-	-	-	-
	-	-	-	-
<i>Rhodymenia</i> sp (extrait alcoolique)	-	-	-	-
	-	-	-	-

Tab. 82 : Récapitulatif des données concernant l'influence de l'induction chimique sur la métamorphose et les mortalités de *C. gigas*.

DISCUSSION - CONCLUSION

Dans les expériences rapportées dans ce travail, la métamorphose de *Crassostrea gigas* fluctue entre 15 et 90 % (tab. 82). Cette échelle de variation est moindre chez *Pecten maximus* avec des taux de métamorphose compris entre 1 et 30 % (tab. 81). Pour l'huître, ces fluctuations peuvent être expliquées par une différence de compétence larvaire et/ou par l'action plus ou moins marquée des inducteurs. En effet, toutes les expériences se font sur une période de sept jours, qui est considérée comme suffisante pour la métamorphose de *C. gigas* (Walne et Helm, 1974 ; Wilson, 1981 ; Utting et Spencer, 1991). Par contre, la faible incidence des facteurs chimiques sur la métamorphose de *P. maximus* pourrait être expliquée par la lenteur du processus de la métamorphose chez cette espèce. En effet, dans la plupart des cas 10 à 30 % de métamorphose est enregistrée au cours de la première semaine en eau de mer circulante, tandis que ces valeurs atteignent 40 à 70 % au cours des deuxième et troisième semaines (chapitre 4 de ce travail). De plus, comme chez d'autres Pectinidae (Hodgson et Bourne, 1988) et Mytilidae (Eyster et Pechenik, 1987), la turbulence de l'eau de mer améliore considérablement la métamorphose de la coquille St Jacques (Nicolas *et al.*, 1996b). Dans ces expérimentations conduites sur une courte période (1 semaine) et en eau de mer stagnante, il n'est donc pas surprenant d'enregistrer de faibles taux de métamorphose chez *P. maximus* ($\leq 5\%$), conformément aux résultats de Chevolut *et al.* (1991).

Un des résultats le plus marquant de ce travail est le fort taux de métamorphose enregistré pour *C. gigas* ($> 85\%$) exposée à de faibles concentrations d'adrénaline (1 - 10 mg. L⁻¹ soit $5,5 \cdot 10^{-6}$ - $5,5 \cdot 10^{-5}$ M). Ces données contrastent avec celles rapportées par McAnally Salas *et al.* (1989), Bonar *et al.* (1990), et Beiras et Widdows (1996), qui trouvent peu ou pas d'induction de la métamorphose à ces teneurs. La différence peut-être expliquée en terme de durée d'expérimentation (7 jours dans le présent travail contre 1 - 2 jours pour les autres études). Par contre, les résultats de ces travaux sont en accord avec ceux de la littérature en ce qui concerne l'induction rapide de la métamorphose avec l'adrénaline (85 % de post-larves après 2 heures d'exposition) et de la présence d'une majorité de post-larves non fixées dans la population. De plus, en accord avec Haws et DiMichele (1993), l'adrénaline n'est pas toxique pour les larves et les post-larves, quelles que soient la période d'exposition et les concentrations testées.

Les résultats pour *P. maximus* diffèrent. Soumise à une balnéation dans des solutions d'adrénaline, la métamorphose s'effectue avec fixation des post-larves. Le maximum de métamorphose est atteint pour des concentrations d'adrénaline comprises entre 1 et 10 mg. L⁻¹, en fonction des élevages. Ce composé n'a pas d'effets toxiques apparents sur les post-larves. Il est par contre néfaste pour les larves car il entraîne de fortes mortalités (> 65 %) aux concentrations ≥ 5 mg. L⁻¹.

Les résultats obtenus pour la L-Dopa, en eau de mer stagnante, sont en accord avec ceux des autres auteurs (McAnally Salas *et al.*, 1989 ; Bonar *et al.*, 1990 ; Beiras et Widdows, 1996). La L-Dopa est moins efficace que l'adrénaline pour induire la métamorphose de *C. gigas* ; l'induction a lieu sur une échelle plus réduite de concentrations (0,5 mg. L⁻¹ dans ce travail soit $2,5 \cdot 10^{-6}$ M), et la fixation des post-larves ainsi que la métamorphose diminuent aux plus fortes concentrations testées. Cependant, dans nos expériences, la L-Dopa n'est pas fortement toxique pour les post-larves, alors que Coon *et al.* (1985) notent que l'exposition prolongée à la L-Dopa est toxique dès $5 \cdot 10^{-6}$ M, c'est à dire à une concentration 5 fois moins élevée que la dose optimale ($2,5 \cdot 10^{-5}$ M soit 5 mg. L⁻¹). Des résultats similaires sont obtenus pour *P. maximus*, mais, comme avec l'adrénaline, une toxicité de ce composé est notée chez les larves pour des teneurs de 5 et 10 mg. L⁻¹. Nos données sont en accord avec celles de Kingzett *et al.* (1990) et Chevolot *et al.* (1991) qui trouvent que l'induction de la métamorphose est faible chez *P. maximus* et *Mizuhopecten yessoensis* en réponse à la L-Dopa et que l'inhibition est dépendante de la concentration. Cependant, ces résultats ne peuvent pas être généralisés à tous les Pectinidés puisqu'aucune induction de la métamorphose n'est notée chez *Chlamys hastata*, quelle que soit la concentration testée (Hodgson et Bourne, 1988).

Malgré les faibles concentrations utilisées, la jacaranone a un effet défavorable sur la métamorphose de *C. gigas*. Celui-ci pourrait s'expliquer par une action toxique sur les larves. En effet de fortes mortalités larvaires sont enregistrées, même aux plus faibles concentrations testées (0,1 mg. L⁻¹). En comparaison, la jacaranone induit la métamorphose de *P. maximus* et provoque la fixation de toutes les post-larves. Comme pour la L-Dopa, une inhibition de la métamorphose et une toxicité (mortalité > 80 %) sont observées à la plus forte concentration testée (10 mg. L⁻¹).

L'ajout de chlorure de potassium dans les milieux d'élevages, aux teneurs considérées comme actives sur d'autres taxons (Yool *et al.*, 1986), entraîne des résultats très différents. Chez *C. gigas* aucune conclusion ne peut être dégagée, toutes les larves étant mortes y compris chez les témoins. Chez *P. maximus*, aux plus faibles teneurs le taux de métamorphose est resté identique à celui des témoins tandis qu'aux plus fortes concentrations une toxicité est apparue. Nos

données sont en accord avec celles d'Eyster et Pechenik (1987) sur *Mytilus edulis* qui montrent qu'une augmentation de 5 à 20 mM en KCl de l'eau de mer ne modifie pas la métamorphose. Par contre, ils sont en désaccord avec ceux de Nell et Holliday (1986) qui rapportent que la métamorphose et la fixation de l'huître *Saccostrea commercialis* sont stimulées pour des concentrations de 8 à 12 mM. De telles observations sont décrites chez *Crepidula fornicata* où 50 % de métamorphose est obtenu en réponse à une élévation de 15 à 20 mM en KCl de l'eau de mer (Pechenik et Heyman, 1987). Il en est de même chez *Strombus gigas* où l'ajout de 15 mM de KCl augmente la métamorphose (Davis *et al.*, 1990).

L'action du chlorure d'ammonium est très controversée. Dans ce travail, seule la concentration de 10^{-2} M a un effet positif sur la métamorphose de *P. maximus*. Par contre, Beiras et Widdows (1996) ne rapportent aucun effet de NH_4^+ sur la métamorphose de *C. gigas* alors que Walch *et al.* (1988) notent que NH_3 favorise le comportement de recherche de substrat chez cette même espèce. Pour *M. yessoensis*, Kingzett *et al.* (1990) montrent un effet positif pour des temps d'exposition relativement courts compris entre 10 et 60 minutes pour des teneurs de $0,5 \cdot 10^{-2}$ M et 10^{-2} M.

Il est probable que les signaux chimiques externes contrôlent la métamorphose des bivalves. Néanmoins, l'efficacité des inducteurs est propre à chaque espèce. Par conséquent, l'extrapolation des résultats obtenus sur une espèce à une autre est imprudente. Ainsi, dans le présent travail, l'adrénaline augmente la métamorphose chez *P. maximus* et *C. gigas*, mais chez cette dernière toutes les post-larves sont libres (non fixées), tandis que la fixation n'est nullement altérée chez la coquille St Jacques. Par ailleurs, la jacaranone induit la métamorphose de *P. maximus*, même aux faibles teneurs, tandis que ce produit est toxique pour *C. gigas*. De tels contrastes sont également observés dans une même famille. Ainsi chez les Pectinidés, la L-Dopa n'a aucun effet sur la métamorphose de *C. hastata* (Hodgson et Bourne, 1988) alors qu'une augmentation du taux de formation de post-larves est notée chez *P. yessoensis* (Kingzett *et al.*, 1990). Il en est de même chez les Ostréidés où l'action positive du GABA est relatée chez *Crassostrea belcheri* (Tan et Wong, 1995), alors que celui-ci est considéré comme inefficace chez *C. gigas* (Coon *et al.*, 1985 ; Beiras et Widdows, 1996). En dehors de cette spécificité, les fluctuations enregistrées peuvent être liées à la qualité des larves et à leur maturité, c'est à dire à leur aptitude à la métamorphose. Cette notion est décrite dans la littérature sous le terme de compétence larvaire. On sait que les inducteurs ne sont actifs que sur des larves compétentes que ce soit chez *C. gigas* (Coon *et al.*, 1990) ou *M. edulis* (Eyster et Pechenik, 1987). Pour *P. maximus*, cette compétence est corrélée, mais pas dépendante, avec la taille de la larve et le développement de la double barre (Robert et Gérard, 1999). Pour *P. maximus* l'utilisation des inducteurs pour contrôler la métamorphose apparaît délicate car faiblement reproductible. De plus, la forte incidence du protocole expérimental a été démontré (Nicolas *et al.*, 1998). Trois

raisons peuvent donc être invoquées pour expliquer les faibles réponses de *P. maximus* aux inducteurs :

- le bon inducteur n'a pas été identifié
- les conditions zootechniques n'ont pas permis la visualisation du phénomène
- les larves ne présentaient pas de compétence larvaire suffisante

Les faibles résultats obtenus par utilisation des facteurs chimiques et leur forte variabilité nous ont amené à ne pas poursuivre dans cette voie. L'amélioration des performances de la métamorphose (intensité et synchronisation) chez *P. maximus* par l'utilisation d'inducteurs chimiques reste trop faible et aléatoire et rend délicate leur utilisation en routine en éclosion.

L'importance de la turbulence de l'eau sur la réponse à une stimulation préalable aux catécholamines nous a conduit à ouvrir ce champ d'expérimentation.

Pour répondre aux objectifs affichés (augmentation des taux de métamorphose, optimisation du développement post-larvaire de la coquille St Jacques), l'influence des paramètres physiques et nutritionnels a été observée sur cette phase.

Ce travail est présenté dans le chapitre suivant.

CHAPITRE 4

FACTEURS PHYSIQUES ET NUTRITIONNELS

FACTEURS PHYSIQUES ET NUTRITIONNELS

INTRODUCTION	143
RESULTATS	145
1 - ALIMENTATION DES LARVES ET POST-LARVES	145
1.1 - COMPOSITION DE LA RATION EN MICROALGUES EN PHASE LARVAIRE	145
1.1.1 - Incidence de la composition de la ration en microalgues des larves	145
1.1.1.1 - Influence comparée de <i>Chaetoceros sp</i> et <i>Chaetoceros calcitrans</i> en régime plurispécifique	145
1.1.1.2 - Influence comparée des mélanges PTC et TCsp	147
1.1.1.3 - Influence comparée des mélanges PTC, PTCsp et TCsp	149
1.1.2 - Incidence d'une modification tardive du régime alimentaire des larves	
1.1.2.1 - Influence comparée de <i>Chaetoceros calcitrans</i> et de <i>Skeletonema costatum</i>	151
1.1.2.2 - Incidence d'un apport complémentaire de <i>Rhodomonas salina</i>	153
1.2 - INCIDENCE DE LA QUANTITE DE MICROALGUES DISTRIBUEES AUX POST-LARVES	158
1.2.1 - Incidence de la quantité de microalgues au cours du premier mois de vie post-larvaire	158
1.2.2 - Incidence de la quantité de microalgues au cours des deux premiers mois de vie post-larvaire	163

1.2.3 - Incidence du jeûne au cours des deux premiers mois de vie post-larvaire	168
2 - DEBIT D'EAU DE MER	174
2.1 - INCIDENCE DE LA TURBULENCE SUR LA METAMORPHOSE : EFFET TOUT OU RIEN	174
2.2 - INCIDENCE DU DEBIT D'EAU DE MER SUR LA METAMORPHOSE ET AU COURS DES PREMIERES SEMAINES DE VIE POST-LARVAIRE	175
3 - TEMPERATURE	179
4 - EFFET COMBINE DE LA TEMPERATURE ET DE LA NUTRITION SUR LA METAMORPHOSE ET AU COURS DES PREMIERES SEMAINES DE VIE POST-LARVAIRE	184
DISCUSSION	194

INTRODUCTION

En éclosérie, des fluctuations en terme de croissance et de survie post-larvaire sont régulièrement enregistrées chez les post-larves de *Pecten maximus* au cours des deux premiers mois d'élevage. Pour expliquer ces variations, deux hypothèses peuvent être émises. La première considère que la métamorphose et le développement post-larvaire sont étroitement dépendants de processus amonts, c'est à dire d'un bon développement larvaire et d'une accumulation de réserves suffisantes, tant sur le plan quantitatif que qualitatif en fin de vie larvaire. Ainsi l'optimisation des élevages larvaires a constitué ces dernières années un des thèmes prioritaires du laboratoire de Physiologie des Invertébrés Marins, l'essentiel des travaux s'étant porté sur la recherche des besoins nutritionnels des larves de *P. maximus* et de *Crassostrea gigas* (Delaunay *et al.*, 1992 et 1993 ; Séguineau *et al.*, 1993 et 1996 ; Robert *et al.*, 1994b ; Robert et Trintignac 1997a et b ; Robert, 1998 ; Soudant *et al.*, 1998). La seconde considère que ces fluctuations sont principalement dues aux paramètres physico-chimiques d'élevage en phase post-larvaire et/ou aux facteurs nutritionnels. La métamorphose de la coquille St Jacques, *P. maximus*, est faiblement influencée par l'utilisation des molécules actives (voir Chapitre 3). Le rôle des facteurs chimiques sur ces fluctuations post-larvaires paraît donc mineur. Le rôle des facteurs physiques et nutritionnels sur la métamorphose et le développement post-larvaire constitue le troisième chapitre de ce travail. Compte tenu de son importance pour le développement larvaire (Robert *et al.*, 1988 ; His *et al.*, 1989 ; Robert et Trintignac, 1997a) une attention particulière a été portée à ce dernier, et son impact sur la métamorphose et le développement post-larvaire a été approfondi. Deux aspects ont été abordés, qualitatif et quantitatif. Le premier a été étudié en substituant, à différentes étapes de la vie larvaire (début, milieu et fin) une ou deux microalgues d'un régime standard par une espèce ou en ajoutant à ce régime de base une autre algue. L'impact de ces modifications nutritionnelles sur le taux de formation des post-larves a été recherché. Le second aspect a concerné l'effet de la ration alimentaire des post-larves dont l'influence a été précisée sur des périodes de un à deux mois d'élevage.

La turbulence de l'eau est l'autre paramètre physique auquel nous nous sommes intéressés. En effet, ce facteur joue un rôle activateur pour la métamorphose chez certaines espèces (Eyster et Pechenik, 1987). Son action a d'abord été appréhendée par l'application d'un signal de type "tout ou rien", puis une quantification du débit optimal d'eau de mer a été recherchée.

La température constitue le dernier paramètre physique étudié dans ce travail. Si son influence sur le développement larvaire des bivalves est bien connue (Robert *et al.*, 1988 ; His *et al.*, 1989 ; Heasman *et al.*, 1996 ; Gouletquer, 1997) son rôle sur la métamorphose et le développement post-larvaire n'a été que rarement appréhendé (Buestel *et al.*, 1982).

RESULTATS

1 - ALIMENTATION DES LARVES ET POST-LARVES

1.1 - COMPOSITION DE LA RATION EN MICROALGUES EN PHASE LARVAIRE

1.1.1 - Incidence de la composition de la ration en microalgues des larves

1.1.1.1 - Influence comparée de *Chaetoceros sp* et *Chaetoceros calcitrans* en régime plurispécifique

Lors du transfert en micro-nurserie le 27^{ème} jour, les taux de double barre sont de 46 % pour l'élevage préalablement alimenté avec le régime PTC et de 77 % avec le régime PTCsp. Dès la fin de première semaine d'élevage post-larvaire, les taux de métamorphose diffèrent selon le régime originel des animaux, 48 % pour le mélange PTCsp contre 27 % pour le mélange PTC (tab. 83, fig. 29). Cependant, en deuxième semaine, ces différences s'estompent avec des taux de 72 et 75 %.

Temps (semaine)	Régime nutritionnel	
	PTC	PTCsp
1	27,4 (0,6)	48,2 (0,8)
2	74,7 (0,6)	71,7 (1,2)

Tab. 83 : Influence de la qualité originelle de l'alimentation larvaire sur le pourcentage moyen de métamorphose de *P. maximus* au cours des deux premières semaines d'élevage. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts types.

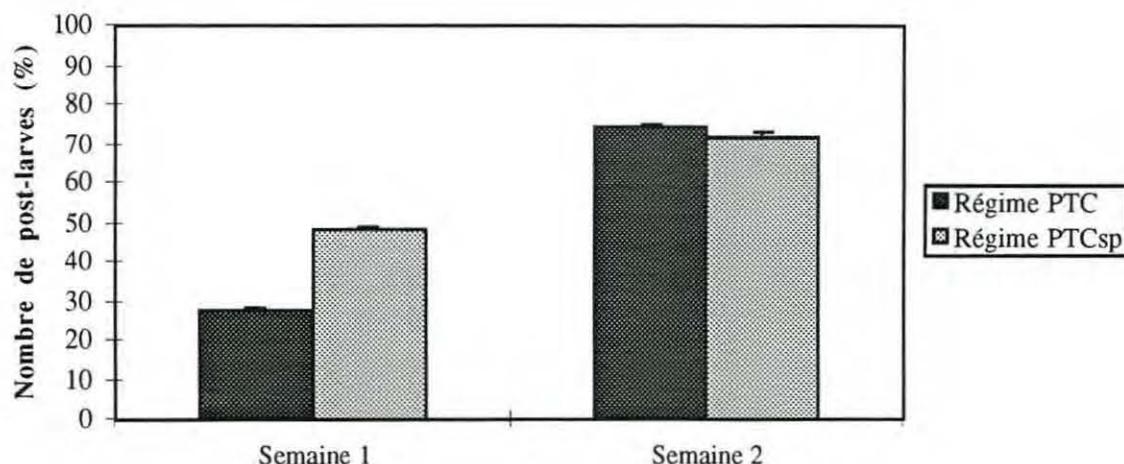


Fig. 29 : Influence de la qualité originelle de l'alimentation larvaire sur le pourcentage moyen de métamorphose de *P. maximus* au cours des deux premières semaines d'élevage. Les barres indiquent les écarts types.

Des tests t de comparaison de moyennes démontrent que la composition de la ration larvaire a un effet significatif sur les taux de métamorphose les première et deuxième semaines ($p \leq 0,001$ et $p \leq 0,05$ respectivement).

Quel que soit le régime alimentaire d'origine, la mortalité post-larvaire reste faible, inférieure à 9 % en fin d'expérience. Quant à la population larvaire, la mortalité est faible en première semaine (12 % pour le régime PTC et 14 % pour le lot PTCsp) mais forte en deuxième semaine, 58 % pour le lot d'origine PTC et 80 % pour le lot d'origine PTCsp.

La croissance post-larvaire en fin de première semaine dans le lot d'origine PTCsp est supérieure à celle dans le lot d'origine PTC (tailles moyennes respectives 513 et 387 μm ; fig. 30). Cette tendance ne se maintient pas au cours de la deuxième semaine, où à l'inverse, une taille moyenne finale 635 μm pour le lot d'origine PTC est enregistrée, alors que celle du lot d'origine PTCsp n'est que de 557 μm .

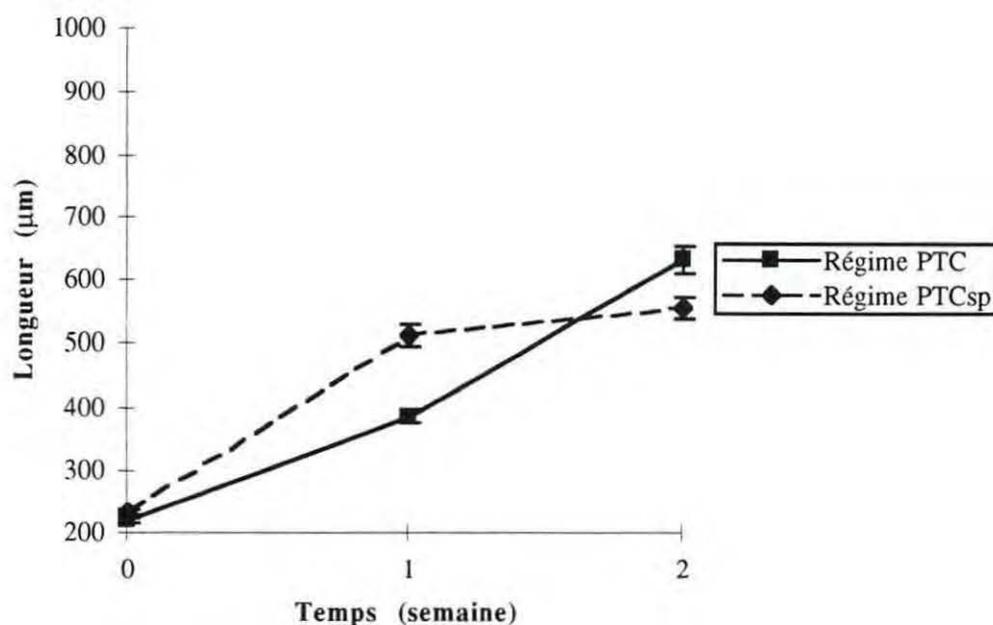


Fig. 30 : Influence de la qualité originelle de l'alimentation larvaire sur la croissance post-larvaire de *P. maximus* (moyenne \pm IC 95 %).

1.1.1.2 - Influence comparée des mélanges PTC et TCsp

En début d'expérience, le 20^{ème} jour, le pourcentage de double barre est de 53 % pour les larves nourries avec le mélange PTC et de 67 % pour l'élevage ayant reçu le régime TCsp. Au bout d'une semaine en micro-nurserie, le taux de métamorphose est voisin dans les deux élevages : 21 et 26 % (tab. 84, fig. 31). Par contre, en deuxième semaine, le nombre de post-larves diffère de manière significative selon le régime algal d'origine : 32 % pour le lot d'origine TCsp contre 45 % pour le lot d'origine PTC.

Temps (semaine)	Régime nutritionnel	
	PTC	TCsp
1	25,9 (1,0)	21,5 (3,1)
2	44,8 (1,4)	31,7 (3,2)

Tab. 84 : Influence de la qualité originelle de l'alimentation larvaire sur le pourcentage moyen de métamorphose de *P. maximus* au cours des deux premières semaines d'élevage. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts types.

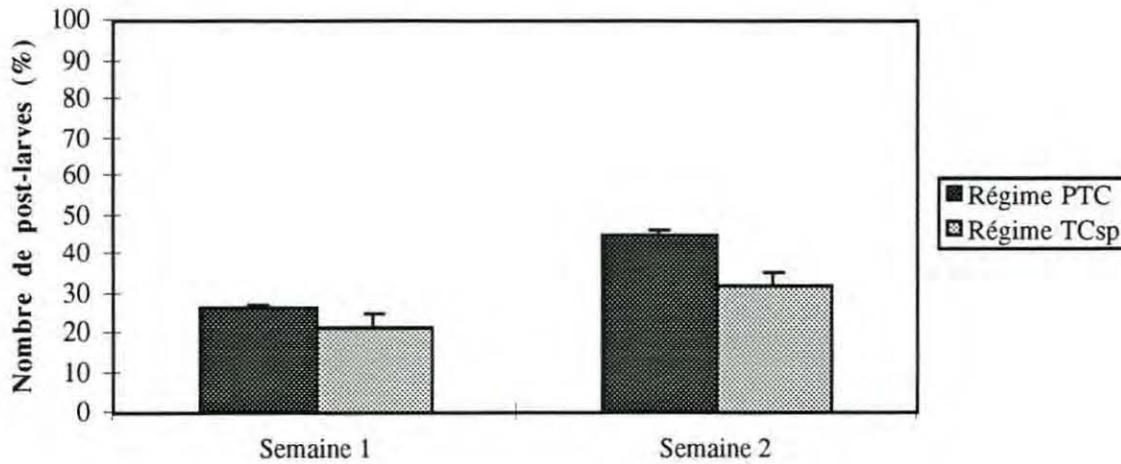


Fig. 31 : Influence de la qualité originelle de l'alimentation larvaire sur le pourcentage moyen de métamorphose de *P. maximus* au cours des deux premières semaines d'élevage. Les barres indiquent les écarts types.

