

# Valeur alimentaire de *Tetraselmis striata* et *T. chui* pour les larves de *Crassostrea gigas*

Emanuele PONIS<sup>1</sup>, Giuliana PARISI<sup>1</sup> et René ROBERT<sup>2\*</sup>

## ABSTRACT

### Food value of *Tetraselmis striata* and *T. chui* for *Crassostrea gigas* larvae

In an attempt to simplify mollusc hatchery-nursery procedures and to provide cost-effective alternative diets, the use of concentrated and preserved microalgae is an alternative to the use of fresh microalgae. Because of their ability for preservation, Prasinophytes appears to be good candidates for remote algal production. In the present work, the food value of fresh and preserved *Tetraselmis chui* and *T. striata* for umboned *Crassostrea gigas* larvae was studied. During the first experiment, fresh *T. striata* led to the best larval development, but these performances were not confirmed subsequently. When used as monospecific diets the food value of both Prasinophytes is insufficient to support a good *C. gigas* larval development. However in bispecific diets a substitution of 50% of fresh *Chaetoceros calcitrans* forma *pumilum* with the preserved *T. striata* concentrates did not influence neither growth nor survival rate of *C. gigas* larvae.

## RÉSUMÉ

L'utilisation de microalgues concentrées et conservées est une des voies envisagées pour améliorer les procédures en éclosion-nurserie de mollusques et en diminuer les coûts de production. Car elles présentent de bonnes aptitudes à la conservation, les Prasinophycées s'avèrent de bons candidats potentiels. Dans le présent travail, la valeur alimentaire de *Tetraselmis chui* et *T. striata*, en tant qu'algue fraîche ou conservée, a été recherchée sur des larves umbonées de *Crassostrea gigas*. Au cours d'une première expérience, *T. striata* s'est avérée être la microalgue autorisant le meilleur développement larvaire, mais ces résultats n'ont pu être reproduits ultérieurement tant sur l'algue fraîche que conservée. Utilisées comme seule source nutritionnelle, *T. chui* et *T. striata* ne présentent pas une qualité alimentaire suffisante pour autoriser une bonne croissance des larves d'huître japonaise. Cependant, l'utilisation de *T. striata*, sous sa forme concentrée et conservée, a permis de substituer, en régime bispécifique, 50% d'une microalgue de très bonne valeur nutritionnelle comme *Chaetoceros calcitrans* forma *pumilum* sans influencer négativement les performances de développement larvaire.

<sup>1</sup> Dipartimento di Scienze Zootecniche, Università di Firenze, Via delle Cascine 5, 50144 Florence, Italie

<sup>2</sup> Laboratoire de Physiologie des Invertébrés Marins, Station Expérimentale d'Argenton, IFREMER, Presqu'île du Vivier, 29840 Landunvez, France. email <rrobert@ifremer.fr> (\* Correspondant)

## INTRODUCTION

Les microalgues vivantes sont traditionnellement utilisées en éclosérie-nurserie pour servir d'alimentation aux mollusques bivalves (Brown *et al.*, 1997; Robert et Trintignac, 1997). Ceci nécessite une synchronisation rigoureuse des productions primaire et secondaire. De plus, afin de pallier à un déficit de phytoplancton, ces productions sont souvent excédentaires. Or, le coût de production par les méthodes conventionnelles est élevé puisqu'il représente 20 à 50% du coût de fonctionnement d'une éclosérie (Beneman, 1992; Coutteau et Sorgeloos, 1992). Ces inconvénients pourraient être levés si des techniques d'alimentation différée par concentration et conservation de la biomasse étaient développées. Des travaux ont été engagés dans ce sens dans notre laboratoire et nous avons ainsi pu montrer l'efficacité de cette approche avec *Tetraselmis suecica*. Cependant cette microalgue, utilisée en régime monospécifique, sous sa forme fraîche ou conservée, s'est avérée de faible valeur nutritionnelle tant pour les larves que les post-larves de *Crassostrea gigas* (Robert *et al.*, 2000; Robert *et al.*, 2001). À l'inverse, de bonnes croissances ont été rapportées chez des juvéniles de *C. virginica* alimentées avec deux autres Prasinophycées, *T. striata* et *T. chui* (Wikfors *et al.*, 1996). Compte tenu de l'aptitude des Prasinophycées à la conservation à basse température positive (Tredici *et al.*, 1996), la qualité alimentaire de ces deux espèces de *Tetraselmis* a donc été recherchée sur les larves d'huître japonaise.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

*Paulova lutheri* et *Chaetoceros calcitrans* forma *pumilum*, utilisées dans nos expériences comme témoins nutritionnels, étaient originaires du souchier de l'éclosérie d'Argenton tandis que *Tetraselmis chui* et *T. striata* provenaient du laboratoire de Milford (USA). Produites en ballons de 2L et 6L sur milieu de Conway (Walne, 1966) à la température de 20°C sous éclairage continu (160  $\mu\text{moles photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) et avec apport permanent d'air et CO<sub>2</sub> (2% du mélange), elles étaient utilisées en fin de phase exponentielle.