Des tests de comparaison de moyenne démontrent que le régime algal des larves a une influence significative sur le taux de métamorphose en première et deuxième semaine ($p \leq 0,01$).

Quel que soit le lot, la mortalité post-larvaire est similaire et reste très faible, inférieure à 1 % en semaine 2. Pour la population larvaire, à la fin de l'expérience la mortalité est de l'ordre de 18 %.

De faibles différences dans la croissance post-larvaire sont notées : les tailles moyennes finales sont 498 μm pour le lot TCsp et 521 μm pour PTC (fig. 32).

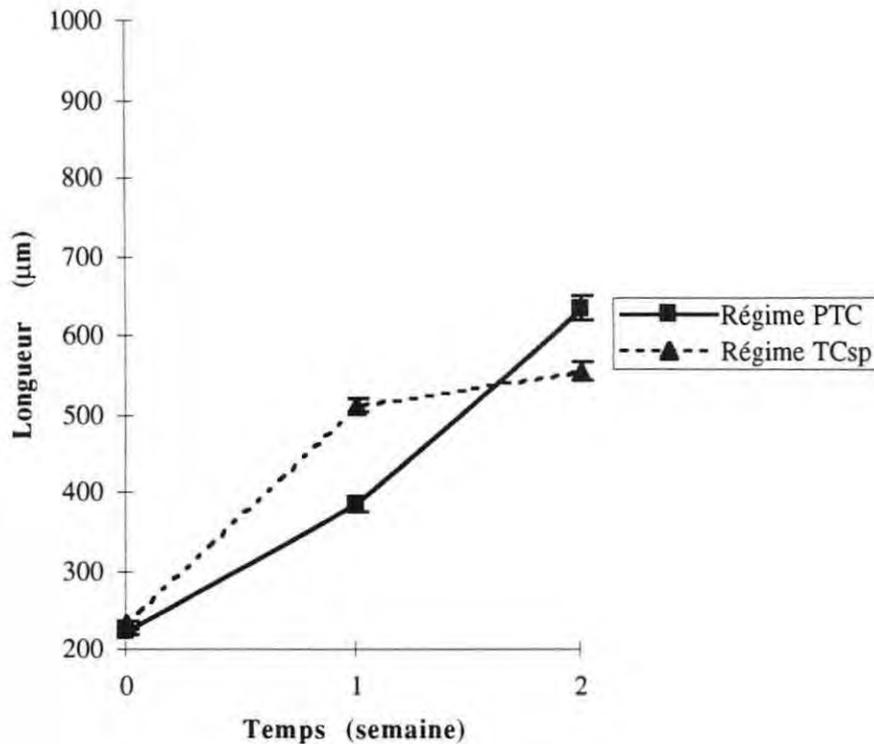


Fig. 32 : Influence de la qualité originelle de l'alimentation larvaire sur la croissance post-larvaire de *P. maximus* au cours des deux premières semaines d'élevage (moyenne \pm IC 95 %).

1.1.1.3 - Influence comparée des mélanges PTCc, PTCsp et TCsp

Les larves alimentées avec les régimes PTC et PTCsp présentent des taux de double barre de 45 % et 33 % au 22^{ème} jour d'élevage et sont alors transférées en micro-nurserie. Celles alimentées avec le régime TCsp ne sont passées en micro-nurserie que le 27^{ème} jour avec 47 % de double barre.

Au bout d'une semaine d'élevage post-larvaire, les taux de métamorphose sont compris entre 10 et 20 % (tab. 85, fig. 33), et en fin de deuxième semaine entre 30 et 50 %. Pour les régimes d'origine PTC et TCsp, les pourcentages de post-larves (12 et 19 % en semaine 1 et 47 et 45 % en semaine 2) sont supérieurs à ceux du régime d'origine PTCsp (10 % en semaine 1 et 31 % en semaine 2).

Temps (semaine)	Régime nutritionnel		
	PTC	PTCsp	TCsp
1	12,4 (1,1)	9,7 (1,0)	19,1 (11,3)
2	47,4 (4,6)	31,2 (0,1)	44,6 (2,5)

Tab. 85 : Influence de la qualité originelle de l'alimentation larvaire sur le pourcentage moyen de métamorphose de *P. maximus* au cours des deux premières semaines d'élevage. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts types.

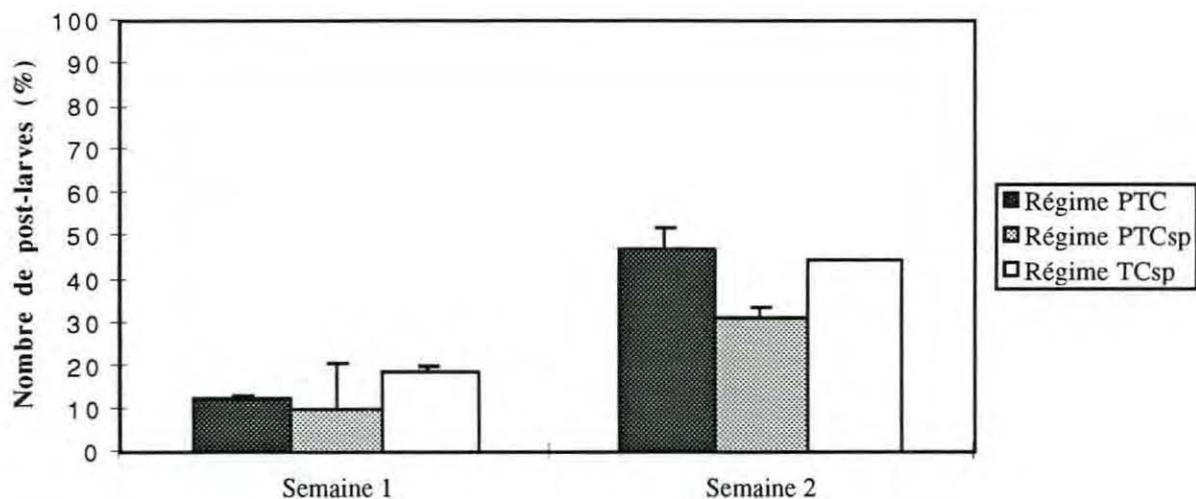


Fig. 33 : Influence de la qualité originelle de l'alimentation larvaire sur le pourcentage moyen de métamorphose de *P. maximus* au cours des deux premières semaines d'élevage. Les barres indiquent les écarts types.

Cependant, ces différences ne sont pas significatives. En effet, les tests non paramétriques de Kruskal Wallis montrent que le facteur régime alimentaire des larves n'a pas d'effet significatif sur le taux de métamorphose, en semaine 1 ($H = 3,4$ et $p = 0,18$) ou en semaine 2 ($H = 3,7$ et $p = 0,16$).

Inexistante en première semaine, la mortalité post-larvaire reste faible en deuxième semaine, inférieure à 2 %, quel que soit le lot d'origine.

La croissance post-larvaire diffère entre traitements : les longueurs moyennes sont comprises entre 312 μm et 350 μm en fin de première semaine et 431 à 471 μm en fin de deuxième semaine (fig. 34).

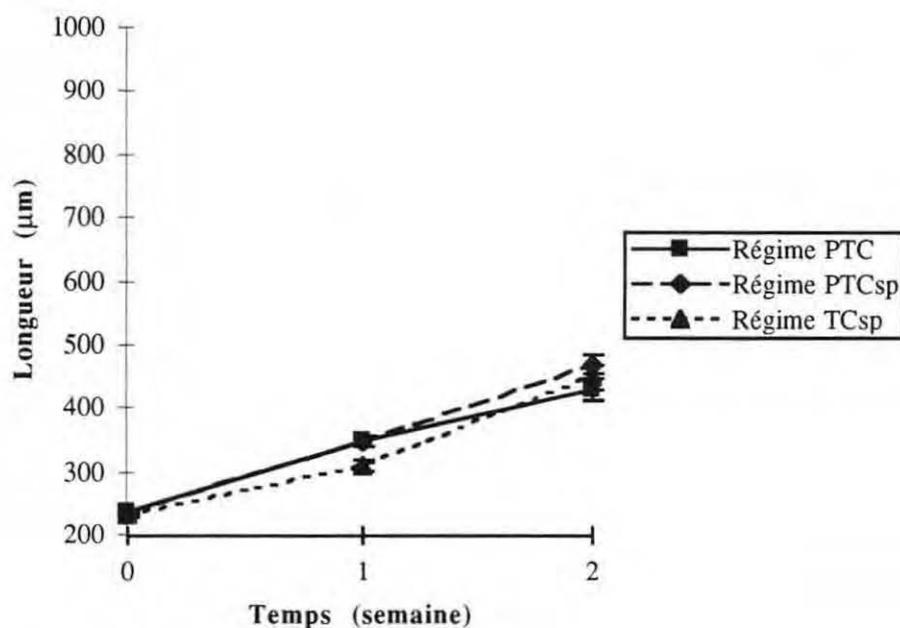


Fig. 34 : Influence de la qualité originelle de l'alimentation larvaire sur la croissance post-larvaire de *P. maximus* au cours des deux premières semaines d'élevage (moyenne \pm IC 95 %).

Une analyse de variance à un facteur, effectuée en semaines 1 et 2, montre que le facteur régime alimentaire des larves a un effet significatif, à très fortement significatif, sur la croissance post-larvaire. Par contre, un test de Scheffé ne permet pas de distinguer des tendances claires entre les groupes sur les deux semaines : pour exemple, les différences entre groupes PTC et PTCsp ne sont pas significatives la première semaine mais le deviennent la deuxième.

1.1.2 - Incidence d'une modification tardive du régime alimentaire des larves

1.1.2.1 - Influence comparée de *Chaetoceros calcitrans* et de *Skeletonema costatum*

Au moment du transfert, réalisé le même jour (24^{ème}) pour les deux lots, le taux de double barre est de 21 % pour l'élevage nourri avec le régime PTC et de 27 % pour l'élevage alimenté avec PTS.

A l'issue de la première semaine d'élevage post-larvaire, le taux de métamorphose du lot PTS est supérieur à celui du lot PTC, 36 % contre 22 % (tab. 86, fig. 35). Cette tendance se maintient tout au long de l'expérience avec en troisième semaine 69 % de métamorphose pour le lot PTS contre 49 % pour le lot PTC.

Temps (semaine)	Régime nutritionnel	
	PTS	PTC
1	35,6 (8,1)	22,4 (2,9)
2	58,1(3,3)	47,1 (3,0)
3	68,8 (9,7)	48,6 (2,9)

Tab. 86 : Influence de la composition de l'alimentation larvaire sur le pourcentage moyen de métamorphose de *P. maximus* au cours des trois premières semaines d'élevage. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts types.

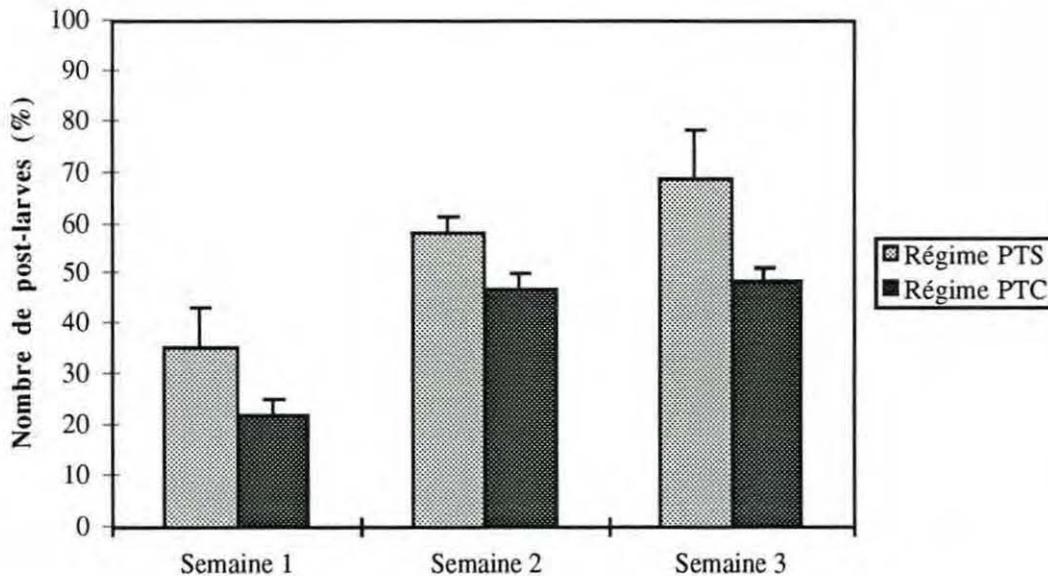


Fig. 35 : Influence de la composition de l'alimentation larvaire sur le pourcentage moyen de métamorphose de *P. maximus* au cours des trois premières semaines d'élevage. Les barres indiquent les écarts types.

Des tests t de comparaison de moyennes montrent que les différences entre les taux de métamorphose ne sont significatives qu'en deuxième et troisième semaine ($p \leq 0,05$).

La mortalité post-larvaire évolue de façon similaire dans les deux lots : 1 à 1,5 % en fin de première semaine, 2 à 7 % en deuxième semaine et environ 15 % en troisième semaine. Quant à la population larvaire, la mortalité augmente régulièrement au cours du temps. Pour le lot d'origine PTS, elle passe progressivement de 15 à 52 pour atteindre 79 % en troisième semaine, contre 23 et 93 % pour le lot d'origine PTC.

La croissance post-larvaire est systématiquement supérieure pour le lot PTS (fig. 36). Ainsi en fin

de troisième semaine, la longueur moyenne est de 719 μm contre 604 μm pour les post-larves préalablement alimentées avec le régime PTC.

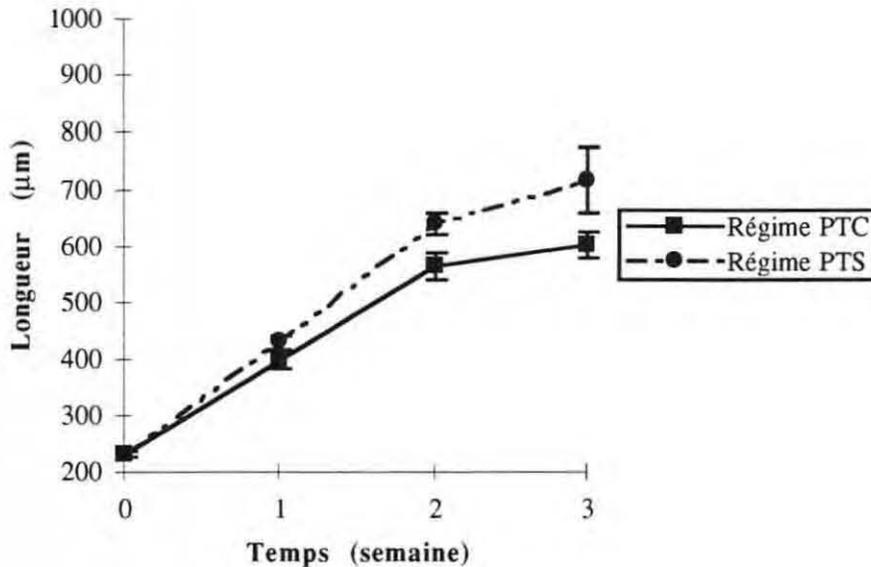


Fig. 36 : Influence de la composition de l'alimentation larvaire sur la croissance post-larvaire de *P. maximus* au cours des trois premières semaines d'élevage (moyenne \pm IC 95 %).

1.1.2.2 - Incidence d'un apport complémentaire de *Rhodomonas salina*

Pour les larves alimentées avec le régime PTCR, le transfert en micro-nurserie a lieu le 24^{ème} jour avec un taux moyen de double barre de 64 %. Ce transfert s'effectue trois jours plus tard pour le lot alimenté avec le régime PTC avec un taux de double barre de 83 % (30 % le 24^{ème} jour).

Au bout d'une semaine d'élevage post-larvaire les taux de métamorphose sont de 33% pour le lot d'origine PTCR et de 42 % pour le lot d'origine PTC. Cet écart s'estompe en fin de deuxième semaine avec un taux de post-larves compris entre 80 et 82 % (tab. 87, fig. 37).

Temps (semaine)	Régime nutritionnel	
	Régime PTC	Régime PTCR
1	42,0 (4,3)	32,8 (1,5)
2	82,5 (5,4)	80,6 (1,8)

Tab. 87 : Influence de la qualité originelle de l'alimentation larvaire sur le pourcentage moyen de métamorphose de *P. maximus* au cours des deux premières semaines d'élevage. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts types.

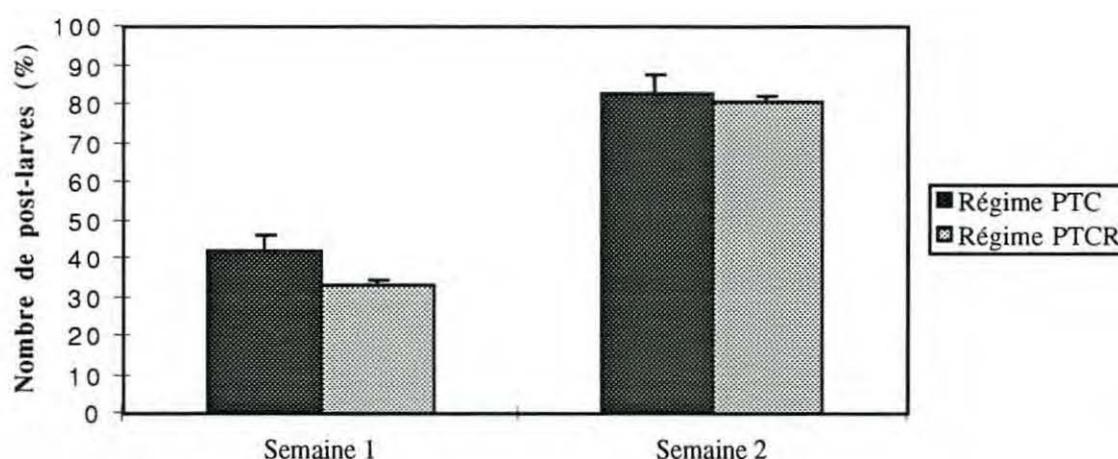


Fig. 37 : Influence de la qualité originelle de l'alimentation larvaire sur le pourcentage moyen de métamorphose de *P. maximus* au cours des deux premières semaines d'élevage. Les barres indiquent les écarts types.

Des tests t de comparaison de moyenne confirment que la différence entre les taux de métamorphose est significative au seuil de 5 % en première semaine mais pas en deuxième.

Quelle que soit l'alimentation larvaire, la mortalité post-larvaire est insignifiante, 1 à 1,5 % en fin de deuxième semaine. Quant à la mortalité larvaire, elle est comprise entre 10 et 15 % la première semaine et 30 à 50 % en deuxième semaine.

De faibles différences dans les tailles des post-larves sont notées en première semaine : 360 μm pour le lot PTC contre 369 μm pour le lot PTCR (fig. 38). En fin de deuxième semaine, cette tendance s'inverse puisque les longueurs moyennes sont respectivement de 618 μm et 567 μm .

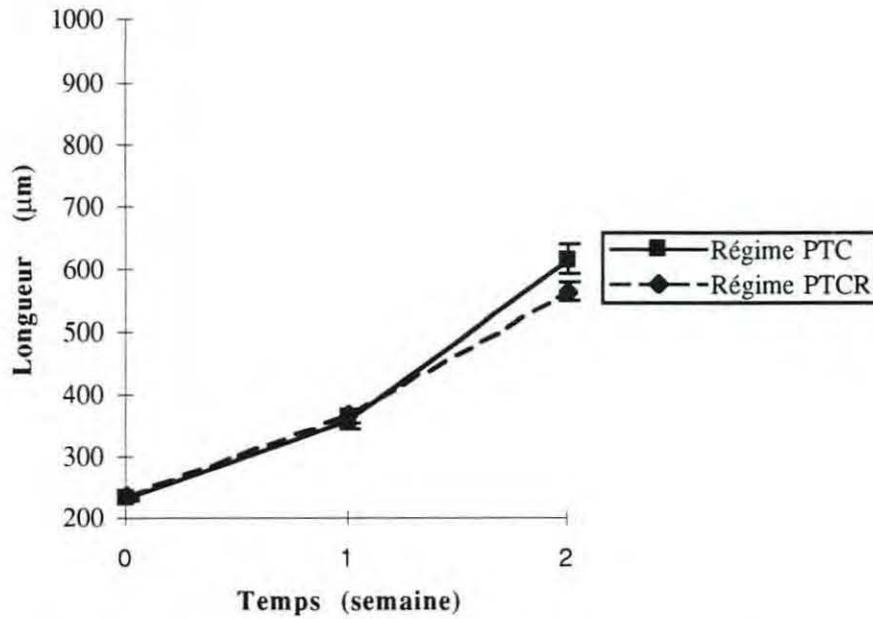


Fig. 38 : Influence de la qualité originelle de l'alimentation larvaire sur la croissance post-larvaire de *P. maximus* au cours des deux premières semaines d'élevage (moyenne \pm IC 95 %).

L'ensemble des données concernant l'influence de la nutrition larvaire sur les taux moyens de métamorphose et de croissance post-larvaire au cours des deuxième et troisième semaines est consigné dans le tableau 88. Les mortalités larvaire et post-larvaire sont reportées dans le tableau 89.

Ration des larves	Taux de métamorphose (%)			Longueur post-larvaire (μm) Taux de croissance journalier $S_n - S_{n-1} / 7$ ($\mu\text{m} \cdot \text{j}^{-1}$)			
	S1	S2	S3	S0	S1	S2	S3
PTC	27,4	74,7	-	222,9	386,9 23,5	635,3 35,5	-
PTCsp	48,2	71,7	-	234,1	513 40	557,4 6,5	-
PTC	25,9	44,9	-	236,4	363,6 18	521,5 22,5	-
TCsp	21,5	31,7	-	236,6	344,3 15,5	498 22	-
PTC	12,4	47,4	-	240,4	349,8 15,5	431,1 11,5	-
PTCsp	9,7	31,2	-	236,9	347,7 16	471,3 17,5	-
TCsp	19,1	44,7	-	235,8	311,7 11	450,5 20	-
PTC	22,4	47,1	48,6	233,6	400,4 24	566,7 24	604,2 5,5
PTS	35,6	58,1	68,8	232,1	431,7 28	642,4 30	718,6 11
PTC	42,0	82,5	-	235,0	359,9 18	618,3 37	-
PTCR	32,8	80,6	-	239,5	368,7 18,5	567,1 28,5	-

Tab. 88 : Récapitulatif des données concernant l'influence de l'alimentation larvaire sur la métamorphose et la croissance post-larvaire chez *P. maximus*.

Les valeurs en gras indiquent les taux de croissance journalière.

Rations des larves	Mortalité post-larvaire			Mortalité larvaire		
	S1	S2	S3	S1	S2	S3
PTC	0,24	2,58	-	12,01	57,74	-
PTCsp	0,20	8,85	-	14,06	80,56	-
PTC	0	1,09	-	4,05	18,76	-
TCsp	0	1,35	-	8,49	16,62	-
PTC	0	0,16	-	2,74	12,77	-
PTCsp	0	0,60	-	3,21	8,89	-
TCsp	0	1,87	-	9,23	49,22	-
PTC	1,63	7,45	15,13	22,19	74,08	92,96
PTS	1,18	2,42	14,39	14,66	52,42	78,98
PTC	0	1,44	-	15,88	50,72	-
PTCR	0,18	0,66	-	9,81	31,00	-

Tab. 89 : Récapitulatif des données concernant l'influence de l'alimentation larvaire sur la mortalité larvaire et post-larvaire chez *P. maximus*.

1.2 - INCIDENCE DE LA QUANTITE DE MICROALGUES DISTRIBUEES AUX POST-LARVES

1.2.1 - Incidence de la quantité de microalgues au cours du premier mois de vie post-larvaire

Au cours de cette expérience, des pédivéligères aptes à la métamorphose sont alimentées pendant quatre semaines en flux continu, avec un même mélange phytoplanctonique à quatre concentrations croissantes : 7, 17, 35 et 66 cellules. μL^{-1} .

A la fin de la première semaine, aux quatre niveaux les pourcentages de métamorphose sont similaires, compris entre 21 et 24 % (tab. 90, fig. 39). Ultérieurement, le nombre de post-larves augmente lentement jusqu'à la quatrième semaine où 40 à 46 % de métamorphose sont dénombrés et ce indépendamment de la quantité d'algues apportée.

Temps (semaine)	Apport phytoplanctonique (cellules. μL^{-1})			
	7	17	35	66
1	22,8 (0)	23,9 (0,3)	20,9 (0,6)	22,1 (0,4)
2	29,6 (2,9)	31,8 (0,4)	26,5 (1,1)	24,4 (0,0)
3	35,1 (4)	39,6 (1)	32,4 (4,4)	31,1 (0,1)
4	39,6 (0,6)	45,9 (3,8)	40,7 (2,6)	39,6 (6,1)

Tab. 90 : Influence de l'apport phytoplanctonique sur le taux moyen de métamorphose de *P. maximus* au cours du premier mois d'élevage. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts types.

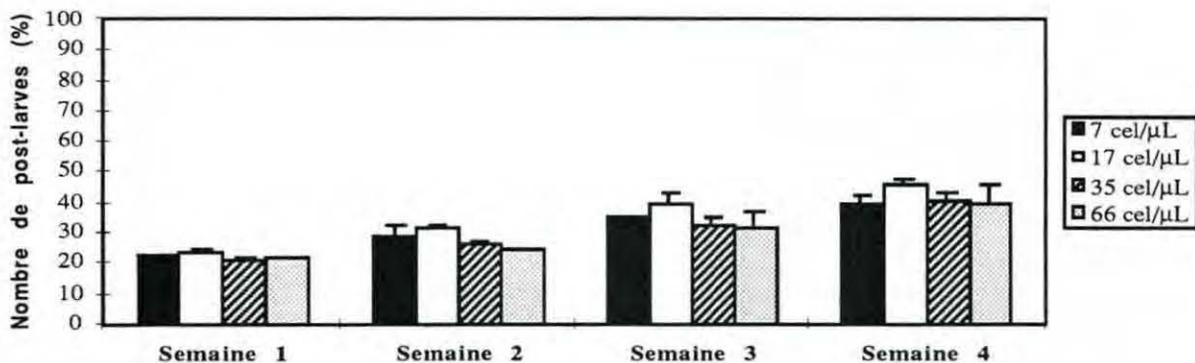


Fig. 39 : Influence de l'apport phytoplanctonique sur le taux moyen de métamorphose de *P. maximus* au cours du premier mois d'élevage. Les barres indiquent les écarts types.

Une analyse de variance à deux facteurs montre l'effet hautement significatif du temps et la faible influence de l'alimentation sur la métamorphose (tab. 91).

Variable	DL	CM	F ratio	P
Temps	3	538,3	40,6	(***)
Apport phytoplanctonique	3	56,6	4,3	(*)
Apport phytoplanctonique*Temps	9	4,7	0,4	(NS)
Résiduelle	16	13,3		

*** Significatif à $P \leq 0,001$; * Significatif à $P \leq 0,05$; NS = non significatif.

DL = degré de liberté. CM = carré moyen.

Tab. 91 : Action combinée du temps (semaine) et de l'apport phytoplanctonique sur la métamorphose de *P. maximus*. Une analyse de variance à deux facteurs est réalisée sur l'ensemble des données acquises pendant quatre semaines.

Un test de comparaisons multiples de moyennes montre que ces différences sont significatives à très significatives entre tous les groupes excepté entre les semaines 1 et 2 ($P = 0,0525$; tab. 92), ce qui signifie que la métamorphose s'effectue de façon continue au cours du premier mois.

Groupes	1	2	3	4
1	•	(NS)	(***)	(***)
2		•	(*)	(***)
3			•	(*)
4				•

*** Significatif à $P \leq 0,001$; * Significatif à $P \leq 0,05$; NS = non significatif.

Tab. 92 : Effet du temps (semaine) sur la métamorphose de *P. maximus* sur une période de quatre semaines. Un test de comparaisons multiples de Scheffé montre les différences de semaine à semaine (groupes).

Bien que la métamorphose soit un processus continu, son intensité est faible. Elle s'explique par une forte mortalité larvaire décelée à l'issue de la première semaine (80 à 90 %).

De plus, le facteur nutritionnel a un effet faiblement significatif car une différence significative n'est mise en évidence qu'entre les rations 17 et 66 cellules. μL^{-1} (tab. 93).

Groupes	7	17	35	66
7	•	(NS)	(NS)	(NS)
17		•	(NS)	(*)
35			•	(NS)
66				•

* Significatif à $P \leq 0,05$; NS = non significatif.

Tab. 93 : Effet de l'apport phytoplanctonique sur la métamorphose de *P. maximus* sur une période de quatre semaines. Un test de comparaison multiple de Scheffé montre les différences entre les rations d'algues (groupes).

Tout au long de l'expérience, les mortalités post-larvaires les plus faibles sont observées aux plus faibles densités en microalgues, 7 et 17 cellules. μL^{-1} (< à 12 % en fin de quatrième semaine ; tab. 94). Aux plus fortes densités, elles atteignent 27 % en fin d'expérience.

Temps (semaine)	Apport phytoplanctonique (cellules. μL^{-1})			
	7	17	35	66
1	4,0 (0,7)	5,1 (1,4)	8,4 (1,8)	4,7 (0,5)
2	6,4 (1,5)	8,8 (1,3)	13,6 (2,1)	17,4 (5,8)
3	7,0 (1,0)	8,8 (0,2)	18,0 (2,7)	16,5 (5,7)
4	10,6 (1,1)	12,3 (0,0)	24,7 (7,0)	26,6 (6,7)

Tab. 94 : Influence de l'apport phytoplanctonique (nombre de cellules. μL^{-1}) sur la mortalité post-larvaire (%) de *P. maximus* au cours du premier mois d'élevage. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts types.

Une analyse de variance à deux facteurs montre l'effet significatif du temps et l'effet hautement significatif de la nourriture sur la mortalité post-larvaire (tab. 95). A l'inverse, l'interaction temps - nourriture n'a aucun effet sur cette variable.

Variable	DL	CM	F ratio	P
Temps	3	226,3	9,9	(***)
Apport phytoplanctonique	3	191,2	8,3	(**)
Apport phytoplanctonique*Temps	9	20,7	0,9	(NS)
Résiduelle	16	22,9		

*** Significatif à $P \leq 0,001$; ** Significatif à $P \leq 0,01$; NS = non significatif.

DL = degré de liberté. CM = carré moyen.

Tab. 95 : Action combinée du temps (semaine) et de l'apport phytoplanctonique sur la mortalité post-larvaire de *P. maximus*. Une analyse de variance à deux facteurs est réalisée sur l'ensemble des données acquises sur une période de quatre semaines.

Un test de comparaisons multiples de moyennes montre que les différences de mortalité ne sont significatives qu'entre la semaine 1 et la semaine 4. Aucune différence n'est enregistrée pour les autres groupes, démontrant ainsi que la mortalité post-larvaire est faible et progressive (tab. 96).

Groupes	1	2	3	4
1	•	(NS)	(NS)	(***)
2		•	(NS)	(NS)
3			•	(NS)
4				•

*** Significatif à $P \leq 0,001$; NS = non significatif.

Tab. 96 : Effet du temps (semaine) sur la mortalité post-larvaire de *P. maximus* sur une période de quatre semaines. Un test de comparaisons multiples de Scheffé montre les différences de semaine à semaine (groupes).

L'effet de la nourriture est faiblement significatif entre les valeurs extrêmes 7 - 35 cellules. μL^{-1} , 7 - 66 cellules. μL^{-1} et 17 - 66 cellules. μL^{-1} . Pour les autres groupes les différences ne sont pas significatives (tab. 97).

Groupes	7	17	35	66
7	•	(NS)	(*)	(*)
17		•	(NS)	(*)
35			•	(NS)
66				•

* Significatif à $P \leq 0,05$; NS = non significatif.

Tab. 97 : Effet de l'apport phytoplanctonique sur la mortalité post-larvaire de *P. maximus* sur une période de quatre semaines. Un test de comparaisons multiples de Scheffé montre les différences entre les rations d'algues (groupes).

Quant à la croissance post-larvaire, aucune différence de taille n'est notée à l'issue du premier mois d'élevage avec des longueurs comprises entre 1,7 mm et 2 mm (fig. 24).

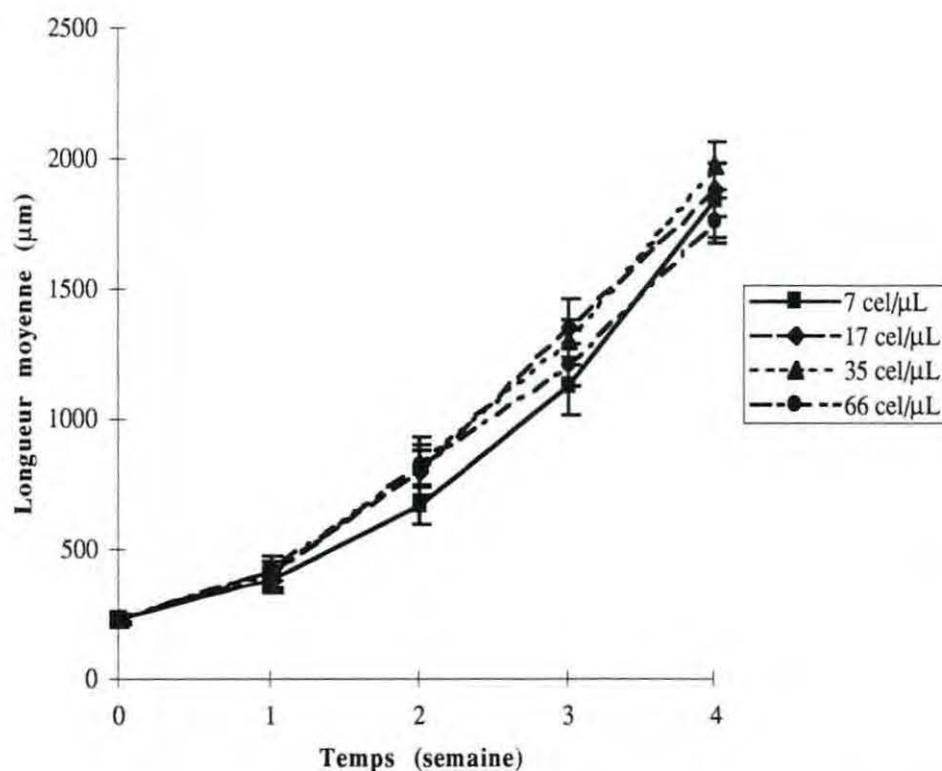


Fig. 40 : Influence de l'apport phytoplanctonique sur la croissance post-larvaire de *P. maximus* au cours du premier mois d'élevage (moyenne \pm IC 95 %).

Les croissances journalières, entre les semaines 1 et 4, sont de 69 - 70 - 75 et 64 μm pour des apports phytoplanctoniques de 7, 17, 35 et 66 cellules. μL^{-1} respectivement, conduisant à un écart

maximum de croissance de 15 %. Des différences hautement significatives de taille sont mises en évidence chaque semaine (tab. 98), mais, des tests de comparaisons multiples révèlent des différences constantes uniquement entre les niveaux extrêmes, 7 et 66 cellules. μL^{-1} .

Variable	DL	CM	F ratio	P	Semaine 1
Apport phytoplanctonique	3	31 618,3	6,1	(***)	
Variable	DL	CM	F ratio	P	Semaine 2
Apport phytoplanctonique	3	582 709,7	15,9	(***)	
Variable	DL	CM	F ratio	P	Semaine 3
Apport phytoplanctonique	3	1013 158,7	11,0	(***)	
Variable	DL	CM	F ratio	P	Semaine 4
Apport phytoplanctonique	3	757 818,9	5,8	(***)	

*** Significatif à $P \leq 0,001$.

DL = degré de liberté. CM = carré moyen.

Tab. 98 : Effet de l'apport phytoplanctonique sur la croissance de *P. maximus* sur une période de quatre semaines. Une analyse de variance à un seul facteur a été réalisée chaque semaine.

1.2.2 - Incidence de la quantité de microalgues au cours des deux premiers mois de vie post-larvaire

Pour cette expérience, des pédivéligrères sont récupérées en écloserie commerciale après une semaine d'élevage en circuit ouvert (début d'initialisation de la métamorphose). Elles ont été exposées ultérieurement pendant huit semaines en flux continu à deux niveaux alimentaires : 7 et 66 cellules. μL^{-1} . Le nombre de double barre est particulièrement élevé, 96 %, à la mise en place de l'expérimentation.

Une semaine après la mise en condition expérimentale, le pourcentages de post-larves sont compris entre 61 et 66 % (tab. 99, fig. 41). Puis, durant la troisième semaine, celui-ci atteint 78 %. Par la suite, le nombre de post-larves augmente régulièrement, il est de 86 % à la fin du deuxième mois. Quelle que soit la ration alimentaire la métamorphose évolue parallèlement.

Apport phytoplanctonique (cel. μL^{-1})	Temps (semaine)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
7	65,8 (6,0)	78,3 (2,2)	82,3 (0,6)	83,5 (0,3)	80,1 (0,0)	85,6 (1,1)	91,0 (0,5)	88,4 (1,3)
66	60,9 (0,9)	76,8 (2,5)	75,8 (0,8)	77,4 (0,6)	79,2 (0,1)	90,8 (1,1)	91,4 (3,6)	89,2 (1,4)

Tab. 99 : Influence de l'apport phytoplanctonique (nombre de cellules. μL^{-1}) sur le taux moyen de métamorphose de *P. maximus* au cours des deux premiers mois d'élevage. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts types.

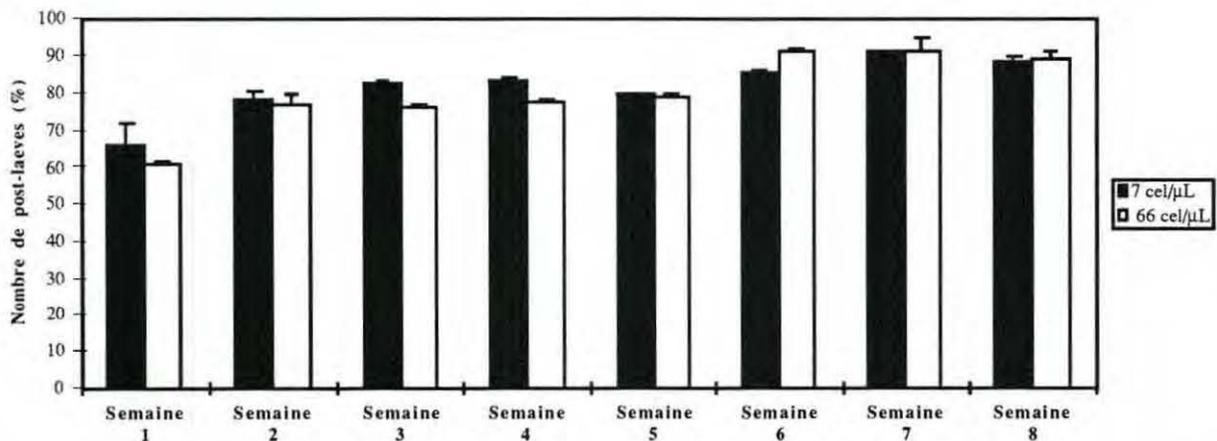


Fig. 41 : Influence de l'apport phytoplanctonique sur le taux moyen de métamorphose de *P. maximus* au cours des deux premiers mois. Les barres indiquent les écarts types.

Une analyse de variance à deux facteurs montre l'effet hautement significatif du temps et la non significativité du facteur nutrition ainsi que l'interaction temps - nutrition sur le taux de métamorphose (tab. 100).

Variable	DL	CM	F ratio	P
Semaine	7	311,3	32,3	(***)
Apport phytoplanctonique	1	7,1	0,7	(NS)
Apport phytoplanctonique*Temps	7	19,9	2,1	(NS)
Résiduelle	15	9,6		

*** Significatif à $P \leq 0,001$; NS = non significatif.

DL = degré de liberté. CM = carré moyen.

Tab. 100 : Effet combiné du temps (semaine) et de l'apport phytoplanctonique sur la métamorphose de *P. maximus*. Une analyse de variance à deux facteurs est réalisée sur l'ensemble des données acquises sur une période de huit semaines.

Un test de comparaisons multiples de moyennes (test de Scheffé) met en évidence des différences significatives entre la semaine 1 et toutes les autres et entre la semaine 2 et les semaines 5, 6, 7 et 8 (tab. 101). Aucune différence n'est notée pour les autres groupes indiquant que la plupart des larves se sont métamorphosées en semaine 1. La métamorphose se poursuit de façon plus atténuée mais significative en semaine 2. Elle évolue ultérieurement de façon lente et progressive jusqu'en cinquième semaine. Au delà aucune post-larve additionnelle n'est enregistrée.

Groupes	1	2	3	4	5	6	7	8
1	•	(**)	(***)	(***)	(***)	(***)	(***)	(***)
2		•	(NS)	(NS)	(*)	(*)	(*)	(*)
3			•	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)
4				•	(NS)	(NS)	(NS)	(*)
5					•	(NS)	(NS)	(NS)
6						•	(NS)	(NS)
7							•	(NS)
8								•

*** Significatif à $P \leq 0,001$; ** Significatif à $P \leq 0,01$; * Significatif à $P \leq 0,05$; NS = non significatif.

Tab. 101 : Effet du temps (semaine) sur la métamorphose de *P. maximus* sur une période de huit semaines. Un test de comparaisons multiples de Scheffé montre les différences de semaine à semaine (groupes).

L'observation de la population larvaire montre qu'à partir de la deuxième semaine cette évolution de la métamorphose est bloquée, de fortes mortalités (90 %) affectant la population larvaire.

Pour les deux niveaux nutritionnels, la mortalité post-larvaire augmente progressivement au cours du temps (tab. 102). A la fin de la première semaine elle est égale à 3 % et atteint environ 50 % à

la fin de l'expérience en semaine 8 (tab. 102).

Apport phytoplanctonique (cel. μL^{-1})	Temps (semaine)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
7	2,4 (0,6)	8,5 (0,6)	10,2 (1,5)	12,4 (0,5)	19,3 (1,4)	28,7 (1,8)	31,5 (1,4)	50,0 (0,3)
66	3,5 (0,2)	13,9 (0,8)	17,1 (3,2)	19,4 (4,6)	22,6 (2,8)	24,9 (0,7)	39,6 (1,5)	48,4 (0,3)

Tab. 102 : Incidence de l'apport phytoplanctonique (nombre de cellules. μL^{-1}) sur la mortalité post-larvaire (%) de *P. maximus* au cours des deux premiers mois d'élevage. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts types.

Une analyse de variance à deux facteurs montre à nouveau la très forte influence du facteur temps sur la mortalité post-larvaire et la non significativité du facteur nutritionnel (tab. 103).

Variable	DL	CM	F ratio	P
Temps	7	729,7	17,4	(***)
Apport phytoplanctonique	1	82,5	1,9	(NS)
Apport phytoplanctonique*Temps	7	17,9	0,4	(NS)
Résiduelle	15	41,9		

*** Significatif à $P \leq 0,001$; NS = non significatif.

DL = degré de liberté. CM = carré moyen.

Tab. 103 : Effet combiné du temps (semaine) et de l'apport phytoplanctonique sur la mortalité post-larvaire de *P. maximus*. Une analyse de variance à deux facteurs est réalisée sur l'ensemble des données acquises sur une période de huit semaines.

Un test de comparaisons multiples des moyennes met en évidence des différences significatives entre la semaine 8 et toutes les autres semaines (excepté avec la semaine 7), entre la semaine 7 et les semaines 1, 2 et 3 et entre la semaine 6 et la semaine 1 (tab. 104) démontrant ainsi l'apparition notable des mortalités post-larvaires à partir de la septième semaine puis évoluant lentement.

Groupes	1	2	3	4	5	6	7	8
1	•	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)	(*)	(***)	(***)
2		•	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)	(*)	(***)
3			•	(NS)	(NS)	(NS)	(*)	(***)
4				•	(NS)	(NS)	(NS)	(**)
5					•	(NS)	(NS)	(**)
6						•	(NS)	(*)
7							•	(NS)
8								•

*** Significatif à $P \leq 0,001$; ** Significatif à $P \leq 0,01$; * Significatif à $P \leq 0,05$; NS = non significatif.

Tab. 104 : Effet du temps (semaine) sur la mortalité post-larvaire de *P. maximus* sur une période de huit semaines. Un test de comparaisons multiples de Scheffé montre les différences de semaine à semaine (groupes).

L'influence de l'apport phytoplanctonique est mise en évidence sur la croissance post-larvaire après deux semaines d'exposition à des niveaux alimentaires différents (fig. 42).

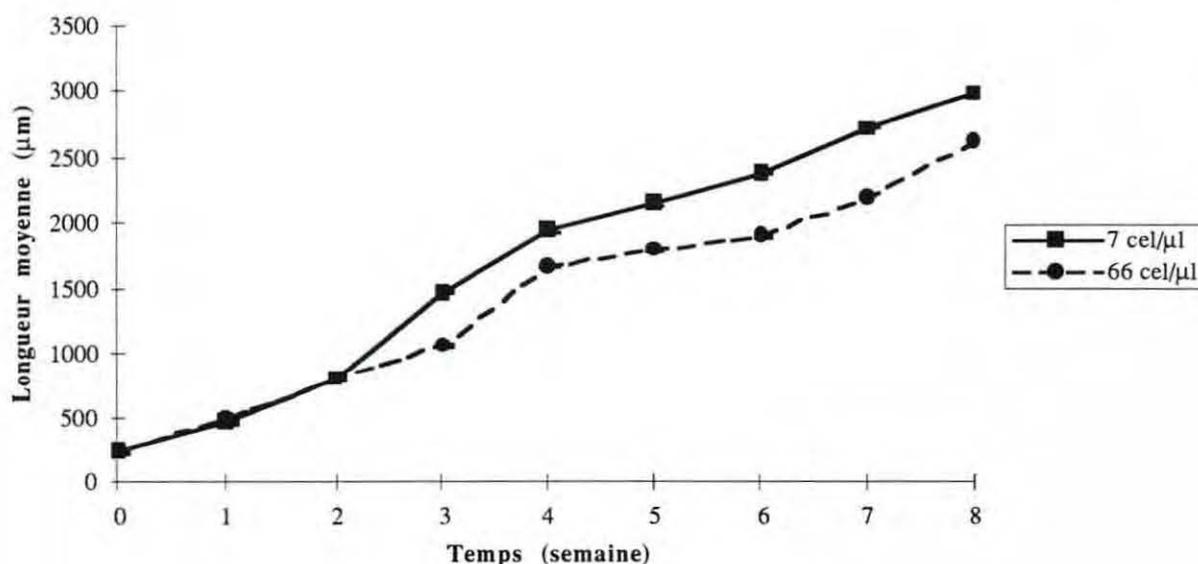


Fig. 42 : Influence de l'apport phytoplanctonique (nombre de cellules. μL^{-1}) sur la croissance post-larvaire de *P. maximus* au cours des deux premiers mois d'élevage (moyenne \pm IC 95 %).

Les post-larves, âgées de trois semaines, alimentées avec la plus faible ration (7 cellules. μL^{-1}) présentent une taille significativement supérieure (différence d'environ 400 μm) par rapport à celles recevant la plus forte quantité de nourriture (66 cellules. μL^{-1}). Cette différence se maintient

tout au long de l'élevage puisqu'à la fin du deuxième mois, les tailles avoisinent 2,6 et 3,0 mm. Les taux de croissance journalière (calculés entre la 1^{ère} et la 8^{ème} semaine) sont alors de 44 et 52 μm .

Une analyse de variance à un facteur effectuée à la fin de chaque semaine met en évidence la forte significativité du facteur nutritionnel à partir de la troisième semaine (tab. 105).

Variable	DL	CM	F ratio	P
Temps S1	1	11 704,5	1,6	(NS)
S2	1	144,5	3,7	(NS)
S3	1	8120 450,0	82,5	(***)
S4	1	3808 800,0	11,1	(**)
S5	1	6174 098,0	13,6	(**)
S6	1	11848 712,0	14,9	(***)
S7	1	14429 192,0	11,6	(***)
S8	1	4046 085,3	2,7	(NS)

*** Significatif à $P \leq 0,001$; ** Significatif à $P \leq 0,01$; NS = non significatif.

DL = degré de liberté. CM = carré moyen.

Tab. 105 : Effet de l'apport phytoplanctonique sur la croissance post-larvaire de *P. maximus* sur une période de huit semaines. Une analyse de variance a été réalisée en fin de chaque semaine.