Compte tenu de leur grande taille relative (diamètre moyen équivalent = 7,0 - 8,5  $\mu\text{m}$ ), *T. chui* et *T. striata* n'ont pu être apportées aux larves qu'à partir du stade umboné. Des jeunes larves de *C. gigas* ont donc été préalablement élevées en cuve cylindro-conique de 200L pendant 10 à 14 jours selon des techniques décrites par ailleurs (Robert et Gérard, 1999). Après leur sélection sur un tamis de maille de 80  $\mu\text{m}$ , les larves umbonées (taille initiale 140-150  $\mu\text{m}$ ) ont été réparties dans des béciers en verre de 2L, à raison de 5 individus.ml<sup>-1</sup>, en eau de mer filtrée à 1 $\mu\text{m}$ , maintenue à 25°C, à salinité ambiante (34-35 ppm) et soumises à différents régimes.

Deux séries expérimentales ont été réalisées. La première, conduite avec des seules microalgues fraîches, avait pour but d'identifier, entre *T. chui* et *T. striata*, la Prasinophycée la mieux adaptée au développement larvaire de *C. gigas*, tandis que la deuxième consistait à définir la valeur alimentaire de l'algue sélectionnée sous sa forme conservée. Dans un premier temps, cinq conditions nutritionnelles étaient appliquées: régimes monospécifiques = *P. lutheri* (P), *T. chui* (Tc), *T. striata* (Ts); régimes bispécifiques = PTc, PTs. Dans un second temps, les larves recevaient les régimes alimentaires suivants: monospécifiques = *P. lutheri* (P), *C. calcitrans* forma *pumilum* (Cp), *T. striata* sous sa forme fraîche (Ts) et conservée pendant 3 semaines à 4°C (Tsc); bispécifiques = PTs, CpTs, CpTsc. Les régimes alimentaires étaient basés sur un apport de 140 cellules. $\mu\text{L}^{-1}$  volume équivalent *P. lutheri* et le rapport de taille cellulaire considéré entre les algues

était de 1 Tc = 1 Ts = 7 P = 14 Cp. Les diètes bispécifiques (50/50) reposaient également sur ces équivalences de volume cellulaire. À l'issue de chaque expérience d'une durée de une (exp. 1) à deux semaines (exp. 2), la mortalité cumulée était déterminée par comptage au microscope des larves translucides sur un échantillon de 500 individus par bécher, tandis que la croissance était appréciée par détermination de la longueur en analyse d'images à l'aide du logiciel SXM. Enfin, le taux journalier de croissance était déterminé par la différence entre la longueur finale et initiale divisée par la durée de l'expérience. L'influence de la nutrition sur la croissance larvaire était déterminée par analyse de variance de la longueur couplée à des tests de comparaisons multiples de moyennes de Sheffé.

## RÉSULTATS

Au cours de la première expérience (Figure 1) et à l'issue d'une semaine d'élevage (correspondant au 21<sup>e</sup> jour après fécondation sur l'ensemble du cycle d'élevage) les mortalités larvaires relevées durant cette période étaient faibles (< 10%), quel que soit le régime nutritionnel, mais les longueurs finales obtenues ont conduit à des croissances globalement médiocres. En fin d'expérience, une analyse de variances démontrait néanmoins l'influence significative du facteur nutritionnel sur la longueur larvaire ( $F = 6,35$ ;  $dl = 4$ ;  $P < 0,001$ ). La meilleure performance était ainsi enregistrée avec *T. striata* avec un taux de croissance larvaire de  $4,91 \mu\text{m}\cdot\text{j}^{-1}$  (*vs*  $1,03$  et  $1,92 \mu\text{m}\cdot\text{j}^{-1}$  respectivement pour *P. lutheri* et *T. chui*; Tableau 1).

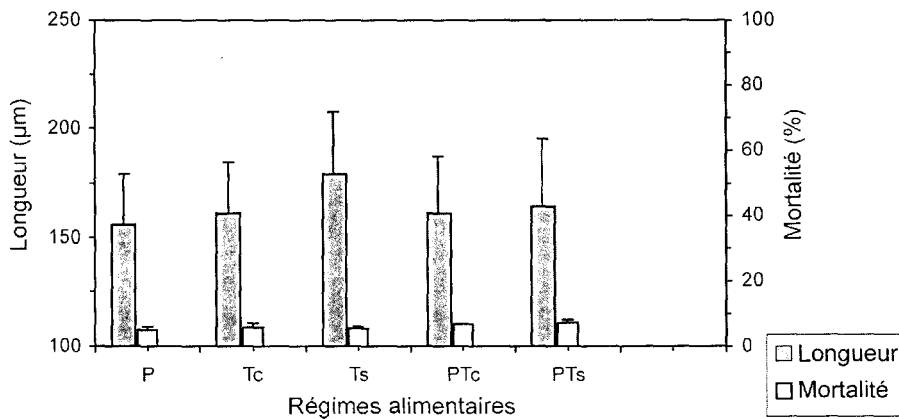


Figure 1. Expérience 1: Longueur finale et mortalité moyenne ( $\pm$  écart type) de larves umbonées de *Crassostrea gigas* alimentées pendant une semaine avec *Tetraselmis chui* (Tc) et *T. striata* (Ts). P = *Pavlova lutheri*, Tc = *Tetraselmis chui*, Ts = *Tetraselmis striata*.