Deux hypothèses peuvent être avancées pour expliquer l'absence de différences significatives en 8^{ème} semaine : l'hétérogénéité plus marquée des longueurs post-larvaires et/ou des besoins alimentaires plus importants.

1.2.3 - Incidence du jeûne au cours des deux premiers mois de vie post-larvaire

Au cours de cette expérience, des pédivéligères aptes à la métamorphose sont exposées en flux continu pendant huit semaines, une série d'élevage étant alimentée à raison de 17 cellules. μL^{-1} (témoin), l'autre maintenue sans apport de phytoplancton.

A la fin de la première semaine, les élevages à jeun présentent 12 % de métamorphose, ce taux atteignant 20 % pour les élevages nourris (tab. 106, fig. 43). La troisième semaine se caractérise par un taux de métamorphose optimal : 38 % pour les élevages ne recevant pas d'algues et 48 % pour les élevages nourris. Ultérieurement, le nombre de post-larves reste stable, entre 30 et 35 % pour les premiers et entre 50 et 60 % pour les seconds. Tout au long de l'expérience la métamorphose suit globalement la même évolution mais le taux de post-larves reste supérieur dans les élevages alimentés.

Niveau nutritionnel (cel. μL^{-1})	Temps (semaine)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
0	11,9 (0,2)	27,0 (0,0)	37,8 (2,7)	36,7 (1,8)	35,4 (0,9)	34,2 (0,8)	32,8 (0,1)	28,6 (0,7)
17	19,6 (0,7)	46,0 (3,6)	48,2 (5,2)	50,8 (2,4)	50,7 (2,4)	50,6 (7,6)	51,4 (4,0)	58,6 (1,6)

Tab. 106 : Action du jeûne sur le pourcentage moyen de la métamorphose de *P. maximus* au cours des deux premiers mois d'élevage. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts types.

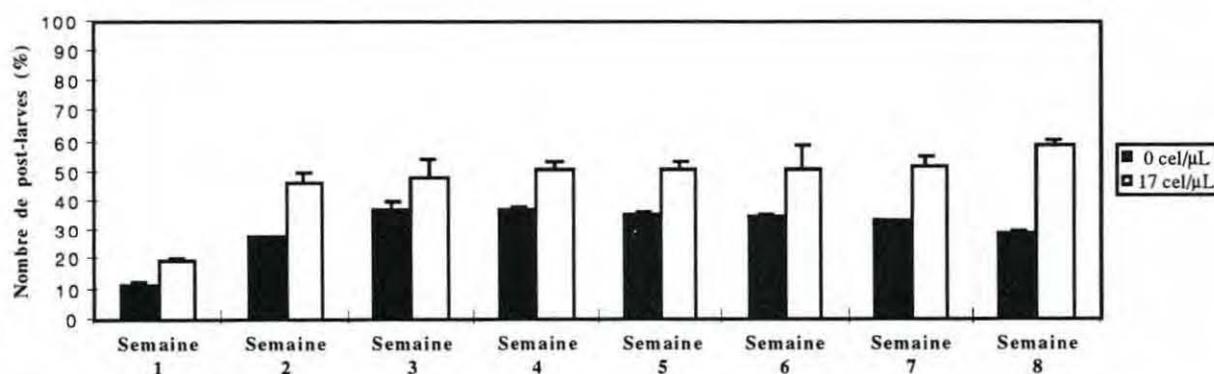


Fig. 43 : Influence du jeûne sur le pourcentage moyen de la métamorphose de *P. maximus* au cours des deux premiers mois d'élevage. Les barres indiquent les écarts types.

Une analyse de variance à deux facteurs montre l'effet hautement significatif du temps et de la nutrition sur la métamorphose (tab. 107).

Variable	DL	CM	F ratio	P
Temps	7	358,4	24,9	(***)
Nutrition	1	1994,1	138,6	(***)
Nutrition*Temps	7	56,7	3,9	(**)
Résiduelle	16	14,4		

*** Significatif à $P \leq 0,001$; ** Significatif à $P \leq 0,01$.

DL = degré de liberté. CM = carré moyen.

Tab. 107 : Effet combiné du temps (semaine) et du jeûne sur la métamorphose de *P. maximus*. Une analyse de variance à deux facteurs est réalisée sur l'ensemble des données acquises sur une période de huit semaines.

Un test de comparaisons multiples montre des différences hautement significatives entre la semaine 1 et toutes les autres. Aucune différence n'est enregistrée pour les autres groupes démontrant ainsi que la plupart des larves se sont métamorphosées au cours de la deuxième semaine (tab. 108).

Groupes	1	2	3	4	5	6	7	8
1	•	(***)	(***)	(***)	(***)	(***)	(***)	(***)
2		•	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)	(***)
3			•	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)
4				•	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)
5					•	(NS)	(NS)	(NS)
6						•	(NS)	(NS)
7							•	(NS)
8								•

*** Significatif à $P \leq 0,001$; NS = non significatif.

Tab. 108 : Effet du temps (semaine) sur la métamorphose de *P. maximus* sur une période de huit semaines. Un test de comparaisons multiples de Scheffé montre les différences de semaine à semaine (groupes).

L'observation de la population larvaire montre que l'évolution de la métamorphose ne pouvait se poursuivre, la plupart des véligrères étant mortes dès la troisième semaine (80 %).

La mortalité post-larvaire augmente lentement dans les élevages alimentés pour n'atteindre que 15 % en fin d'expérience, en huitième semaine. Chez les élevages maintenus à jeun, cette mortalité touche 40 % des post-larves en cinquième semaine et 67 % en huitième semaine (tab. 109).

Niveau nutritionnel (cel. μL^{-1})	Temps (semaine)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
0	0,2 (0,1)	3,9 (0,3)	10,8 (2,8)	17,7 (1,8)	40,8 (1,3)	52,4 (1,8)	61,1 (2,4)	67,1 (8,9)
17	1,3 (1,1)	1,6 (0,2)	4,9 (0,0)	9,1 (0,0)	12,8 (5,7)	15,4 (0,4)	14,4 (3,4)	15,1 (1,8)

Tab. 109 : Influence du jeûne sur la mortalité post-larvaire (%) de *P. maximus*. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts types.

Une analyse de variance à deux facteurs montre la très forte influence du temps, de la nutrition et de l'interaction temps - nutrition sur la mortalité post larvaire (tab. 110).

Variable	DL	CM	F ratio	P
Temps	7	1060,9	56,8	(***)
Nutrition	1	4031,1	215,8	(***)
Nutrition*Temps	7	445,6	23,8	(***)
Résiduelle	16	18,7		

*** Significatif à $P \leq 0,001$.

DL = degré de liberté. CM = carré moyen.

Tab. 110 : Effet combiné du temps (semaine) et de la nutrition sur la mortalité post-larvaire de *P. maximus*. Une analyse de variance à deux facteurs est réalisée sur l'ensemble des données acquises sur une période de huit semaines.

Un test de comparaisons multiples de moyennes de Scheffé met en évidence des différences significatives à partir de la cinquième semaine. Les différences non significatives enregistrées ultérieurement (entre les semaines 5, 6 et 7) montrent que ce processus évolue ultérieurement de façon lente (tab. 111).

Groupes	1	2	3	4	5	6	7	8
1	•	(NS)	(NS)	(NS)	(***)	(***)	(***)	(***)
2		•	(NS)	(NS)	(***)	(***)	(***)	(***)
3			•	(NS)	(**)	(***)	(***)	(***)
4				•	(*)	(***)	(***)	(***)
5					•	(NS)	(NS)	(*)
6						•	(NS)	(NS)
7							•	(NS)
8								•

*** Significatif à $P \leq 0,001$; ** Significatif à $P \leq 0,01$; * Significatif à $P \leq 0,05$; NS = non significatif.

Tab. 111 : Effet du temps (semaine) sur la mortalité post-larvaire de *P. maximus* sur une période de huit semaines. Un test de comparaisons multiples de Scheffé montre les différences de semaine à semaine (groupes).

La croissance post-larvaire (fig. 44) : des différences marquées apparaissent dès la fin de la deuxième semaine. La longueur moyenne des post-larves non nourries est 414 μm , contre 602 μm chez les témoins.

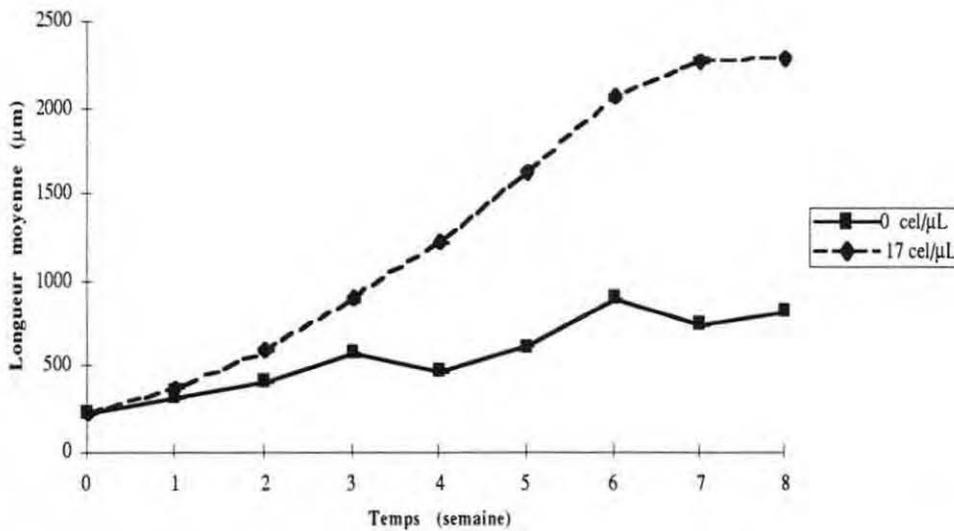


Fig. 44 : Influence du jeûne sur la croissance post-larvaire de *P. maximus* (moyenne \pm IC 95 %).

Tout au long de l'expérience, la taille des post-larves nourries est nettement supérieure à celles qui ne reçoivent pas d'algues. A l'issue des huit semaines d'élevage, la longueur moyenne des témoins est de 2,3 mm et seulement de 0,83 mm pour les post-larves maintenues à jeun. Les taux

de croissance journalière entre les semaines 1 et 8 sont alors de 32 et de 8 μm . Une analyse de variance à un facteur montre la forte significativité du facteur nutritionnel dès la première semaine d'élevage (tab. 112).

Variable	DL	CM	F ratio	P	
Nutrition	1	131 841,13	38,97	(***)	Semaine 1

*** Significatif à $P \leq 0,001$.

Tab. 112 : Effet du jeûne sur la croissance post-larvaire de *P. maximus* au cours de la première semaine d'élevage.

Le suivi de la croissance pondérale des post-larves échantillonnées en parallèle en cylindre tamis permet de constater que, malgré l'absence d'alimentation le poids sec des coquilles augmente, passant de 3,2 mg en première semaine à 90 mg au bout de huit semaines (fig. 45). Quant aux animaux alimentés, le poids sec passe de 5 à 347 mg en fin d'expérimentation, soit un gain pondéral de 9 mg. j^{-1} contre 2 mg. j^{-1} pour les élevages à jeun.

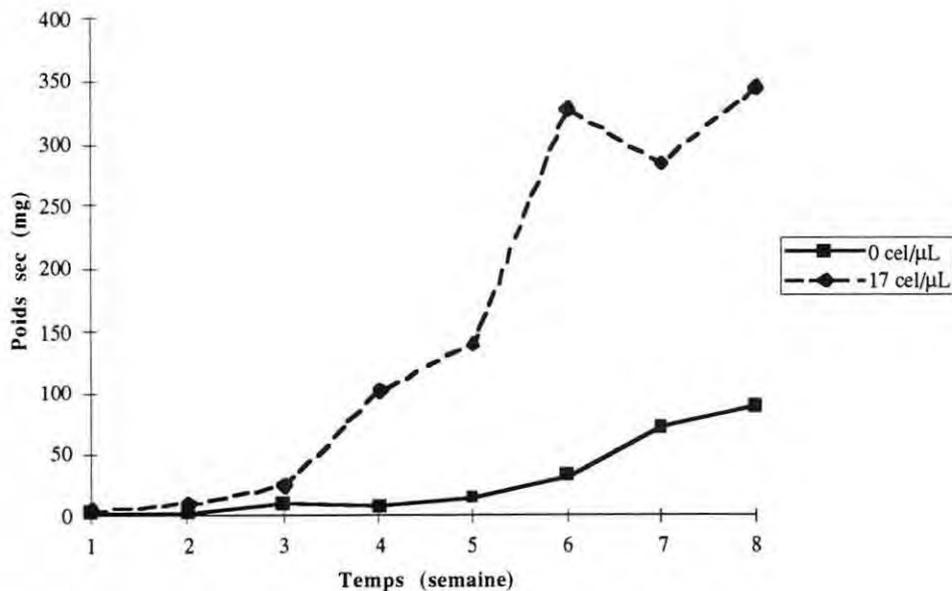


Fig. 45 : Influence du jeûne sur la croissance pondérale (poids sec) des post-larves de *P. maximus*.

2 - DEBIT D'EAU DE MER

2.1 - INCIDENCE DE LA TURBULENCE SUR LA METAMORPHOSE : EFFET TOUT OU RIEN

Au bout d'une semaine, chez *C. gigas*, le pourcentage de post-larves est de 46,4 % en eau stagnante contre 61,4 % en flux continu (tab. 113). Les mortalités sont les mêmes quelles que soient les conditions, 7,5 et 6,9 % respectivement (tab. 113)

	Métamorphose (%) ± EC	Mortalité (%) ± EC
Flux continu	61,4 (3,8)	6,9 (5,7)
Eau stagnante	46,4 (3,7)	7,5 (2,8)

Tab. 113 : Influence de la turbulence sur le pourcentage moyen de la métamorphose de *C.gigas*. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts types.

Un test t de comparaison de moyennes montre que la différence entre les deux conditions est significative au seuil de 1 % sur le taux de métamorphose.

Chez *P. maximus*, une même tendance se dégage puisque seuls 10,5 % de métamorphose est dénombré en eau stagnante contre 26,2 % en flux continu et les mortalités post-larvaires respectivement de 15 % et 10 % (tab. 114).

	Métamorphose (%)	Mortalité (%)
Continu	26,2 (2,2)	10,6 (3,0)
Stagnant	10,5 (5,3)	15,4 (7,7)

Tab. 114 : Influence de la turbulence sur le pourcentage moyen de métamorphose de *P. maximus*. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts types.

Un test t de comparaison de moyennes montre que la différence entre les deux conditions est significative au seuil de 5 %.

2.2 - INCIDENCE DU DÉBIT D'EAU DE MER SUR LA MÉTAMORPHOSE ET AU COURS DES PREMIÈRES SEMAINES DE VIE POST-LARVAIRE

A la fin de la première semaine, et quel que soit le débit d'eau de mer, les taux de métamorphose sont faibles, compris entre 10 et 18 % (tab. 115, fig. 46). Durant la deuxième semaine, celui-ci s'accroît fortement (48 %), excepté au débit le plus élevé où seulement 30 % de post-larves sont dénombrés. Pour ce dernier, l'augmentation la plus importante a lieu la troisième semaine avec un taux de 56 % de métamorphose. Pour les débits de 2,7 et 5,7 L. h⁻¹, le pourcentage de post-larves n'évolue pas ou peu durant les trois dernières semaines, tandis qu'une légère augmentation est observée aux valeurs de 4,3 et 8,3 L. h⁻¹ avec des taux de 64 et 71 % respectivement, à la fin de la cinquième semaine.

Temps (semaine)	Débit d'eau de mer (L. h ⁻¹)			
	2,7	4,3	5,7	8,3
1	9,7 (0,1)	13,9 (2,7)	18,2 (0,9)	17,7 (0,1)
2	48,5 (1,7)	47,9 (1,4)	47,1 (1,0)	30,0 (3,9)
3	48,1 (0,6)	54,9 (2,2)	52,1 (2,4)	56,1 (0,6)
4	45,8 (15,0)	59,2 (1,4)	56,4 (1,1)	59,2 (1,9)
5	48,1 (0,6)	64,5 (7,9)	55,8 (0,4)	71,6 (5,3)

Tab. 115 : Influence du débit d'eau de mer sur le taux moyen de métamorphose de *P. maximus* au cours des cinq premières semaines d'élevage. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts types.

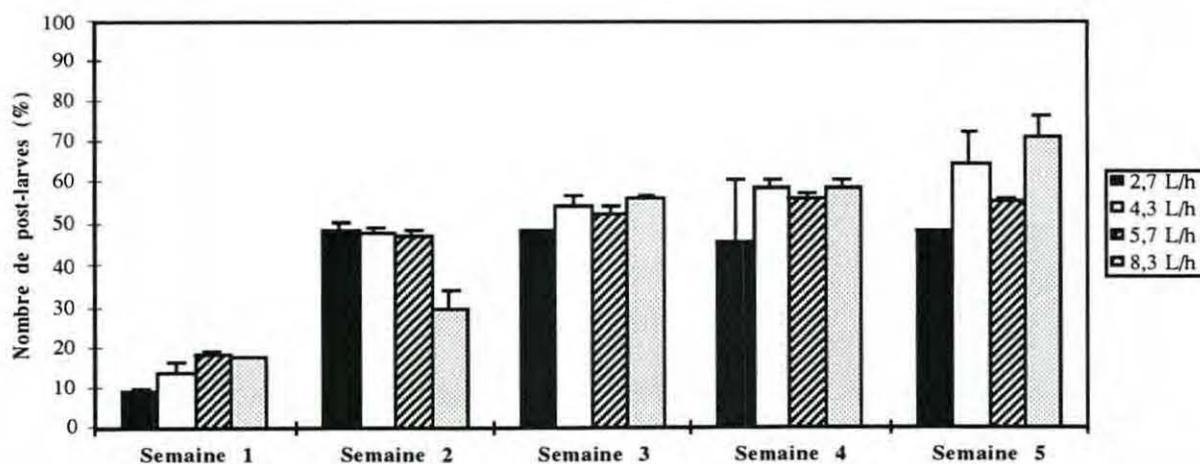


Fig. 46 : Influence du débit d'eau de mer sur le taux moyen de métamorphose de *P. maximus* au cours des cinq premières semaines d'élevage. Les barres indiquent les écarts types.

Une analyse de variance à deux facteurs montre l'effet hautement significatif du temps et la non significativité du débit sur le taux de métamorphose (tab. 116).

Variable	DL	CM	F ratio	P
Temps	4	2597,7	71,9	(***)
Débit eau de mer	3	128,3	3,5	(NS)
Débit*Temps	12	94,7	2,6	(*)
Résiduelle	20	36,1		

*** Significatif à $P \leq 0,001$; * Significatif à $P \leq 0,05$; NS = non significatif.

DL = degré de liberté. CM = carré moyen.

Tab. 116 : Action combinée du temps (semaine) et du débit d'eau de mer sur la métamorphose de *P. maximus*. Une analyse de variance à deux facteurs est réalisée sur l'ensemble des données acquises sur une période de cinq semaines.

Cependant, un test de comparaisons multiples de moyenne (test de Scheffé) montre que ces écarts ne sont significatifs qu'entre la première semaine et toutes les autres semaines et entre la deuxième et la quatrième et cinquième semaine (tab. 117). Aucune différence significative n'est enregistrée pour les autres groupes, démontrant ainsi que la plupart des larves se sont métamorphosées dès la deuxième semaine.

Groupes	1	2	3	4	5
1	•	(***)	(***)	(***)	(***)
2		•	(NS)	(*)	(***)
3			•	(NS)	(NS)
4				•	(NS)
5					•

*** Significatif à $P \leq 0,001$; * Significatif à $P \leq 0,05$; NS = non significatif.

Tab. 117 : Effet du temps (semaine) sur la métamorphose de *P. maximus* sur une période de cinq semaines. Un test de comparaison multiple de Scheffé montre les différences de semaine à semaine (groupes).

L'observation des populations larvaires montre que cette évolution ne pouvait se poursuivre, toutes les pédivéligères étant mortes au cours de la troisième semaine, pour tous les débits.

Quel que soit le débit d'eau de mer, la mortalité post-larvaire est inexistante durant les deux premières semaines et reste faible ultérieurement, < 9 % (tab. 118).

Temps (semaine)	Débit d'eau de mer (L. h ⁻¹)			
	2,7	4,3	5,7	8,3
1	1,0 (0,7)	0,5 (0,3)	0,5 (0,3)	0,3 (0,1)
2	0,3 (0,1)	0,3 (0,2)	0,1 (0,0)	0,6 (0,0)
3	0,7 (0,2)	0,4 (0,1)	3,1 (0,8)	3,1 (1,3)
4	3,6 (0,6)	4,1 (0,0)	5,7 (0,6)	6,3 (1,1)
5	6,7 (2,0)	5,2 (0,6)	8,9 (1,0)	5,5 (0,3)

Tab. 118 : Influence du débit d'eau de mer (L. h⁻¹) sur la mortalité post-larvaire (%) de *P. maximus*. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts types.

Une analyse de variance à deux facteurs montre à nouveau la forte influence du facteur temps (semaine) et la faible significativité du débit d'eau de mer sur la mortalité post-larvaire (tab. 119).

Variable	DL	CM	F ratio	P
Temps	4	61,5	72,2	(***)
Débit eau de mer	3	5,3	6,0	(*)
Débit*Temps	12	2,3	2,7	(*)
Résiduelle	20	0,8		

*** Significatif à $P \leq 0,001$; * significatif à $P \leq 0,05$.

DL = degré de liberté. CM = carré moyen.

Tab. 119 : Action combinée du temps (semaine) et du débit d'eau de mer sur la mortalité post-larvaire de *P. maximus*. Une analyse de variance à deux facteurs est réalisée sur l'ensemble des données acquises sur une période de cinq semaines.

Cependant, un test de comparaison multiple montre que ces différences, pour la mortalité post-larvaire, ne sont pas significatives uniquement entre la première semaine et les semaines 2 et 3 (tab. 120). Des différences significatives au seuil de 0,1 à 5 % sont notées pour les autres groupes démontrant que la mortalité post-larvaire apparaît à partir de la troisième semaine et se déroule de façon progressive.

Groupes	1	2	3	4	5
1	•	(NS)	(NS)	(***)	(***)
2		•	(*)	(***)	(***)
3			•	(***)	(***)
4				•	(*)
5					•

*** Significatif à $P \leq 0.001$; * Significatif à $P \leq 0.05$; NS = non significatif.

Tab. 120 : Effet du temps (semaine) sur la mortalité de *P. maximus* sur une période de cinq semaines. Un test de comparaison multiple de Scheffé montre les différences de semaine à semaine (groupes).

De faibles différences de croissance post-larvaire sont notées avec des valeurs comprises entre 1,5 mm et 1,7 mm en fin d'expérimentation (fig. 47).

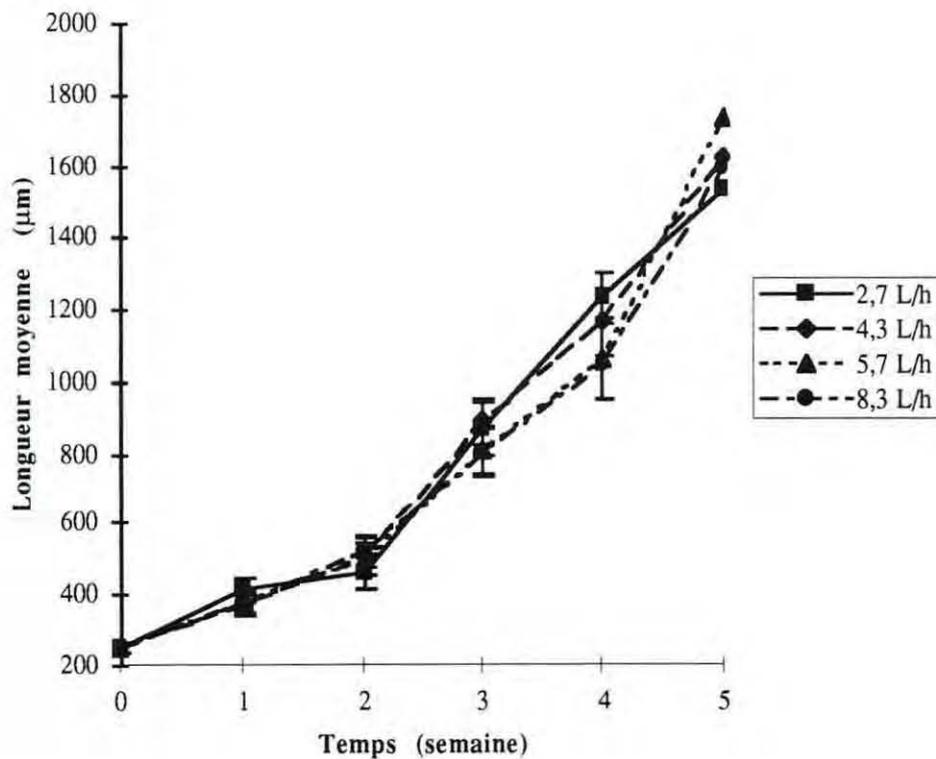


Fig. 47 : Influence du débit d'eau de mer sur la croissance post-larvaire de *P. maximus* (moyenne \pm IC 95 %).

Les taux de croissance journalière entre les semaines 1 et 5 sont de 37 μm , 41 μm , 45 μm et 40,5 μm pour les débits d'eau de mer de 2,7, 4,3, 5,7 et 8,3 L. h⁻¹ respectivement, conduisant à un

écart maximum de croissance de 17 %. Cependant, bien que des différences de croissance soient mises en évidence statistiquement chaque semaine ($p = 0,05$ à $p = 0,001$; tab. 121), des tests de comparaisons multiples ne montrent des différences systématiquement significatives qu'entre les valeurs extrêmes : 2,7 (Dmin) et 8,3 L.h⁻¹ (Dmax). Cependant, même dans ces conditions, aucune tendance claire ne peut être dégagée, les différences entre groupes étant positives ou négatives (exemple : en semaine 1 la différence entre Dmin et Dmax = 32,72 vs -68,92 en semaine 2).

Variable	DL	CM	F ratio	P	Semaine 1
Débit eau de mer	3	27 625,2	3,94	(**)	
Variable	DL	CM	F ratio	P	Semaine 2
Débit eau de mer	3	86 650,3	3,43	(*)	
Variable	DL	CM	F ratio	P	Semaine 3
Débit eau de mer	3	181 018,0	3,27	(*)	
Variable	DL	CM	F ratio	P	Semaine 4
Débit eau de mer	3	807 923,9	6,40	(***)	
Variable	DL	CM	F ratio	P	Semaine 5
Débit eau de mer	3	662 070,6	2,66	(*)	

*** Significatif à $P \leq 0,001$; ** Significatif à $P \leq 0,01$; * Significatif à $P \leq 0,05$; NS = non significatif.

Tab. 121 : Effet du débit d'eau de mer sur la croissance post-larvaire de *P. maximus* sur une période de cinq semaines. Une analyse de variance est réalisée en fin de chaque semaine.

3 - TEMPERATURE

Dès la première semaine, un plus faible taux de métamorphose est notée à 20°C (tab. 122, fig. 48). A cette température, 24 % de post-larves sont dénombrés, tandis qu'à 15°C ce taux atteint 42 %. Cette différence s'accroît en deuxième semaine avec des valeurs de 62 et 32 % respectivement. Ultérieurement et quelle que soit la température, aucune post-larve additionnelle n'est enregistrée. En quatrième semaine les taux de métamorphose sont de 64 % à 15°C contre 30 % à 20°C.

Températures (°C)	Temps (semaine)			
	1	2	3	4
15	42,4 (2,3)	62,3 (0,7)	63,0 (0,2)	64,2 (0,4)
20	23,6 (0,1)	31,5 (1,5)	31,8 (1,1)	30,4 (1,0)

Tab. 122 : Influence de la température sur le taux moyen de métamorphose de *P. maximus* au cours du premier mois d'élevage. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts types.

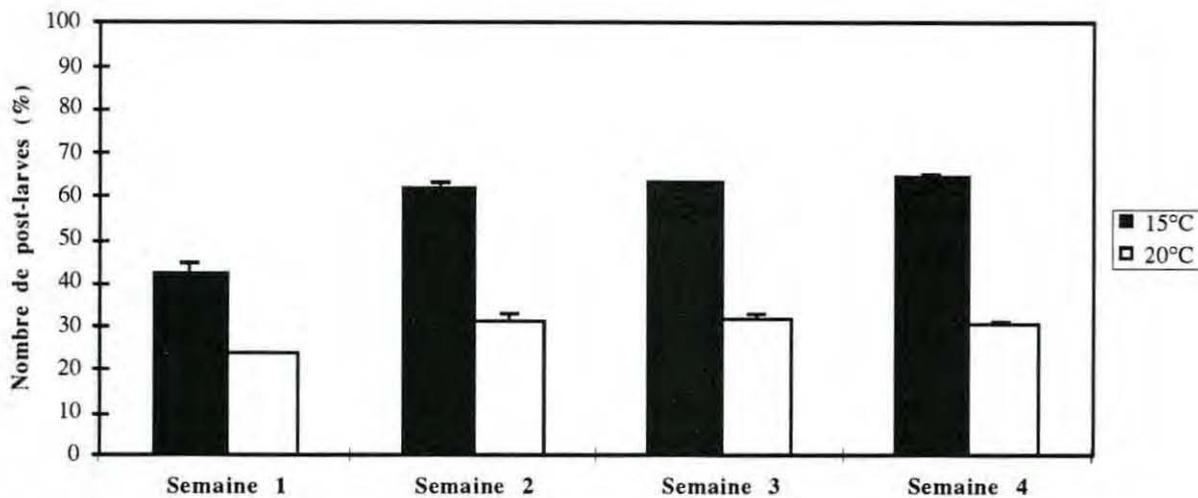


Fig. 48 : Influence de la température sur le taux moyen de métamorphose de *P. maximus* au cours du premier mois d'élevage. Les barres indiquent les écarts types.

Une analyse de variance à deux facteurs montre l'effet hautement significatif du temps ainsi que celui de la température et de leur interaction sur le taux de métamorphose (tab. 123).

Variable	DL	CM	F ratio	P
Temps	3	201,6	76,9	(***)
Température	1	3281,9	1252,5	(***)
Température*Temps	3	44,9	17,1	(***)
Résiduelle	8	2,6		

*** Significatif à $P \leq 0,001$.

DL = degré de liberté. CM = carré moyen.

Tab. 123 : Action combinée du temps (semaine) et de la température (15 et 20°C) sur la métamorphose de *P. maximus*. Une analyse de variance à deux facteurs a été réalisée sur une période de quatre semaines.

Cependant, un test de comparaisons multiples de moyenne (test de Scheffé) montre que cette différence n'est significative qu'entre la semaine 1 et les semaines 2, 3 et 4 (tab. 124). Aucune différence n'est notée entre les autres groupes, indiquant que la métamorphose s'est déroulée majoritairement au cours des deux premières semaines.

Groupes	1	2	3	4
1	•	(***)	(***)	(***)
2		•	(NS)	(NS)
3			•	(NS)
4				•

*** Significatif à $P \leq 0,001$; NS = non significatif.

Tab. 124 : Effet du temps (semaine) sur la métamorphose de *P. maximus* sur une période de quatre semaines. Un test de comparaison multiple de Scheffé montre les différences de semaine à semaine (groupes).

L'observation de la population larvaire montre que cette évolution ne pouvait se poursuivre, toutes les pédivéligères étant mortes en fin de deuxième semaine. Il est intéressant de noter à ce niveau que la mortalité larvaire était particulièrement forte à la température de 20°C dès la première semaine car elle atteignait la valeur de 85 % (vs 45 % à 15°C) ; en deuxième semaine les taux étaient de 96 % à 20°C et de 83 % pour 15°C.

De fortes mortalités post-larvaires sont dénombrées à la température de 20°C en troisième et quatrième semaine (respectivement 47 et 61 % : tab. 125). Celles-ci sont inférieures à 15°C mais restent néanmoins élevées (17 et 33 %).

Températures (°C)	Temps (semaine)			
	1	2	3	4
15	0,5 (0,3)	5,1 (0,2)	17,1 (0,2)	33,0 (5,9)
20	11,4 (0,2)	21,2 (3,7)	47,4 (8,0)	60,6 (3,4)

Tab. 125 : Influence de la température sur la mortalité post-larvaire (%) de *P. maximus* au cours du premier mois d'élevage. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts types.

Une analyse de variance à deux facteurs montre à nouveau l'effet hautement significatif du temps et de la température sur la mortalité post-larvaire (tab. 126).

Variable	DL	CM	F ratio	P
Temps	3	1591,4	46,7	(***)
Température	1	1520,0	44,6	(***)
Température*Temps	3	68,4	2,0	(NS)
Résiduelle	8	34,1		

*** Significatif à $P \leq 0,001$; NS = non significatif.

DL = degré de liberté. CM = carré moyen.

Tab. 126 : Action combinée du temps (semaine) et de la température (15 et 20°C) sur la mortalité post-larvaire de *P. maximus*. Une analyse de variance à deux facteurs est réalisée sur une période de quatre semaines.

Cependant, un test de comparaisons multiples de moyenne (Scheffé) montre qu'aucune différence n'est notée entre les semaines 1 et 2. Les mortalités au cours de chacune des deux premières semaines sont différentes de tous les autres groupes, indiquant ainsi que les post-larves meurent à partir de la troisième semaine et que la progression est rapide (tab. 127).

Groupes	1	2	3	4
1	•	(NS)	(**)	(***)
2		•	(*)	(***)
3			•	(*)
4				•

*** Significatif à $P \leq 0,001$; ** Significatif à $P \leq 0,01$; * Significatif à $P \leq 0,05$; NS = non significatif.

Tab. 127 : Effet du temps (semaine) sur la mortalité post-larvaire de *P. maximus* sur une période de quatre semaines. Un test de comparaison multiple de Scheffé montre les différences de semaine à semaine (groupes).

Dès la première semaine, l'influence de la température sur la croissance post-larvaire se fait ressentir avec des longueurs supérieures à la température de 15°C (fig. 49).

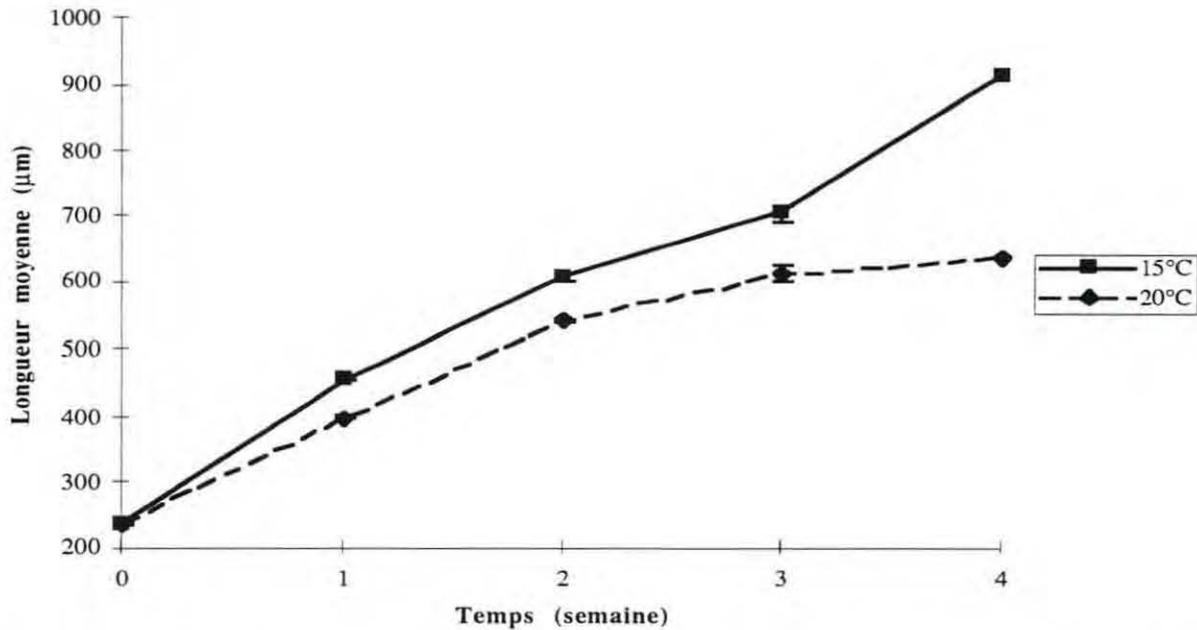


Fig. 49 : Influence de la température sur la croissance post-larvaire de *P. maximus* au cours du premier mois d'élevage (moyenne \pm IC 95 %).

Ainsi au bout d'un mois, la taille moyenne est de 917 μm à 15°C contre 637 μm à 20°C. Les croissances journalières entre la première et la quatrième semaine sont égales à 14 μm et 24 μm pour les températures de 20°C et 15°C respectivement, conduisant à un écart de croissance de 40 %. Une analyse de variance réalisée à la fin de chaque semaine confirme la forte signficativité des différences de croissance (tab. 128).

Variable	DL	CM	F ratio	P	Semaine
Température	1	163 592,0	56,5	(***)	1
Variable	DL	CM	F ratio	P	Semaine 2
Température	1	227 812,5	17,3	(***)	
Variable	DL	CM	F ratio	P	Semaine 3
Température	1	415 416,1	24,4	(***)	
Variable	DL	CM	F ratio	P	Semaine 4
Température	1	3 917200,5	106,7	(***)	

*** Significatif à $P \leq 0,001$.

Tab. 128 : Effet de la température sur la croissance de *P. maximus* sur une période de quatre semaines. Une analyse de variance est réalisée en fin de chaque semaine.

4 - EFFET COMBINÉ DE LA TEMPÉRATURE ET DE LA NUTRITION SUR LA MÉTAMORPHOSE ET AU COURS DES PREMIÈRES SEMAINES DE VIE POST-LARVAIRE

Dans cette expérience, des pédivéligères aptes à la métamorphose sont exposées, pendant cinq semaines, en flux continu aux quatre combinaisons de température et de nutrition suivantes : 15°C - 7 cellules. μL^{-1} , 15°C - 17 cellules. μL^{-1} , 18°C - 7 cellules. μL^{-1} et 18°C - 17 cellules. μL^{-1} .

A la fin de la première semaine, 15 à 20 % de métamorphose sont dénombrés à 15°C, quel que soit le ratio alimentaire, tandis que ce taux s'élève à 28 % à 18°C (tab. 129, fig. 50). Ultérieurement le nombre de post-larves augmente progressivement pour atteindre 36 à 38 % à 15°C et 41 à 54 % à 18°C.

Temps (semaine)	Combinaison nutrition/température (cel. $\mu\text{L}^{-1}/^{\circ}\text{C}$)			
	7/18	17/18	7/15	17/15
1	28,7 (8,3)	27,1 (1,2)	19,6 (0,8)	14,6 (1,0)
2	38,1 (1,5)	35,4 (0,7)	33,3 (2,0)	28,3 (0,6)
3	41,0 (1,0)	38,2 (2,3)	32,8 (0,1)	33,6 (0,1)
4	43,6 (2,7)	41,24 (1,7)	35,7 (1,6)	35,8 (0,2)
5	53,8 (5,8)	44,5 (3,8)	38,3 (1,3)	40,2 (3,0)

Tab. 129 : Influence combinée de la nutrition et de la température sur la métamorphose de *P. maximus* au cours des cinq premières semaines d'élevage. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts types.

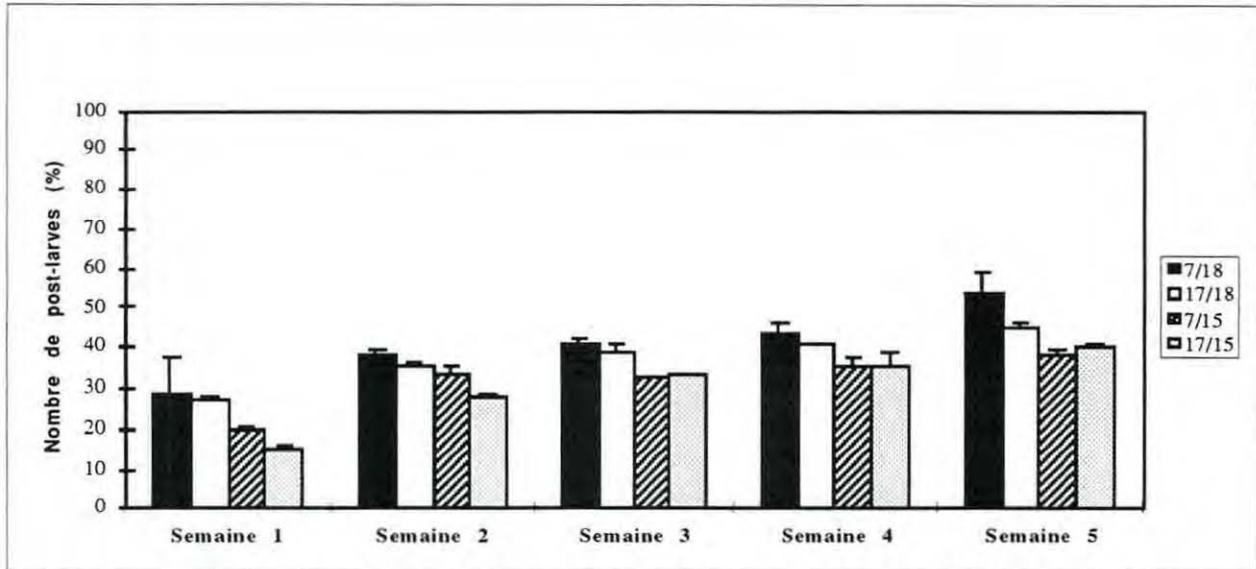


Fig. 50 : Influence de la nutrition et de la température sur le taux moyen de métamorphose de *P. maximus* au cours des cinq premières semaines. Les barres indiquent les écarts types.

Une analyse de variance à trois facteurs montre, d'une part l'effet hautement significatif du temps et de la température et, d'autre part, l'absence d'effet significatif de la nutrition et de l'interaction température - nutrition sur la métamorphose (tab. 130).

Variable	DL	CM	F ratio	P
Temps	4	521,4	33,1	(***)
Nutrition	1	64,8	4,1	(NS)
Nutrition*Temps	4	4,5	0,3	(NS)
Température	1	636,7	40,4	(***)
Température*Temps	4	9,6	0,6	(NS)
Nutrition*Température	1	11,5	0,7	(NS)
Temps*Température*Nutrition	4	16,7	1,1	(NS)
Résiduelle	20	15,7		

*** Significatif à $P \leq 0,001$; NS = non significatif.

DL = degré de liberté. CM = carré moyen.

Tab. 130 : Action combinée du temps (semaine), de la température (16 et 18°C) et de la nutrition (7 et 17 cel. μL^{-1}) sur la métamorphose de *P. maximus*. Une analyse de variance à trois facteurs est réalisée sur l'ensemble des données acquises sur une période de cinq semaines.

Cependant, un test de comparaisons multiples de moyenne (test de Scheffé) montre que les différences de métamorphose ne sont significatives qu'entre la première semaine et les semaines 2, 3, 4 et 5 et entre les semaines 2 et 5 et les semaines 3 et 5. Aucune différence n'est enregistrée

pour les autres groupes, démontrant ainsi que la plupart des larves se sont métamorphosées au cours de la deuxième semaine (tab. 131). Cette métamorphose évolue lentement ultérieurement mais de façon significative jusqu'à la cinquième semaine.

Groupes	1	2	3	4	5
1	•	(**)	(***)	(***)	(***)
2		•	(NS)	(NS)	(*)
3			•	(NS)	(*)
4				•	(NS)
5					•

*** Significatif à $P \leq 0,001$; ** Significatif à $P \leq 0,01$; * Significatif à $P \leq 0,05$; NS = non significatif.

Tab. 131 : Effet du temps (semaine) sur la métamorphose de *P. maximus* sur une période de cinq semaines. Un test de comparaison multiple de Scheffé montre les différences de semaine à semaine (groupes).

L'observation de la population larvaire montre que la progression de la métamorphose est fortement compromise dès la deuxième semaine puisqu'à cette date 80 % de pédivéligères mortes sont dénombrées dans les élevages.

Durant les trois premières semaines, la mortalité post-larvaire reste inférieure à 10 % quelles que soient les conditions expérimentales. Ensuite, elle augmente progressivement pour atteindre 20 à 40 % en fin d'expérience, les valeurs les plus fortes étant enregistrées au débit de 17 cellules. μL^{-1} et à la température de 15°C (tab. 132).

Temps (semaine)	Combinaison nutrition/température (cel. $\mu\text{L}^{-1}/^{\circ}\text{C}$)			
	7/18	17/18	7/15	17/15
1	2,2 (0,7)	2,1 (0,6)	2,0 (0,2)	2,6 (0,3)
2	4,7 (0,4)	7,5 (1,6)	3,4 (0,1)	4,2 (0,1)
3	7,5 (2,4)	9,0 (0,5)	3,7 (0,1)	8,2 (1,4)
4	15,3 (4,4)	20,0 (0,4)	11,9 (0,6)	16,9 (0,6)
5	16,2 (1,5)	21,3 (1,8)	11,8 (0,0)	36,7 (3,8)

Tab. 132 : Influence combinée de la nutrition et de la température sur la mortalité post-larvaire (%) de *P. maximus* au cours des cinq premières semaines d'élevage. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écarts types.

Un effet fortement significatif du temps, de la nutrition et de l'interaction température - nutrition sur la mortalité post-larvaire est relevé (tab. 133). Par contre, la température n'a pas d'effet significatif sur cette variable.

Variable	DL	CM	F ratio	P
Temps	4	524,5	97,2	(***)
Nutrition	1	247,4	45,9	(***)
Nutrition*Temps	4	68,7	12,7	(***)
Température	1	1,9	0,3	(NS)
Température*Temps	4	25,5	4,7	(**)
Nutrition*Température	1	47,7	8,8	(**)
Temps*Température*Nutrition	4	39,3	7,3	(***)
Résiduelle	20	5,4		

*** Significatif à $P \leq 0,001$; **Significatif à $P \leq 0,01$; NS = non significatif.

DL = degré de liberté. CM = carré moyen.

Tab. 133 : Action combinée du temps (semaine), de la température (15 et 18°C) et de la nutrition (7 et 17 cel. μL^{-1}) sur la mortalité post-larvaire de *P. maximus*. Une analyse de variance à trois facteurs est réalisée sur l'ensemble des données acquises sur une période de cinq semaines.

Néanmoins, un test de Scheffé montre que ces différences de mortalité ne sont pas significatives entre les semaines 1 et 2, les semaines 2 et 3 et les semaines 4 et 5 (tab. 134). Ceci signifie que les mortalités post-larvaires apparaissent au cours de la troisième semaine et progressent rapidement.

Groupes	1	2	3	4	5
1	•	(NS)	(**)	(***)	(***)
2		•	(NS)	(***)	(***)
3			•	(***)	(***)
4				•	(NS)
5					•

*** Significatif à $P \leq 0,001$; ** Significatif à $P \leq 0,01$; * Significatif à $P \leq 0,05$; NS = non significatif.

Tab. 134 : Effet du temps (semaine) sur la métamorphose de *P. maximus* sur une période de cinq semaines. Un test de comparaison multiple de Scheffé montre les différences de semaine à semaine (groupes).

La croissance post-larvaire : les différences sont faibles durant les trois premières semaines, mais ultérieurement les post-larves exposées à la plus faible ration en microalgues ($7 \text{ cellules} \cdot \mu\text{L}^{-1}$) présentent des longueurs supérieures quelle que soit la température (fig. 51).

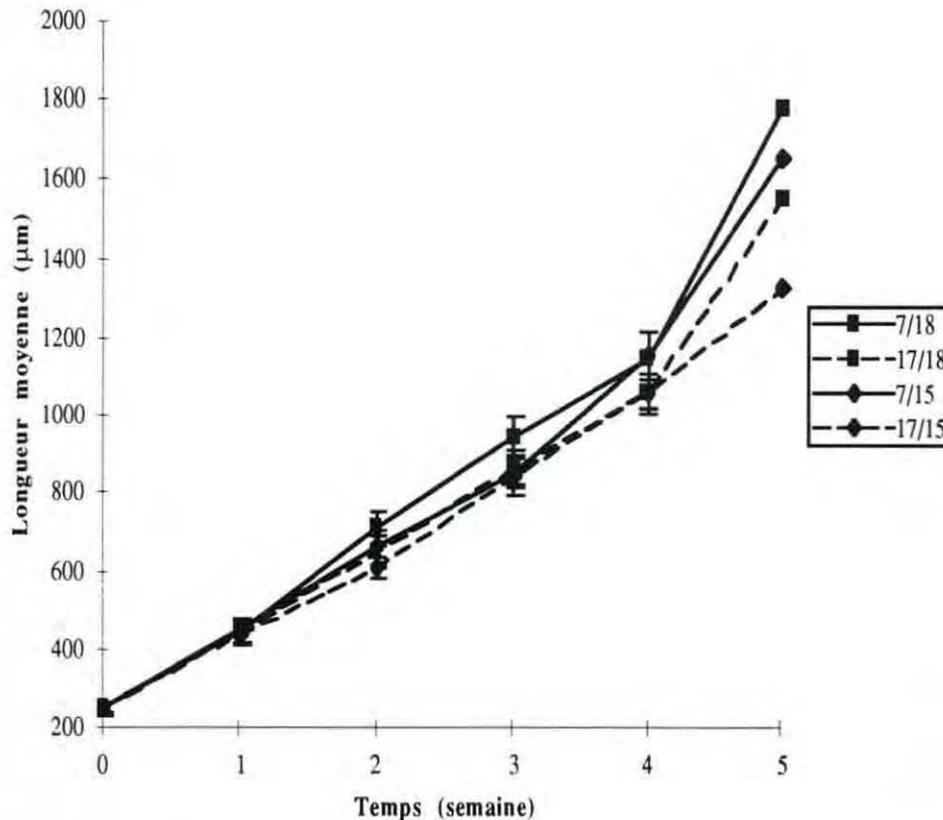


Fig. 51 : Action combinée de la nutrition (7 et 17 cel. μL^{-1}) et de la température (15 et 18°C) sur la croissance post-larvaire de *P. maximus* au cours des cinq premières semaines d'élevage (moyenne \pm IC 95 %).

En fin de cinquième semaine les longueurs moyennes sont comprises entre 1,3 mm et 1,8 mm. Les taux de croissance journalière entre les semaines 1 et 5 sont de 40 - 30 - 45 et 37 μm pour les combinaisons algues températures de 7 cel. μL^{-1} - 15°C, 17 cel. μL^{-1} - 15°C, 7 cel. μL^{-1} - 18°C et 17 cel. μL^{-1} - 18°C respectivement, conduisant à un écart maximum de croissance de 34 %. Les deux paramètres ont un effet significatif sur la croissance post-larvaire (tab. 135) excepté pour la première semaine (pour les deux facteurs) et la quatrième semaine (pour la température seulement). Cependant, le test de Scheffé montre des effets reproductibles avec des différences positives et croissantes avec le temps uniquement pour le facteur nutritionnel (en semaine 3 la plus grande différence est de 41,8 contre 91,9 en semaine 4). Enfin, dans nos conditions expérimentales, il n'y a pas d'interactions entre la nourriture et la température (tab. 135).

Variable	DL	CM	F ratio	P	Semaine 1
Température	1	72,2	0,01	(NS)	
Nutrition	1	1 482,2	0,24	(NS)	
Température*Nutrition	1	6 642,2	1,08	(NS)	
Résiduelle	396	6 126,8			

Variable	DL	CM	F ratio	P	Semaine 2
Température	1	198 025,0	8,48	(**)	
Nutrition	1	290 521,0	1,24	(***)	
Température*Nutrition	1	784,0	0,03	(NS)	
Résiduelle	396	23 345,3			

Variable	DL	CM	F ratio	P	Semaine 3
Température	1	335 241,0	7,83	(**)	
Nutrition	1	174 724,0	4,08	(*)	
Température*Nutrition	1	138 384,0	3,23	(NS)	
Résiduelle	396	42 835,5			

Variable	DL	CM	F ratio	P	Semaine 4
Température	1	518 4,0	0,09	(NS)	
Nutrition	1	844 561,0	1,55	(***)	
Température*Nutrition	1	784,0	0,01	(NS)	
Résiduelle	396	54 520,9			

Variable	DL	CM	F ratio	P	Semaine 5
Température	1	3118 456,0	35,66	(***)	
Nutrition	1	7695 076,0	68,13	(***)	
Température*Nutrition	1	297 025,0	3,40	(NS)	
Résiduelle	396	87 447,4			

*** Significatif à $P \leq 0,001$; ** Significatif à $P \leq 0,01$; * Significatif à $P \leq 0,05$; NS = non significatif.

Tab. 135 : Effet combiné de la température et du débit d'algues sur la croissance de *P. maximus* sur une période de cinq semaines. Une analyse de variance à deux facteurs est réalisée chaque semaine.

L'ensemble des données concernant l'influence des facteurs physiques sur le taux moyen de métamorphose et de croissance post-larvaire au cours des semaines d'élevage post-larvaire est consigné dans les tableaux 136 et 137. Les mortalités larvaire et post-larvaire sont rapportées dans le tableau 138.

		Taux de métamorphose (%)								
	Conditions	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	
Nutrition au cours du premier mois	7 cel. μL^{-1}	22,8	29,6	35,1	39,6	-	-	-	-	
	17 cel. μL^{-1}	24,0	31,8	39,6	45,9	-	-	-	-	
	35 cel. μL^{-1}	20,9	26,5	32,4	40,7	-	-	-	-	
	66 cel. μL^{-1}	22,1	24,5	31,1	39,6	-	-	-	-	
Nutrition au cours des deux premiers mois (*)	7 cel. μL^{-1}	65,8	78,3	82,3	83,5	80,1	85,6	91,00	88,4	
	66 cel. μL^{-1}	60,9	76,8	75,8	77,4	79,2	90,8	91,4	89,2	
Incidence du jeûn	0 cel. μL^{-1}	11,9	27,0	37,8	36,7	35,4	34,2	38,8	28,6	
	17 cel. μL^{-1}	19,6	46,0	48,1	50,8	50,7	50,6	51,4	58,6	
Incidence de la turbulence	Continu	26,2	-	-	-	-	-	-	-	
	Stagnant	10,5	-	-	-	-	-	-	-	
Incidence du débit d'eau de mer	2,7 L. h^{-1}	9,7	48,5	48,1	45,8	48,1	-	-	-	
	4,3 L. h^{-1}	13,9	47,9	54,9	59,2	64,5	-	-	-	
	5,7 L. h^{-1}	18,2	47,1	52,1	56,4	55,8	-	-	-	
	8,3 L. h^{-1}	17,7	30,0	56,1	59,2	71,6	-	-	-	
Effet de la température	15°C	42,4	62,3	63,0	64,2	-	-	-	-	
	20°C	23,6	31,5	31,8	30,4	-	-	-	-	
Effet combiné nutrition température	7 cel. μL^{-1} /18°C	28,7	38,1	41,0	43,6	53,8	-	-	-	
	17 cel. μL^{-1} /18°C	27,1	35,4	38,8	41,2	44,5	-	-	-	
	7 cel. μL^{-1} /15°C	19,6	33,3	32,8	35,8	38,3	-	-	-	
	17 cel. μL^{-1} /15°C	14,6	28,3	33,6	35,8	40,2	-	-	-	

Tab. 136 : Récapitulatif des données concernant l'influence des facteurs physiques et nutritionnels sur la métamorphose de *P. maximus* (- pas d'expérimentation).

* Les pédivéligères ont été mises en micro-nurserie après une semaine d'élevage passée en circuit ouvert en éclosérie commerciale.

Longueur post-larvaire (μm)								
Conditions	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	
Nutrition au cours du premier mois	7 cel. μL^{-1}	388	675	1129,0	1846,8	-	-	-
	17 cel. μL^{-1}	414,3	803,5	1356,5	1891,0	-	-	-
	35 cel. μL^{-1}	410,2	841,4	1304,0	1977,8	-	-	-
	66 cel. μL^{-1}	431,2	828,3	1211,6	1769,5	-	-	-
Nutrition au cours des deux premiers mois	7 cel. μL^{-1}	470,4	808,9	1481,0	1959,8	2173,4	2411,0	2746,4
	66 cel. μL^{-1}	485,7	810,6	1078,0	1683,8	1822,0	1924,2	2209,2
Incidence du jeûn	0 cel. μL^{-1}	328,2	413,8	578,8	482,9	617,7	905,0	756,0
	17 cel. μL^{-1}	379,6	602,2	902,8	1227,6	1637,1	2073,1	2279,4
Incidence de la turbulence	Continu	-	-	-	-	-	-	-
	Stagnant	-	-	-	-	-	-	-
Incidence du débit d'eau de mer	2,7 L. h^{-1}	413,4	463,7	869,6	1236,0	1534,7	-	-
	4,3 L. h^{-1}	396,3	507,2	890,9	1169,0	1625,1	-	-
	5,7 L. h^{-1}	376,0	498,2	808,8	1066,9	1739,2	-	-
	8,3 L. h^{-1}	379,7	520,6	808,1	1054,8	1595,5	-	-
Effet de la température	15°C	456,9	610,6	706,5	917,1	-	-	-
	20°C	399,7	543,1	615,3	637,2	-	-	-
Effet combiné nutrition température	7 cel. $\mu\text{L}^{-1}/18^\circ\text{C}$	444,5	710,0	943,6	1149,1	1780,7	-	-
	17 cel. $\mu\text{L}^{-1}/18^\circ\text{C}$	448,8	653,3	864,6	1060,0	1557,8	-	-
	7 cel. $\mu\text{L}^{-1}/15^\circ\text{C}$	451,8	662,7	848,5	1159,1	1658,6	-	-
	17 cel. $\mu\text{L}^{-1}/15^\circ\text{C}$	439,8	611,6	843,9	1064,4	1326,7	-	-

Tab. 137 : Récapitulatif des données concernant l'influence des facteurs physiques et nutritionnels sur la croissance post-larvaire de *P. maximus* (- pas d'expérimentation).

Mortalité post-larvaire (%) / Mortalité larvaire (%)									
	Conditions	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8
Nutrition au cours du premier mois	7 cel. μL^{-1}	4,0 / 76,8	6,4 / 97,5	7,0 / 99,9	10,6 / 100	-	-	-	-
	17 cel. μL^{-1}	5,1 / 86,8	8,8 / 99,1	8,8 / 99,8	12,3 / 100	-	-	-	-
	35 cel. μL^{-1}	8,4 / 90,5	13,6 / 99,6	18,0 / 100	24,7 / 100	-	-	-	-
	66 cel. μL^{-1}	4,7 / 91,6	17,4 / 99,8	16,5 / 100	26,6 / 100	-	-	-	-
Nutrition au cours des deux premiers mois	7 cel. μL^{-1}	2,4 / 69,9	8,5 / 97,8	10,2 / 99,7	12,4 / 100	19,3 / 100	28,7 / 100	31,5 / 100	50,0 / 100
	66 cel. μL^{-1}	3,5 / 61,5	13,9 / 97,3	17,1 / 100	19,4 / 100	22,6 / 100	24,9 / 100	39,6 / 100	48,4 / 100
Incidence du jeûn	0 cel. μL^{-1}	0,2 / 66,0	4,0 / 82,8	10,8 / 83,5	17,7 / 94,8	40,8 / 99,5	52,4 / 100	61,1 / 100	67,1 / 100
	17 cel. μL^{-1}	1,3 / 38,5	1,6 / 40,8	4,9 / 91,6	9,1 / 99,5	12,8 / 100	15,4 / 100	14,4 / 100	15,1 / 100
Incidence de la turbulence	Continu	10,6 / 93,3	-	-	-	-	-	-	-
	Stagnant	15,4 / 90,6	-	-	-	-	-	-	-
Incidence du débit d'eau de mer	2,7 L. h^{-1}	1,0 / 58,8	0,23 / 79,3	0,7 / 98,2	3,6 / 99,5	6,7 / 99,9	-	-	-
	4,3 L. h^{-1}	0,5 / 49,2	0,3 / 83,6	0,4 / 95,1	4,1 / 99,2	5,2 / 99,8	-	-	-
	5,7 L. h^{-1}	0,5 / 52,5	0,1 / 84,9	3,1 / 98,8	3,1 / 100	8,9 / 100	-	-	-
	8,3 L. h^{-1}	0,3 / 51,2	0,6 / 94,4	3,1 / 93,7	6,3 / 99,3	5,5 / 100	-	-	-
Effet de la température	15°C	0,5 / 44,2	5,1 / 83,5	17,1 / 97,8	33,0 / 99,7	-	-	-	-
	20°C	11,4 / 84,8	21,2 / 96,5	47,4 / 97,7	60,6 / 100	-	-	-	-
Effet combiné nutrition température	7 cel. μL^{-1} /18°C	2,2 / 19,8	4,7 / 80,2	7,5 / 99,6	15,3 / 99,9	16,2 / 100	-	-	-
	17 cel. μL^{-1} /18°C	2,1 / 26,9	7,5 / 89,7	9,0 / 99,4	20,0 / 100	21,3 / 100	-	-	-
	7 cel. μL^{-1} /15°C	2,0 / 43,8	3,4 / 87,1	3,7 / 98,7	11,9 / 99,9	11,8 / 100	-	-	-
	17 cel. μL^{-1} /15°C	2,6 / 47,2	4,2 / 90,1	8,2 / 99,6	16,9 / 100	36,8 / 100	-	-	-

Tab. 138 : Récapitulatif des données concernant l'influence des facteurs physiques et nutritionnels sur la mortalité post-larvaire et larvaire chez *P. maximus* (- pas d'expérimentation).

DISCUSSION - CONCLUSION

Chez la coquille Saint Jacques, une forte variabilité en terme de rendement post-larvaire (20 à 60 %) et de taille des post-larves (1 à 4 mm) est notée à l'issue de 2 mois d'élevage en micro-nurserie. L'hypothèse d'une forte corrélation entre rendement d'élevage post-larvaire et taux de métamorphose et d'une autre relation entre croissance post-larvaire et facteurs d'élevage a été formulée. L'optimisation de la métamorphose et de la croissance post-larvaire a été recherchée d'une part via les facteurs physiques et le facteur nutritionnel et d'autre part via une éventuelle amélioration des réserves larvaires. En effet les réserves énergétiques des pédivéligères seraient un élément important pour la métamorphose chez certaines espèces (Holland et Spencer, 1973 ; Whyte *et al.*, 1987). Nous avons voulu vérifier si la qualité de l'alimentation larvaire pouvait avoir un impact sur la métamorphose et le développement post-larvaire de *Pecten maximus*. Les expériences, réalisées en substituant ou en changeant une ou deux microalgues d'un régime standard, ont permis de montrer une influence réduite de la composition en microalgues de la ration des larves sur la suite de l'élevage, pour les régimes utilisés. Aucun des trois régimes testés n'a présenté un avantage sensible pour la métamorphose. De plus, au cours des premières semaines de la vie post-larvaire, aucune différence significative de mortalité n'a été observée entre les lots. En effet la moyenne de la mortalité post-larvaire, toutes conditions confondues, est inexistante en première semaine et de 2,6 % en deuxième semaine. Quant à la population larvaire, les mortalités sont de 10,6 % au bout d'une semaine en micro-nurserie et de 41 % en deuxième semaine. Au niveau de la métamorphose, en première semaine le taux moyen est seulement de 27 % (EC = 12) avec une longueur moyenne de 380 µm (EC = 54) contre 56 % (EC = 19) en deuxième semaine avec une longueur de 542 µm (EC = 73). Nous pouvons poser deux hypothèses : la composition des microalgues substituées ou ajoutées à la ration habituelle n'en est pas suffisamment différente ; les microalgues sont peu ou mal absorbées par les larves.

Concernant la quantité de microalgues distribuée en phase post-larvaire, on constate, qu'au cours du premier mois (première expérience), la ration en microalgues fourrages n'a pas d'influence sur la métamorphose et le développement post-larvaire ; les taux de post-larves sont compris entre 40 % et 49 % et la croissance est identique dans les quatre conditions. Afin de vérifier si ce paramètre pouvait être limitant au cours du 2^{ème} mois d'élevage post-larvaire, des expériences complémentaires ont été conduites. L'une étant destinée à comparer deux niveaux quantitatifs de

nourriture (7 et 66 cellules. μL^{-1}) d'un mélange plurispécifique (PTCS), l'autre à préciser l'incidence du jeûne sur la métamorphose, la croissance et la mortalité. Lorsque les post-larves sont alimentées, la mortalité reste faible au cours des quatre ou cinq premières semaines et la plus grande partie de la métamorphose a eu lieu au cours des deux premières semaines, quelle que soit la ration en microalgues fourrages du jeûne à 66 cellules. μL^{-1} . Au cours des deux premiers mois d'élevage post-larvaire, ni le taux de métamorphose ni la survie n'ont été significativement différents pour des rations de 7 et 66 cellules. μL^{-1} . A l'inverse le jeûne a eu un effet sensible sur le taux de métamorphose dès la 2^{ème} semaine et sur la survie post-larvaire à partir de la 3^{ème}. De plus des différences significatives de croissance ont été observées suivant la ration : les moyennes journalières ont été 8, 32-36 et 42 μm pour les post-larves maintenues à jeun et ayant reçues 66 et 7-17 cellules. μL^{-1} , respectivement. Le jeûne provoque donc une altération de la métamorphose et du développement post-larvaire. Néanmoins il est intéressant de noter que le taux de métamorphose sans apport de nourriture à partir du stade pédivéligère n'est pas nul puisque 40 % des larves se métamorphosent. La métamorphose pourrait s'expliquer par l'utilisation d'une autre source nutritionnelle à savoir les réserves accumulées au cours de la phase larvaire et/ou des éléments dissous ou particuliers non retenus par le filtre (1 μm). La première hypothèse semble plus valide puisqu'aucune croissance post-larvaire n'est décelée en l'absence de microalgues. Un apport d'aliment est donc nécessaire pour favoriser la métamorphose mais surtout pour permettre la croissance des post-larves. Les besoins sont faibles car la ration optimale en microalgues des post-larves a été estimée à 10 cellules. μL^{-1} .

Concernant le débit d'eau de mer il a été démontré, par effet tout ou rien, que l'agitation de l'eau est nécessaire à la métamorphose de la coquille Saint Jacques mais aucun débit préférentiel (2,7 à 8,3 L. h^{-1} . tamis^{-1}) n'a pu être dégagé. Le coût de fonctionnement est donc à prendre en considération et la valeur de 4,3 L. h^{-1} . tamis^{-1} est recommandée, le débit le plus faible étant difficile à stabiliser. Cet effet positif de l'agitation de l'eau de mer se retrouve pour *Mytilus edulis* (Eyster et Pechenik, 1987). La fixation ne se fait qu'en présence de filaments d'algues mais si le milieu est statique la fixation est comprise entre 0 et 30 % alors qu'avec agitation elle varie de 31 à 100 %. Dans ce cas l'agitation ne serait pas le seul facteur qui influencerait la métamorphose. On peut parler de facteur physico-chimique car l'agitation favorise le contact avec les filaments et stimule la nage, ce qui augmente la fréquence de contact avec l'algue. Chez *Chlamys hastata* (Hodgson et Bourne, 1988) cet effet bénéfique de l'agitation de l'eau sur la métamorphose se retrouve aussi. Le flot favorise la reptation des larves sur le substrat et le film bactérien le recouvrant induit la métamorphose.

Concernant l'incidence de la température, les expériences avaient pour but de préciser l'avantage d'une température plus élevée que la valeur habituelle en éclosion (15°C). La variabilité des résultats qui est observée entre les deux expériences l'est couramment en éclosion entre des élevages successifs. Quelle que soit la température, les larves métamorphosent essentiellement au cours des deux premières semaines. La mortalité est surtout observée à partir de la 2^{ème} ou de la 3^{ème} semaine. Des résultats analogues avaient été rapportés antérieurement lors de l'étude de l'influence du débit d'eau de mer. Une température supérieure à 15°C n'accélère pas la métamorphose. Le taux de métamorphose obtenu à 18°C est légèrement mais significativement supérieur à celui obtenu à 15°C et la croissance des post-larves est plus forte à 18°C qu'à 15°C (résultats obtenus lors de la deuxième expérience : effet combiné de la température et de la nutrition). Ce gain ne justifie pas le coût énergétique supplémentaire estimé à 60 000 Kcal. j⁻¹ par raceway. Les mortalités ne diffèrent pas. Par contre à 20°C les taux de métamorphose sont plus faibles ainsi que la croissance post-larvaire et la mortalité est plus élevée. Pourtant à cette même température moyenne des élevages post-larvaires ont été préalablement conduits avec succès. La température seule ne peut donc pas expliquer l'effet négatif observé pour cette expérience à 20°C. Il est émis l'hypothèse que cette valeur élevée de la température fragilise les post-larves et les larves. En conclusion la température de 15°C, à laquelle sont conduits les élevages de post-larves habituellement, est bien adaptée pour *P. maximus*. La conduite des élevages en période estivale peut poser des difficultés si les températures dépassent 20°C.

Les variabilités rencontrées au niveau des rendements post-larvaires (tab. 1) peuvent être expliquées de deux façons. Un faible rendement peut provenir d'une faible métamorphose et/ou d'une forte mortalité post-larvaire tout au long ou pendant une partie de l'élevage. Notre étude a été essentiellement ciblée sur le premier mois d'élevage post-larvaire et montre, d'une part, de faibles variations des rendements post-larvaires (tab. 139) et d'autre part, un faible taux de mortalité post-larvaire au cours de cette période. En effet, en réalisant la moyenne des mortalités des élevages (expérimentation des facteurs physiques exceptée celle sur le jeûne), on observe des mortalités post-larvaires de 4 %, 7 %, 11 % et 17 % respectivement pour la 1^{ère}, 2^{ème}, 3^{ème} et 4^{ème} semaine. Par contre, les mortalités larvaires sont élevées : 62 %, 86 % et 98%. La mortalité post-larvaire au cours du premier mois ne semble donc pas être responsable des fluctuations rencontrées au niveau des rendements post-larvaires à l'issue du deuxième mois d'élevage. La source de variabilité pourrait provenir de mortalités post-larvaires au cours du deuxième mois ou uniquement au cours de la métamorphose. Dans ce dernier cas, la notion de compétence larvaire revêt toute son importance. Les larves présentent-elles toutes une capacité à métamorphoser ?

	Incidence de la nutrition	Incidence des débits d'eau de mer	Incidence nutrition température	Incidence de la température
Rendement post- larvaire à l'issue du premier mois d'élevage	36,8 %	43,1 %	36,7 %	12 % (15°C)
	42,4 %	56,6 %	35,1 %	38,2 % (20°C)
	32,6 %	43,2 %	31,4 %	
	32,2 %	55,4 %	33,2 %	

Tab. 139 : Rendement des élevages post-larvaires de *P. maximus* au bout du premier mois.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Les résultats obtenus lors des expérimentations sur l'induction chimique nous laissent penser, que pour *Pecten maximus*, l'utilisation d'inducteurs pour contrôler la métamorphose apparaît peu efficace, car faiblement reproductible. L'amélioration des performances de métamorphose par ce facteur reste trop faible et aléatoire, de ce fait leur utilisation en routine en éclosérie n'est pas souhaitable. Par contre, pour l'huître *Crassostrea gigas*, l'utilisation de l'adrénaline présente certains avantages. Ainsi 85 % de post-larves sont enregistrées après seulement 2 heures d'exposition, et la majorité de la population est non fixée : les post-larves peuvent alors être élevées dans des structures verticales comme les larves. Cette pratique est d'ailleurs adoptée par certaines écloséries commerciales. Compte tenu de la faible action des inducteurs chez la coquille St Jacques, les liens avec le rôle éventuel d'un ou des médiateurs internes ne paraît pas évident. Ainsi, l'étude de l'évolution globale des amines biogènes au cours des élevages montrent que les teneurs en sérotonine et dopamine augmentent au cours du développement larvaire, puis chutent d'un facteur deux au moment de la métamorphose, et réaugmentent par la suite. Cette tendance ne correspond pas à celle trouvée chez *C. gigas* (Coon et Bonar, 1986) où les teneurs en dopamine et noradrénaline décelées dans les post-larves sont similaires à celles détectées dans les pédivéligères. Malgré cette absence interne de marquage de la métamorphose, ces auteurs considèrent que la noradrénaline joue le rôle de médiateur interne dans le processus de la métamorphose chez l'huître. Il paraît peu probable que la noradrénaline soit le médiateur du processus de la métamorphose chez la coquille St Jacques, d'une part par la faible action de l'adrénaline en tant qu'effecteur externe et d'autre part par l'absence de diminution des concentrations de noradrénaline en cours de métamorphose. Pour cette amine biogène, on assiste à une augmentation régulière des teneurs tout au long de l'élevage larvaire et post-larvaire qui pourrait correspondre à la mise en place et au développement du système nerveux (Dwiono, 1992). On sait simplement qu'avant la métamorphose le système nerveux se met en place (Dwiono, 1992). En effet, au stade pédivéligère il n'y a pas de véritable système nerveux. Cependant des groupes de cellules ont été observés correspondant à l'ébauche des ganglions cérébroïdes, des ganglions pédieux et des ganglions viscéraux. Progressivement les cellules indifférenciées se transforment en cellules nerveuses, les ganglions pédieux se connectent avec les cérébroïdes au stade post-larvaire. Le rôle et le fonctionnement du système nerveux et des organes sensoriels sont encore mal connus. Cependant, le fait que ces organes apparaissent au stade précédent la métamorphose laisse présager de leur importance dans le passage de la vie

pélagique à la vie benthique. Les pédivéligères pour se métamorphoser ont besoin de facteurs pouvant induire ce processus. Il est probable que l'ensemble du système sensoriel et du système nerveux joue un rôle primordial dans la détection des substances inductrices qui restent méconnues à ce jour.

Les teneurs en sérotonine et en dopamine présentent une chute marquée au cours de la métamorphose. Or si ces amines biogènes accompagnent le développement du système nerveux leur cinétique aurait du être similaire à celle de la noradrénaline, c'est à dire suivre une augmentation régulière. Il est donc possible que ces molécules soient libérées par le système nerveux suite à un signal au cours de la métamorphose et soient rapidement intégrées par la larve au niveau périphérique et transformées. Cependant la faible action de la L-Dopa comme effecteur externe nous laisse suggérer que ces molécules pourraient avoir un rôle ou une fonction différente que celle recherchée et que les chutes observées n'aient pas de lien direct avec le processus de la métamorphose. Les teneurs en amines biogènes pourraient être un indicateur de la compétence larvaire mais des recherches complémentaires s'avèrent nécessaires. Ainsi le rôle de la sérotonine en tant qu'effecteur externe doit être déterminé. De plus, une approche similaire à celle développée dans le présent travail pour la recherche de critère de compétence doit être appliquée aux amines biogènes, et la relation entre teneurs en sérotonine et dopamine chez les pédivéligères compétentes et l'intensité de la métamorphose recherchée.

A ce jour le seul critère de compétence utilisé est celui de la double barre décrit par Gérard *et al.* (1989). Les critères classiques tels que la taille, l'oeil, le pied et les bourgeons branchiaux ne sont pas suffisamment fiables car ils précèdent de trop loin la fixation. Le premier critère macroscopique correspond au regroupement des larves nageuses en "stalactites", qui renseigne sur l'imminence de la fixation. Le deuxième critère de double barre présente toutes les qualités requises pour une utilisation pratique en éclosion-nurserie. L'analyse des données zootechniques montre que les taux de double barre et de métamorphose sont fortement corrélés mais n'expliquent que 45 % du phénomène. Un deuxième paramètre explicatif de la métamorphose, d'un poids similaire à celui du taux de double barre, la teneur en lipides, intervient également dans ce processus. Cette teneur en lipide pré-métamorphique démontre l'importance du processus de mise en réserve tout au long du cycle larvaire. Or l'analyse des protides, lipides et glucides ne montre pas d'accumulation préférentielle des lipides au cours du développement larvaire, tous les composés suivant la même évolution. Cependant glucide et protéine ne sont pas corrélés avec le taux de métamorphose. Il peut donc y avoir une accumulation de l'ensemble des composés biochimiques élémentaires au cours de la vie larvaire, mais, dans des réserves équilibrées les lipides participeraient essentiellement à la métamorphose. La poursuite de travaux sur le rôle des lipides au cours de la métamorphose chez *P. maximus* s'avère nécessaire. En particulier il est important de vérifier si les lipides neutres ou de réserves interviennent avec

un même poids dans le processus de la métamorphose ou si un type de lipide serait plus explicatif : polyinsaturé ; type 20:4 (n-6) - 20:5 (n-3) - 22:6 (n-3) considérés comme les acides gras essentiels pour la survie, la croissance et la reproduction des espèces marines (Soudant, 1995) ; ou les stérols. Ces différents lipides sont connus comme ayant un rôle dans la croissance larvaire de *P. maximus* (Marty *et al.*, 1992 ; Delaunay *et al.*, 1993) mais leur influence en terme de métamorphose est méconnue.

Ainsi avec un régime alimentaire plurispécifique il semblerait que ces besoins soient correctement couverts puisqu'aucune différence en terme de métamorphose (taux de post-larves) et de croissance post-larvaire n'a pu être mise en évidence en jouant sur la composition de la ration en microalgues en phase larvaire. Il en est de même en terme de performance d'élevage larvaire où aucune différence notable et reproductible n'est observée dans les combinaisons deux à deux. Ainsi le régime PTC utilisé traditionnellement à l'écloserie d'Argenton est aussi performant que le régime PTS utilisé plus récemment par l'écloserie commerciale du Tinduff ou à Argenton. L'adjonction d'une quatrième algue *Rhodomonas salina* n'augmente que légèrement la croissance larvaire (gain d'un micromètre par jour) sans aucune amélioration de la métamorphose. Le faible gain noté ne justifie pas la mise en place d'une production supplémentaire de cette microalgue et donc de contrainte additionnelle. A l'inverse la suppression d'une microalgue peut conduire à un moindre développement larvaire. Ainsi un écart de croissance larvaire d'environ 1,5 $\mu\text{m. jour}^{-1}$ est noté entre un régime bi et trispécifique conduisant à un allongement de la vie larvaire. Cependant des croissances larvaires similaires ont été également observées entre ces mêmes régimes. Un régime trispécifique semble donc être bien adapté et répond à la fois aux exigences de l'espèce en terme de croissance larvaire, de constitution de réserves et de métamorphose.

L'importance des réserves a été également mise en évidence de façon directe en soumettant des larves au jeûne dès la fin de la vie larvaire. Ainsi 30 % des pédivéligères sont capables de se métamorphoser sans aucun apport phytoplanctonique et donc en utilisant à priori exclusivement leur réserve. Il n'est cependant pas exclu que les pédivéligères puisent des éléments nutritionnels dissous directement dans l'eau de mer. Cependant, la métamorphose s'accompagne d'une lyse du vélum qui représente la seule partie du corps en contact de façon quasi permanente avec l'eau de mer (à l'exception des cellules du manteau). Il a néanmoins été démontré que des éléments dissous étaient absorbés à travers les bourgeons branchiaux (Manahan et Crisp, 1982). La contribution en terme énergétique de cette source nutritionnelle est faible (Manahan, 1983). La quantification par voie analytique de l'état des réserves avant et après métamorphose constitue un travail à faire pour valider son rôle dans le processus de la métamorphose. Sans apport phytoplanctonique aucun développement post-larvaire n'est noté ultérieurement et les mortalités

apparaissent tardivement en cinquième semaine. Les réserves sont donc suffisantes pour assurer la métamorphose mais aussi la survie pendant un mois en micro-nurserie.

L'adjonction de phytoplancton est donc nécessaire à la croissance post-larvaire et améliore sensiblement la métamorphose (facteur multiplicatif de 2) mais surtout autorise une croissance post-larvaire. Par contre les différents niveaux nutritionnels testés (7-17-35-66 cellules. μL^{-1} . tamis⁻¹) ne montrent aucune incidence sur la métamorphose et la croissance post-larvaire pendant le premier mois. Il semblerait qu'on ait atteint un seuil limite dès la faible concentration de 7 cellules. μL^{-1} . tamis⁻¹. Une faible rétention particulière pourrait donc exister chez *P. maximus* pendant cette période. Il serait intéressant de vérifier l'incidence de l'apport phytoplanctonique à des concentrations inférieures à de 7 cellules. μL^{-1} . tamis⁻¹, mais des problèmes d'ordre technique devraient être résolus au préalable : les petits apports de phytoplancton provoquent des dépôts et colmatage des systèmes de distribution, contrôle des débits par débimètres adaptés.

Il est intéressant de noter que les besoins nutritionnels post-larvaires au cours du premier mois sont au moins dix fois moins importants qu'au niveau larvaire ou l'apport journalier est de 60 cellules. μL^{-1} . Le déclenchement des mortalités a été constaté dans la plupart de nos expérimentations dans le courant du deuxième mois d'élevage post-larvaire, ce qui pourrait s'expliquer par un déficit nutritionnel. Cependant, nos résultats ne permettent pas de préciser les besoins alimentaires au cours de ce deuxième mois. En effet, un ralentissement de la croissance post-larvaire est observé à partir de la sixième semaine lorsque l'apport nutritionnel est de 17 cellules. μL^{-1} . A l'inverse, ces croissances sont régulières lorsque cet apport phytoplanctonique est supérieur (66 cellules. μL^{-1}) ou inférieur (7 cellules. μL^{-1}). Il conviendrait pour déterminer l'apport nutritionnel optimal, d'étudier ce facteur à plusieurs niveaux (4), à partir de post-larves d'un mois préalablement homogénéisées et sélectionnées sur le plan taille par rétention des individus sur tamis de 1000 μm .

Cette faible demande en nourriture est compatible avec nos résultats sur l'importance du flux d'eau de mer. En effet pendant le premier mois aucune différence de croissance post-larvaire n'a été notée quel que soit le débit d'eau de mer, qui pour un apport constant en phytoplancton, correspond à différentes vitesses de passage de la nourriture. Bien qu'aucun effet n'ait également été noté sur le taux de métamorphose, quel que soit le débit utilisé, la notion de turbulence est importante pour la métamorphose par effet tout ou rien. Tout comme chez *C. gigas* et *Mytilus edulis* (Eyster et Pechenik, 1987), ce facteur conditionne fortement la métamorphose. Deux hypothèses peuvent être formulées pour expliquer le rôle de la turbulence.

- L'eau de mer extérieure véhiculerait des molécules "inductrices" et les pédivéligères se métamorphoseraient après en avoir reçu une certaine quantité : action d'un facteur chimique.

- L'apport en continu d'eau de mer, entraînant une agitation, favoriserait la mise en contact avec les supports sur lesquels l'animal se fixerait : action d'un facteur physique. Pour privilégier l'une ou l'autre de ces hypothèses il serait intéressant de soumettre des pédivéligères à une agitation mécanique et d'en vérifier l'influence.

RECOMMANDATIONS
PERSPECTIVES

RECOMMANDATIONS

Nos travaux sur les inducteurs ont montré une forte spécificité entre deux espèces, la coquille St Jacques *Pecten maximus* et l'huître creuse *Crassostrea gigas*. Pour *C. gigas*, l'action des effecteurs externes est positive puisque certains inducteurs (cf adrénaline) augmentent de façon très significative les taux de métamorphose, confirmant ainsi les travaux des américains. De plus cette même molécule provoque la métamorphose sans fixation, ce composé peut donc trouver son utilisation en éclosérie d'huître. Il semblerait cependant que sa fenêtre d'action soit relativement limitée puisque seules les larves compétentes réagissent à cette substance. En effet des résultats variables ont été obtenus en fonction du lot larvaire utilisé, mais dans tous les cas la métamorphose est supérieure à celle obtenue chez les témoins. Cependant une contradiction apparaît entre ces travaux et la recherche d'inducteurs endogènes chez cette même espèce. La relation entre les effecteurs externes et la cinétique des amines biogènes doit être éclaircie. Chez *P. maximus*, l'utilisation des mêmes effecteurs dans une même échelle de concentrations, nous a montré une faible incidence sur le taux de métamorphose. Parmi les effecteurs testés, seule l'adrénaline entraîne une augmentation significative du taux de métamorphose. Cependant les améliorations obtenues, tout comme chez *C. gigas*, sont peu reproductibles et de faibles intensités. Là aussi, l'aptitude des larves à la métamorphose peut être avancée, ces inducteurs ont probablement une fenêtre d'action relativement étroite. Compte tenu du faible gain constaté, l'utilisation de ces effecteurs, dans l'état actuel de nos connaissances, n'est pas recommandée en éclosérie de Pectinidés. Là aussi une contradiction est décelée entre l'action de ces effecteurs externes chez la coquille St Jacques et la cinétique des amines biogènes au cours des développements larvaire et post-larvaire. Tout comme chez l'huître, une augmentation régulière des différentes amines biogènes est constatée au cours de la phase larvaire, mais à l'inverse, une diminution sensible est notée au cours de la métamorphose, c'est à dire du passage de la pédivéligère à la post-larve au cours de la première semaine. Deux amines biogènes suivent cette diminution : sérotonine et dopamine. Ainsi, bien que la dopamine présente une modification de sa cinétique au cours de la métamorphose, l'action de la L-Dopa comme effecteur externe n'entraîne aucune augmentation du taux de post-larves. Nous n'avons pas étudié l'action de la sérotonine comme effecteur externe. Il serait donc intéressant de vérifier une éventuelle relation entre effecteur externe et la cinétique des amines biogènes.

Nos travaux sur la compétence larvaire ont confirmé une forte relation entre le taux de double barre et le taux de métamorphose. Celle-ci explique à elle seule 45 % de la variance observée. La recherche d'un autre critère a été effectuée *via* la composition biochimique proximale des larves.

Au cours du développement larvaire aucune accumulation spécifique d'un composé biochimique particulier n'a été notée de façon reproductible, aussi bien chez *P. maximus* que chez *C. gigas*. Chez la coquille St Jacques, une forte relation a cependant été établie entre le pourcentage de lipides et le taux de métamorphose. L'action combinée des deux critères, taux de double barre et pourcentage de lipides, n'explique néanmoins que 50 % de la variance, le poids respectif de chacun des paramètres contribuant à part égale.

Compte tenu de nos résultats, l'hypothèse d'une importance significative des facteurs environnementaux au cours de la métamorphose est à considérer. En effet, à l'inverse de l'élevage larvaire, le post-larvaire s'effectue en système ouvert donnant de ce fait un poids effectif à ces facteurs, malgré leur relatif contrôle.

Ainsi concernant le débit d'eau de mer, nos travaux ont montré par effet de "tout ou rien" que l'agitation de l'eau est nécessaire à la métamorphose de la coquille St Jacques et de l'huître creuse. Cependant aucun débit préférentiel n'a pu être dégagé dans la gamme 2,7 à 8,3 L. h⁻¹. tamis⁻¹. Deux éléments peuvent être avancés pour expliquer cet effet : l'agitation mécanique du milieu favorise le contact des larves avec le support de fixation ou des molécules inductrices (qui restent à déterminer) sont véhiculées par l'eau de mer. La deuxième hypothèse est cependant en contradiction avec l'absence d'effet aux quatre débits testés, exception faite d'une saturation au plus faible débit. Pour confirmer la première hypothèse, il serait nécessaire de comparer l'effet de divers types d'agitation : flux continu (témoin), bullage par air-lift, agitation mécanique excentrée. En éclosion de Pectinidés l'adoption d'un faible débit au cours de la métamorphose est préconisée à la fois sur le plan biologique et économique. La valeur de 4,3 L. h⁻¹. tamis⁻¹ est recommandée, le plus faible débit étant difficile à stabiliser.

Concernant l'effet de la température, nos travaux ont montré une fragilisation des larves et des post-larves à 20°C. Comparativement à la température utilisée à ce jour en éclosion pour la métamorphose et l'élevage post-larvaire (15°C), les taux de métamorphose se sont avérés plus faibles, la croissance post-larvaire et les mortalités plus élevées. Ces résultats expérimentaux sont cependant en contradiction avec des élevages post-larvaires conduits en période estivale, où cette température moyenne a déjà été obtenue. La seule température de 20°C ne peut donc pas expliquer cet effet négatif. Combinée avec d'autres facteurs (non déterminés à ce jour), cette température pourrait néanmoins expliquer certaines difficultés observées en micro-nurserie en période estivale. Des taux de métamorphose légèrement supérieurs et une croissance post-larvaire plus forte ont été notés à la température de 18°C (température d'élevage larvaire) comparativement à 15°C. Cependant le léger gain obtenu ne justifie pas le coût énergétique supplémentaire estimé à 60 000 Kcal. j⁻¹ par raceway. La température de 15°C en micro-nurserie est donc bien adaptée pour la

métamorphose et le développement post-larvaire de *P. maximus*, température correspondant à un bon compromis entre performance biologique et coût de fonctionnement.

Un meilleur contrôle de ces deux paramètres devrait permettre de limiter les effets des facteurs environnementaux. Parmi les autres paramètres le facteur nutritionnel nous apparaît primordial. Deux sources nutritionnelles peuvent être envisagées au cours de la métamorphose et du développement post-larvaire : un apport particulaire sous forme de microalgues et un apport d'éléments dissous. Un relatif contrôle existe pour le premier mais il n'en est pas de même pour le second. Si au niveau quantitatif l'apport de phytoplancton est assez bien maîtrisé, en phase post-larvaire comme en phase larvaire, la qualité nutritionnelle de l'alimentation est sujette à des fluctuations. En effet, à ce jour, la technique de production phytoplanctonique utilisée dans la plupart des écloséries commerciales est la culture en discontinue (batch). Or, de nombreux travaux ont démontré que la composition biochimique des microalgues varie en fonction du milieu de culture et des paramètres physiques de la culture (température, énergie lumineuse, taux de CO₂...). De ce fait la stabilité biochimique de la nourriture apportée n'est pas garantie. Cet aspect n'a pu être étudié au cours de ce présent travail.

La stabilisation de la qualité de l'alimentation nous paraît être un point particulièrement important et des travaux de recherche devraient être envisagés dans ce sens. Ils répondraient à la fois aux problèmes rencontrés en phase larvaire et post-larvaire. Concernant l'aspect quantitatif nos travaux ont démontré que les taux de métamorphose de pédivéligères alimentées ou maintenues à jeun lors de leur transfert en micro-nurserie vont du simple au double. Cependant le rôle de l'alimentation paraît complexe, puisqu'aucune différence en terme de rendement à la métamorphose et de croissance post-larvaire n'a été observée au cours du premier mois à quatre concentrations phytoplanctoniques croissantes. Ces différences en terme de croissance post-larvaire n'apparaissent qu'au cours du deuxième mois. Nos travaux tendent à montrer qu'au cours du premier mois les post-larves s'alimentent faiblement, la ration optimale des microalgues étant estimée à 10 cellules. μL^{-1} soit six fois moins qu'en phase larvaire. Ces résultats sont à rapprocher de travaux antérieurs qui ont montré que la branchie post-larvaire chez *P. maximus* n'était réellement fonctionnelle qu'à l'issue de la quatrième semaine (après transfert en micro-nurserie). Par ailleurs de faibles mortalités post-larvaires ont été notées au cours du premier mois dans des conditions standards. Celles-ci se déclenchent au cours du deuxième mois post-larvaire. A ce niveau deux recommandations peuvent être faites. Il ne semble pas judicieux de sur-alimenter les animaux au cours du premier mois d'élevage post-larvaire, à l'inverse une meilleure connaissance des besoins nutritionnels au cours du deuxième mois post-larvaire est nécessaire. Les fluctuations des rendements d'élevage post-larvaire s'expliquent probablement par une non optimisation des paramètres d'élevage au cours du deuxième mois (mortalité post-larvaire). La deuxième source de variation trouve son origine au cours de la métamorphose.

Nos travaux ont démontré que les pédivéligères non alimentées étaient capables de se métamorphoser à hauteur de 40 %. La métamorphose pourrait donc s'expliquer par l'utilisation d'une source nutritionnelle particulière, soit des réserves accumulées au cours de la phase larvaire et/ou des éléments dissous ou particuliers non retenus par le filtre (1 μm). Ces premiers résultats sont cohérents avec ceux obtenus précédemment dans le domaine de la compétence à la métamorphose. En effet une relation significative a été établie entre le taux de lipides des pédivéligères et le taux de métamorphose.

Nos expérimentations consistant à modifier les régimes alimentaires en phase larvaire (combinaison de diverses microalgues) n'ont cependant pas permis de dégager un régime préférentiel en terme d'impact sur la métamorphose. Quelles que soient les combinaisons testées, les besoins au cours de la métamorphose semblaient couverts. Poursuivre dans cette voie expérimentale (différents régimes nutritionnels) ne nous paraît pas judicieux. Par contre, la supplémentation d'un régime algal "standard" par des lipides permettrait d'identifier les besoins nécessaires à la métamorphose.

Un parallèle pourrait être établi entre développement embryonnaire et développement larvaire d'une part et entre métamorphose et développement post-larvaire d'autre part. En effet, au cours du développement larvaire le relais entre endotrophie (réserves des ovocytes) et exotrophie (nutrition) a été largement décrit chez de nombreux mollusques. Chez *P. maximus*, le rôle fondamental des réserves accumulées chez les pédivéligères puis d'un relais nutritionnel au cours du deuxième mois pourrait découler d'une même logique physiologique. Des travaux consistants à évaluer l'utilisation progressive de ces réserves au cours du premier mois d'élevage post-larvaire sont cependant nécessaires pour valider une telle hypothèse.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

- Abdel-Hamid M.E., Mona M.H. & Khalil A.M.**, 1992. Effects of temperature, food and food concentration on the growth of the larvae and spat of the edible oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg). J. Mar. Biol. Assoc. India 34 (1-2) : 195-202.
- Baker S.M. & Mann R.**, 1994. Description of metamorphic phases in the oyster *Crassostrea virginica* and effects of hypoxia on metamorphosis. Mar. Ecol. Prog. Ser. 104 : 91-99.
- Bartlett B.R.**, 1979. Biochemical changes in the pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1795) during larval development and metamorphosis. Proc. natn. Shellfish. Ass. 69 : 202.
- Beaumont A.R. & Barnes D.A.**, 1992. Aspects of veliger larval growth and byssus drifting of the spat of *Pecten maximus* and *Aequipecten (Chlamys) opercularis*. ICES J. Mar. Sci. 49 : 417-423.
- Beiras R. & Widdows J.**, 1996. Induction of metamorphosis in larvae of the oyster *Crassostrea gigas* using neuroactive compounds. Mar. Biol. 123 : 327-334.
- Bligh E.G. & Dyer W.J.**, 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. Physiol. 37 : 911-917.
- Bonar D.B., Coon S.L., Walch M., Weiner R.M. & Fitt W.**, 1990 Control of oyster settlement and metamorphosis by endogenous and exogenous chemical cues. Bull. Mar. Sci. 46 (2) : 484-498.
- Bonar D.B.**, 1991. Cultchless oyster production and enhanced setting with epinephrine and L-Dopa. *In* : Remote setting and nursery culture for shellfish growers : Workshop record (Nosho T.Y. and Chew K.K., Eds). Workshop, Olympia, WA (USA) 19 Feb. 1991, Workshop Washington Sea Grant, WSG-WO 91-02 : 14-21.

- Bougrier S., Geairon P., Deslous-Paoli J.M., Bacher C. & Jonquieres G., 1995.** Allometric relationships and effects of temperature on clearance and oxygen consumption rates of *Crassostrea gigas* (Thunberg). Aquaculture 134 (1-2) : 143-154.
- Bourne N., Hodgson C.A. & Whyte J.N.C., 1989.** A manual for scallop culture in British Columbia. Can. Tech. Rep. Fish. and Aquat. Sci. 1694, 215 p.
- Buestel D. & Dao J.C., 1979.** Aquaculture extensive de la coquille St Jacques : résultats d'un semis expérimental. *In* : La pêche maritime, 361-365.
- Buestel D., Cochard J.C., Dao J.C. & Gérard A., 1982.** Production artificielle de naissain de coquille St Jacques *Pecten maximus* (L.). Premiers résultats en rade de Brest. Vie marine 4 : 24-28.
- Caddy J.F., 1969.** Development of mantle organs, feeding and locomotion in postlarval *Macoma balthica* (L.) (Lamellibranchiata). Can. J. Zool. 47 : 609-617.
- Caddy J.F., 1972.** Progressive loss of byssus attachment with size in the sea scallop, *Placopecten magellanicus* (Gmelin). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 9 : 179-190.
- Chebab-Chalabi L., 1984.** Etude des lipides chez les larves et les post-larves de *Mytilus edulis* (L.) en élevages expérimentaux. Thèse de doctorat de 3ème cycle, Université de Bretagne Occidentale, France, 109 p.
- Chevolot L. & Cochard J.C., 1989.** Tyrosine metabolites as metamorphosis inducers of *Pecten maximus* larvae : on the path to the true inducers. *In* : Miyachi S., Karube I., Ishida Y. (eds). Current topics in marine biotechnology. Proceedings of the First International Marine Biotechnology Conference, Tokyo, Sep 3-6, 1989. Japanese Society for Marine Biotechnology, Tokyo, 407-410.
- Chevolot L., Cochard J.C. & Yvin J.C., 1991.** Chemical induction of larval metamorphosis of *Pecten maximus* with a note on the nature of naturally occurring triggering substances. Mar. Ecol. Prog. Ser. 74 : 83-89.
- Chia F.S. & Rice M.E., 1978.** Settlement and metamorphosis of marine invertebrate larvae. Ed. Elsevier, North Holland and New York (USA), 290 p.

- Cole H.A. & Knight-Jones E.W.**, 1939. Some observations and experiments on the setting behaviour of *Ostrea edulis*. J. Cons. Perm. Int. Explor. Mer 14 : 86-105.
- Cole H.A. & Knight-Jones E.W.**, 1949. The setting behaviour of larvae of the European flat oyster *Ostrea edulis* (L.), and its influence on methods of cultivation and spat collection. Fishery Invest., Lond., Ser. 2, 17 (3) : 1-39.
- Coon S.L. & Bonar D.B.**, 1986. Norepinephrine and dopamine content of larvae and spat of the pacific oyster, *Crassostrea gigas*. Biol. Bull. 171 : 632-639.
- Coon S.L. & Bonar D.B.**, 1987. Pharmacological evidence that α_1 -adrenoceptors mediate metamorphosis of the pacific oyster *Crassostrea gigas*. Neuroscience 23 (3) : 1169-1174.
- Coon S.L., Bonar D.B. & Weiner R.M.**, 1985. Induction of settlement and metamorphosis of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg), by L-Dopa and catecholamines. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 94 : 211-221.
- Coon S.L., Bonar D.B. & Weiner R.M.**, 1986. Chemical production of cultchless oyster spat using epinephrine and norepinephrine. Aquaculture 58 : 255-262.
- Coon S.L., Bonar D.B. & Fitt W.**, 1988. An integrated model of oyster settlement and metamorphosis. J. Shellfish Res. 7 (3) : 548-549.
- Coon S.L., Fitt W.K. & Bonar D.B.**, 1990. Competence and delay of metamorphosis in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Mar. Biol. 106 : 379-387.
- Cooper K.**, 1982. Potential for application of the chemical Dopa to commercial bivalve setting systems. J. Shellfish Res. 3 : 110-111.
- Cooper K.L. & Shaw W.N.**, 1984. The effects of environmental factors on the ability of chemical cues to trigger settlement and metamorphosis of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg). J. Shellfish Res. 4 : 85-86.
- Cranfield H.J.**, 1973. Observations on the behaviour of the pediveliger of *Ostrea edulis* during attachment and cementing. Mar. Biol. 22 : 203-209.
- Dao J.C.**, 1991. L'exploitation des pectinidés dans le monde. Proceedings of the 8th International Pectinid Workshop, 22-29 May 1991 Cherbourg, France : 1-27.

- Davis M., Heyman W.D., Harvey W. & Withstandley C.A.**, 1990. A comparison of two inducers, Kcl and *Laurencia* extracts, and techniques for the commercial scale induction of metamorphosis in queen conch *Strombus gigas* (Linnaeus, 1758) larvae. J. Shellfish Res. 9 : 67-73.
- Delaunay F.**, 1992. Nutrition lipidique de la coquille St Jacques *Pecten maximus* (L.) au cours du développement larvaire. Thèse de doctorat, Université de Bretagne Occidentale, France, 201 p.
- Delaunay F., Marty Y., Moal J. & Samain J.F.**, 1992. Growth and lipid class composition of *Pecten maximus* (L.) larvae grown under hatchery conditions. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 163 (2) : 209-219.
- Delaunay F., Marty Y., Moal J. & Samain J.F.**, 1993. The effect of monospecific algal diets on growth and fatty acid composition of *Pecten maximus* (L.) larvae. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 173 : 163-179.
- De Pontual H., Robert R. & Miner P.**, 1998. Study of bivalve larval growth using image processing. Aquacultural Engineering 17 : 85-94.
- Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A. & Smith F.**, 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem. 28 : 350-356.
- Dwiono S.A.P.**, 1992. La métamorphose chez *Pecten maximus* (L.) (Mollusque, Bivalve). Thèse de doctorat, Université de Bretagne occidentale, France, 80 p.
- Dwiono S.A.P., Diouris M., Le Pennec M., Samain J.F. & Cochard J.C.**, 1995. Some biochemical and nutritional aspects of the metamorphosis in *Pecten maximus* (Mollusque, Bivalve). 8^{ème} Atelier International sur les Pectinidés, 22-29 Mai 1991 Cherbourg, 17 : 231-234.
- Eyster L.S. & Pechenik J.A.**, 1987. Attachment of *Mytilus edulis* (L.) larvae on algal and byssal filaments is enhanced by water agitation. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 114 : 99-110.
- Fitt W.K., Coon S.L., Walch M., Weiner R.M., Colwell R.R. & Bonar D.B.**, 1990. Settlement behavior and metamorphosis of oyster larvae of *Crassostrea gigas* in response to bacterial supernatants. Mar. Biol. 106 : 389-394.

- Fujimori T., Yamanishi Y., Yamatsu K. & Tajima T., 1982.** High performance liquid chromatography (HPLC). Determination of endogenous serotonin released from aggregating platelets. Journal of pharmacological methods 7 : 105-113.
- Galtsoff P.S., 1964.** The American oyster, *Crassostrea virginica* Gmelin. Fish. Bull. Fish. Wildl. Serv. U.S. 64 : 1-480.
- Gérard A., Salaun M. & Tritar S., 1989.** Critères de compétences des larves à la métamorphose chez *Pecten maximus*. Haliotis 19 : 373-380.
- Gouletquer P., 1997.** Cycle de reproduction naturelle de l'huître creuse *Crassostrea gigas*. Rapport de groupe de travail - Direction des Ressources Vivantes de l'Ifremer. La reproduction naturelle et contrôlée des Bivalves cultivés en France. Ifremer Nantes 14-15 Nov 1995, 7-19.
- Harvey M., Bourget E. & Miron G., 1993.** Settlement of Iceland scallop *Chlamys islandica* spat in response to hydroids and filamentous red algae : field observations and laboratory experiments. Mar. Ecol. Prog. Ser. 99 : 283-292.
- Haws M.C. & DiMichele L., 1993.** Epinephrine as an experimental tool for the study of metamorphosis. World Aquaculture 24 (3) : 25-29.
- Heasman M.P., O'Connor W.A. & Frazer A.W.J., 1995.** Evaluation of hatchery production of scallops *Pecten fumatus*. Final report to Fisheries Research and Development Corporation, 177 p.
- Heasman M.P., O'Connor W.A. & Frazer A.W.J., 1996.** Ontogenic changes in optimal rearing temperatures for the commercial scallop, *Pecten fumatus* (Reeve). J. Shellfish Res. 15 (3) : 627-634.
- Hidu H., 1969.** Gregarious setting in the American oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin). Chesapeake Sci. 10 : 85-92.
- His E. & Maurer D., 1988.** Shell growth and gross biochemical composition of oyster larvae (*Crassostrea gigas*) in the field. Aquaculture 69 : 185-194.
- His E., Robert R. & Dinet A., 1989.** Combined effects of temperature and salinity on fed and starved larvae of the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* and the Japanese oyster *Crassostrea gigas*. Mar. Biol. 100 (4) : 455-463.

- Hodgson C.A. & Bourne N.**, 1988. Effect of temperature on larval development of the spiny scallop, *Chlamys hastata* (Sowerby), with a note on metamorphosis. J. Shellfish Res. 7 : 349-357.
- Hodgson C.A. & Burke R.D.**, 1988. Development and larval morphology of spiny scallop, *Chlamys hastata*. Biol. Bull. 174 : 303-318.
- Holland D.L. & Spencer B.E.**, 1973. Biochemical changes in fed and starved oysters, *Ostrea edulis* L. during larval development, metamorphosis and early spat growth. J. Mar. Biol. Ass. U. K. 53 287-298.
- Kingzett B.C., Bourne N. & Leask K.**, 1990. Induction of metamorphosis of the japanese scallop *Patinopecten yessoensis* (Jay). J. Shellfish Res. 9 (1) : 119-124.
- Le Borgne Y.**, 1989. Reproduction contrôlée des Mollusques Bivalves. *In* : Lavoisier (ed.) Aquaculture. Vol. 1. 2nd edn. Technique et Documentation - Lavoisier, Paris, 273-284.
- Le Pennec M.**, 1974. Une nouvelle forme d'élevage marin, la Pectiniculture. Penn ar Bed 9 : 127-142.
- Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. & Randall R.J.**, 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. : 265-275.
- Lucas A., Chebab-Chalabi L. & Aldana-Aranda D.**, 1986. Passage de l'endotrophie à l'exotrophie chez les larves de *Mytilus edulis*. Océanologica Acta, 9 (1) : 97-103.
- Manahan D.T.**, 1983. The uptake and metabolism of dissolved amino acids by bivalve larvae. Biol. Bull. mar. biol. Lab., Woods Hole 164 : 236-250.
- Manahan D.T. & Crisp D.J.**, 1982. The role of dissolved organic material in the nutrition of pelagic larvae : amino acid uptake by bivalve veligers. Am. Zool. 22 : 635-646.
- Marty Y., Delauney F., Moal J. & Samain J.F.**, 1992. Changes in the fatty acid composition of *Pecten maximus* (L.) during larval development. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 163 (2) : 221-234.
- Maruta K., Fujita K., Ito S. & Nagatsu T.**, 1984. Liquid chromatography of plasma catecholamines with electrochemical detection after treatment with boric acid gel. Clin. Chem. 30 (7) : 1271-1273.

- McAnally Salas L., Cavazos Llitas H. & Salas Garza A., 1989.** Effect of epinephrine, norepinephrine and L-Dopa on the settlement and metamorphosis of larvae of *Crassostrea gigas*. Ciencias Marinas 15 (4) : 85-103.
- Medcof J.C., 1961.** Oyster farming in the maritimes. Bull. Fish. Res. Board. Can., 131, 154 p.
- Morse D.E., Hooker N., Ducan H. & Jensen L., 1979.** Gamma-amino butyric acid, a neurotransmitter, induces planktonic abalone larvae to settle and begin metamorphosis. Science 204 : 407-410.
- Muzellec M.L., Laurent P., Corre C., Dao J.C. & Gérard A., 1994.** Production de coquille St Jacques en éclosion/nurserie. *In* : Programme coquille Saint-Jacques, filière technique de culture sur le fond, bilan des contrats de plan, 1983-1988 & 1989-1993 : I. La filière zootechnique. Rapport interne DRV IFREMER, 14 p.
- Nell J.A. & Holliday J.E., 1986.** Effects of potassium and copper on the settling rate of Sydney Rock Oyster (*Saccostrea commercialis*) larvae. Aquaculture 58 : 263-267.
- Neudecker T., 1985.** Inhibitory effect of low salinity on metamorphosis of *Crassostrea gigas* (Thunberg) larvae. ICES, C.M. 1985/F : 48 p.
- Nicolas J.L., Corre S., Gauthier G., Robert R. & Ansquer D., 1996a.** Bacterial problems associated with scallop *Pecten maximus* larval culture. Diseases of Aquatic Organisms 27 : 67-76.
- Nicolas L., Robert R. & Chevotot L., 1996b.** Effect of epinephrine and seawater turbulence on the metamorphosis of the great scallop. Aquaculture International 4 : 293-297.
- Nicolas L., Robert R. & Chevotot L., 1998.** Comparative effect of inducers on metamorphosis of the Japanese oyster *Crassostrea gigas* and the great scallop *Pecten maximus*. Biofouling 12 (1-3) : 189-203.
- Paulet Y.M., Donval A. & Bekhadra F., 1993.** Monoamines and reproduction in *Pecten maximus*, a preliminary approach. Invertebrate Reproduction and Development 23 (2-3) : 89-94.
- Pawlik J.R. & Hadfield M.G., 1990.** A symposium on chemical factors that influence the settlement and metamorphosis of marine invertebrate larvae : introduction and perspective. Bull. Mar. Sci. 42 (2) : 450-454.

- Pechenik J.A. & Heyman W.D.**, 1987. Using KCl to determine size at competence for larvae of the marine gastropod *Crepidula fornicata* (L.). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 112 : 27-38.
- Reid R.G.B., Mc Mahon R.F., O'Foighil D. & Finnigan R.**, 1992. Anterior inhalant currents and pedal feeding in bivalves. The Veliger 35 (2) : 93-104.
- Ritchie T.P. & Menzel R.W.**, 1969. Influence of light on larval settlement of American oysters. Proc. Nat. Shellfish Assoc. 59 : 116-120.
- Robert R.**, 1998. Nutritional inadequacy of *Nannochloris atomus* and *Stichococcus bacillaris* for the oyster *Crassostrea gigas* larvae. Haliotis 27: 29-34.
- Robert R. & His E.**, 1987. Croissance et spectre de tailles de six algues utilisées pour la nutrition de larves de bivalves en éclosion, en culture non renouvelée. Rev. Trav. Inst. Pêches marit., 49 (3 et 4) : 165-173.
- Robert R. & Trintignac P.**, 1997a. Microalgues et nutrition larvaire en éclosion de mollusques. Haliotis 26 : 1-13.
- Robert R. & Trintignac P.**, 1997b. Substitues for live microalgae in mariculture : a review. Aquat. Living Resour. 10 : 315-327.
- Robert R. & Gérard A.**, 1999. Bivalve hatchery technology : the current situation for the Pacific oyster *Crassostrea gigas* and the scallop, *Pecten maximus* in France. Aquat. Living Resour., ss presse.
- Robert R., His E. & Dinet A.**, 1988. Combined effects of temperature and salinity on fed and starved larvae of the European flat oyster *Ostrea edulis*. Mar. Biol. 97 : 95-100.
- Robert R., Noel T. & Galois R.**, 1989. The food value of five unicellular diatoms to the larvae of *Crassostrea gigas* (Thunberg). Int. Aquaculture Conf., Bordeaux, 2-4 Oct 1989 : 215-216.
- Robert R., Miner P., Mazuret M. & Connan J.P.**, 1994a. Eclosion expérimentale de Mollusques d'Argenton, bilan et perspective. Equinoxe 49 : 20-33.
- Robert R., Moal J., Campillo M.J. & Daniel J.Y.**, 1994b. The food value of starch rich flagellates for *Pecten maximus* (Linné) larvae. Preliminary results. Haliotis 23 : 169-171.

- Robert R., Miner P. & Nicolas J.L.**, 1996. Mortality control of scallop larvae in the hatchery. Aquacult. Int. 4 : 305-313.
- Rodriguez J.L., Sedano F.J., Garcia-Martin L.O., Pérez-Camacho A. & Sanchez J.L.**, 1990. Energy metabolism of newly settled *Ostrea edulis* spat during metamorphosis. Mar. Biol. 106 : 109-111.
- Roland W.G. & Broadley T.A.**, 1986. The effects of temperature, salinity and food when setting hatchery reared larvae of *Crassostrea gigas*. British Columbia Mariculture Newsletter 6 (3) : 9-15.
- Roland W.G. & Broadley T.A.**, 1990. A manual of producing oyster seed by remote setting. Province of British Columbia, Ministry of Agriculture and Fisheries, Aquaculture and Commercial Fisheries Branch, Canada, 70 p.
- Salaün M.**, 1994. La larve de *Pecten maximus*, génèse et nutrition. Thèse de doctorat, Université de Bretagne occidentale, France, 242 p.
- Sastry A.N.**, 1965. The developmental and external morphology of pelagic larval and post-larval stages on the bay scallop *Aequipecten irradians concentricus* Say, reared in the laboratory. Bull. Mar. Sci. 15 (2) : 417-435.
- Seguineau C., Laschi-Loquerie A., Leclercq M., Samain J.F., Moal J. & Fayol V.**, 1993. Vitamin transfer from algal diet to *Pecten maximus* larvae. J. Mar. Biotechnol. 1 (2) : 67-71.
- Seguineau C., Laschi-Loquerie A., Moal J. & Samain J.F.**, 1996. Vitamin requirements in great scallop larvae. Aquaculture International 4 : 315-324.
- Shpigel M., Coon S.L. & Kleinot P.**, 1989. Growth and survival of cultchless spat of *Ostrea edulis* Linnaeus, 1750 produced using epinephrine and shell chips. J. Shellfish Res. 8 (2) : 355-357.
- Soudant P.**, 1995. Les phospholipides et les stérols des géniteurs et des larves de coquille St Jacques *Pecten maximus* (L.). Relations avec la nutrition. Thèse de doctorat, Université de Bretagne occidentale, France, 294 p.

- Soudant P., Le Coz J.R., Marty Y., Moal J., Robert R. & Samain J.F.**, 1998. Incorporation of microalgae sterols by scallop *Pecten maximus* (L.) larvae. Comp. Biochem. Physiol. 119A (2) : 451-457.
- Tan S.H. & Wong T.M.**, 1995. Induction of settlement and metamorphosis in the tropical oyster, *Crassostrea belcheri* (Sowerby), by neuroactive compounds. J. Shellfish Res. 14 (2) : 435-438.
- Tritar S.**, 1987. Etude expérimentale du rôle du film bactérien dans l'initiation de la métamorphose des larves de bivalves. Thèse de doctorat, Université de Bretagne occidentale, France, 166 p.
- Tritar S. & Lucas A.**, 1989. Remarques méthodologiques sur le calcul du taux de fixation chez les bivalves en métamorphose. Haliotis 19 : 251-257.
- Tritar S., Prieur D. & Weiner R.**, 1992. Effects of bacterial films on the settlement of the oysters, *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) and *Ostrea edulis* (Linnaeus, 1750) and the scallop *Pecten maximus* (Linnaeus, 1758). J. Shellfish Res. 11 (2) : 325-330.
- Uribe E., Solar C., Vicuna C. & Green J.**, 1994. Induction of metamorphosis of the Chilean scallop *Argopecten purpuratus* (Lamar). Proceedings of the 9th International Pectinid Workshop, 22-27 Apr 1993 Nanaimo, Canada, 1 : 76-82.
- Utting S.D.**, 1986. A preliminary study on growth of *Crassostrea gigas* larvae and spat in relation to dietary protein. Aquaculture 56 : 123-138.
- Utting S.D. & Spencer B.E.**, 1991. The hatchery culture of bivalve mollusc larvae and juveniles. Laboratory Leaflet Number 68 Directorate of Fisheries Research (G.B.), 31 p.
- Walch M., Dagan L., Coon S.L., Weiner R.M., Bonar D.B. & Colwell R.**, 1988. Mechanisms of microbial induction of oyster larval settlement behavior and metamorphosis. First International Symposium on Marine Molecular Biology, Oct 9-11, Baltimore, Maryland (USA).
- Walne P.R.**, 1966. Large-scale culture of larvae of *Ostrea edulis* (L.). Fish. Invest., Lond., Ser. 2, 24 (4) : 1-52.

- Walne P.R.**, 1970. Studies on the food value of nineteen genera of algae to juvenile bivalves of the genera *Ostrea*, *Crassostrea*, *Merceneria* and *Mytilus*. Fish. Invest., Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. Ser. 2, 26 (5), 62p.
- Walne P.R.**, 1972. The influence of current speed, body size and water temperature on the filtration rate of five species of bivalves. J. Mar. Biol. Ass. U. K. 52 : 345-374.
- Walne P.R. & Helm M.M.**, 1974. The routine culture of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) at Conwy during 1973. Shellfish Information Leaflets 32 : 1-9.
- Weiner R.M. & Colwell R.R.**, 1982. Induction of settlement and metamorphosis in *Crassostrea virginica* by a melanin-synthesizing bacterium. Tech. Rep. Maryland Sea Grant Prog., Publ. U.M.S.G.T.S. 82-05, 44 p.
- Weiner R.M., Walch M., Labare M.P., Bonar D.B. & Colwell R.R.**, 1989. Effect of biofilms of the marine bacterium *Alteromonas colwelliana* (LST) on set of the oysters *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) and *C. virginica* (Gmelin, 1791). J. Shellfish Res. 8 (1) : 117-123.
- Whyte J.N.C., Bourne N. & Hodgson C.A.**, 1987. Assessment of biochemical composition and energy reserves in larvae of the scallop *Patinopecten yessoensis*. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 113 : 113-124.
- Whyte J.N.C., Bourne N. & Hodgson C.A.**, 1990. Nutritional condition of rock scallop, *Crassodoma gigantea* (Gray), larvae fed mixed algal diets. Aquaculture 86 : 25-40.
- Wilson J.**, 1981. Hatchery rearing of *Ostrea edulis* and *Crassostrea gigas*. Aquacult. Tech. Bull., Ireland (4) : 1-34.
- Yool A.J., Grau S.M., Hadfield M.G., Jensen R.A. & Morse D.E.**, 1986. Excess potassium induces larval metamorphosis in four marine invertebrates species. Biol. Bull. 170 : 255-266.
- Yvin J.C., Chevlot L., Chevlot-Magueur A.M. & Cochard J.C.**, 1985. First isolation of jacaranone from an alga *Delesseria sanguinea* : a metamorphosis inducer of *Pecten* larvae. J. nat. Prod. 48 : 814-816.
- Zobell C.E. & Allen E.C.**, 1935. The significance of marine bacteria in the fouling of submerged surfaces. J. Bacteriol. 29 : 239-251.

ANNEXES

Table des abréviations

P : *Pavlova lutheri*

T : *Isochrysis affinis galbana*

C : *Chaetoceros calcitrans*

Csp : *Chaetoceros sp*

S : *Skeletonema costatum*

R : *Rhodomonas salina*

5 HMT : NW Méthyl-5-Hydroxy-tryptamine, standard interne pour la sérotonine

5 HT : sérotonine

DHBA : 3,4-Dihydroxybenzylamine, standard interne pour les catécholamines

NA : noradrénaline

DA : dopamine

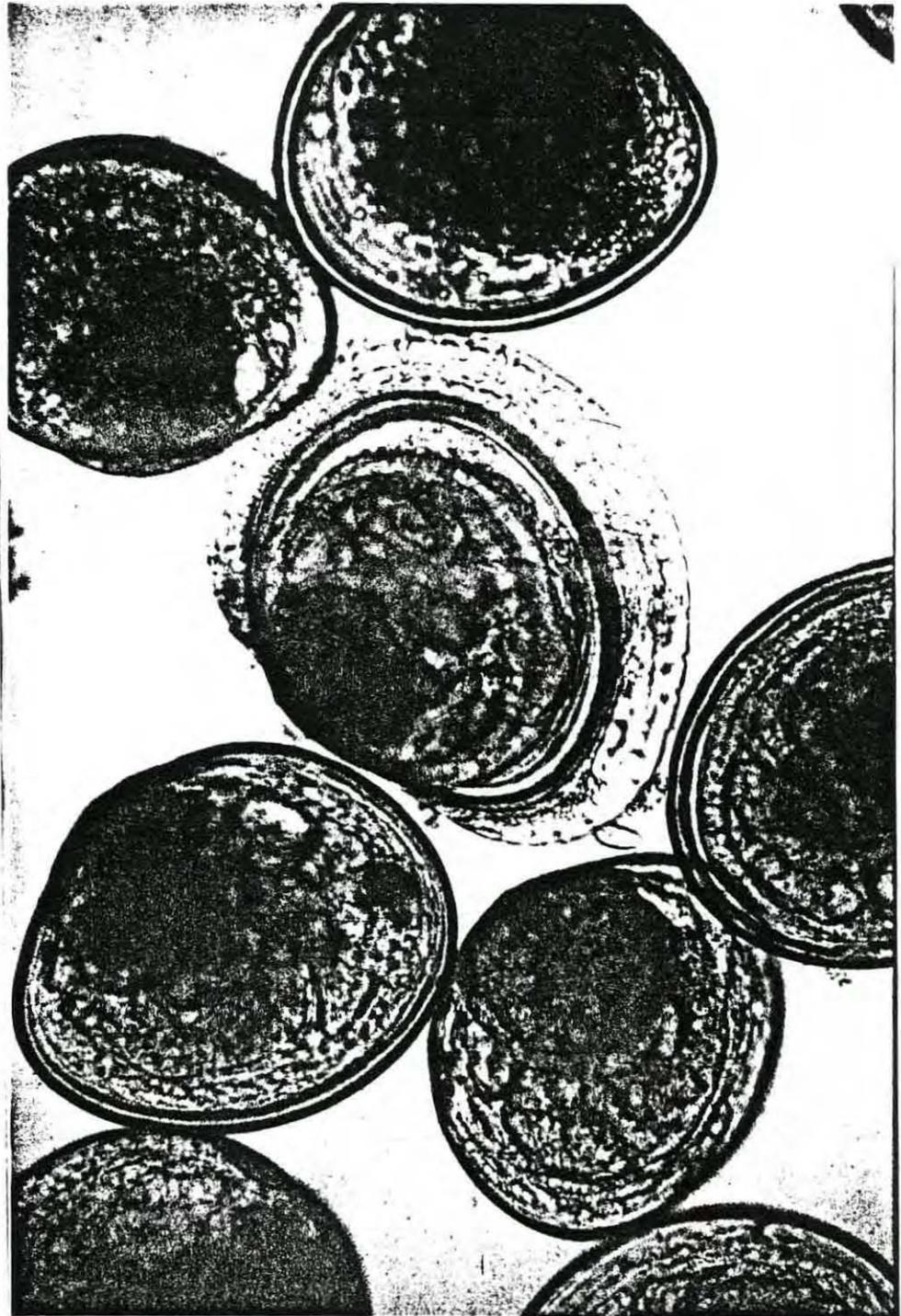
Indices

Taux de métamorphose = nombre total de post-larves / population totale

Taux de fixation = nombre de post-larves fixées / population totale

Mortalité larvaire = nombre de larves mortes / population larvaire

Mortalité post-larvaire = nombre de post-larves mortes / population post-larvaire



Larves, double barre et post-larve de *Pecten maximus*.