Au vu de ces résultats la deuxième expérimentation n'a concerné que la seule *T. striata* où les résultats précédents n'ont pu être confirmés. En effet, à l'issue de deux semaines d'élevage (correspondant au 24<sup>e</sup> jour après fécondation sur l'ensemble du cycle d'élevage) aucune des larves alimentées avec cette seule microalgue fraîche n'a survécu (Ts), cette mortalité atteignant 60% avec l'algue conservée (Tsc) (*vs* un maximum de 8,5% pour les autres régimes monospécifiques). De plus, toujours sur régime monospécifique, les croissances larvaires restaient bien inférieures à celles enregistrées chez les témoins ( $1,51 \mu\text{m}\cdot\text{j}^{-1}$  pour Tsc *vs*  $4,58$  et  $7,19 \mu\text{m}\cdot\text{j}^{-1}$  respectivement

pour *P. lutheri* et *C. calcitrans* forma *pumilum*; Figure 2 et Tableau 1). Associée en tant qu'algue fraîche avec *P. lutheri* une moindre croissance était enregistrée par rapport à celle obtenue avec la seule Haptophycée ( $1,83 \mu\text{m.j}^{-1}$  vs  $4,58 \mu\text{m.j}^{-1}$ ). Par ailleurs, aucune différence significative de taille finale ( $P < 0,05$ ) et donc de taux de croissance n'était observée lorsque *T. striata* était combinée avec *C. calcitrans* forma *pumilum* en tant qu'algue fraîche ( $6,26 \mu\text{m.j}^{-1}$  vs  $7,19 \mu\text{m.j}^{-1}$ , respectivement pour CpTs et Cp) ou sous sa forme conservée ( $7,49 \mu\text{m.j}^{-1}$  vs  $7,19 \mu\text{m.j}^{-1}$ , respectivement pour CpTsc et Cp; Figure 2 et Tableau 1).

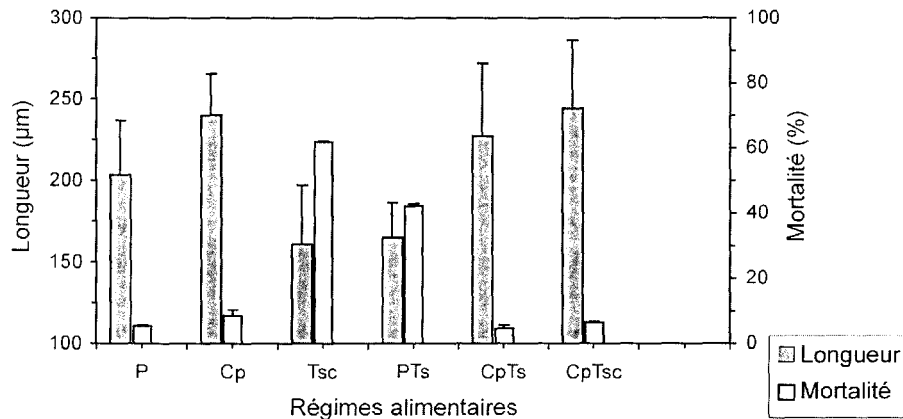


Figure 2. Expérience 2: Longueur finale et mortalité moyenne ( $\pm$  écart type) de larves umbonées de *Crassostrea gigas* alimentées pendant deux semaines avec *T. striata* (Ts). P = *Pavlova lutheri*, Cp = *Chaetoceros calcitrans* forma *pumilum*, Ts = *Tetraselmis striata*.

Tableau 1: Longueur finale moyenne et taux de croissance moyen ( $\pm$  erreur standard) de larves umbonées de *Crassostrea gigas* soumises à différents assemblages nutritionnels constitués de microalgues fraîches (Expérience 1) et/ou conservées (Expérience 2).

Expérience 1: Taille initiale des larves  $149,68 \mu\text{m}$  ( $\pm 21,10$ ), durée de l'expérience 6 jours.

P = *Pavlova lutheri*, Tc = *Tetraselmis chui*, Ts = *Tetraselmis striata*.

Expérience 2: Taille initiale des larves  $139,31 \mu\text{m}$  ( $\pm 15,70$ ), durée de l'expérience 14 jours.

P = *Pavlova lutheri*, Cp = *Chaetoceros calcitrans* forma *pumilum*, Ts = *Tetraselmis striata* fraîche, Tsc = *Tetraselmis striata* conservée.

Les longueurs finales moyennes annotées par des lettres différentes présentent des différences significatives au seuil de 5%.

Expérience 1			Expérience 2		
Régime alimentaire	Longueur finale ( $\mu\text{m}$ )	Taux de croissance ( $\mu\text{m.j}^{-1}$ )	Régime alimentaire	Longueur finale ( $\mu\text{m}$ )	Taux de croissance ( $\mu\text{m.j}^{-1}$ )
P	155,91 <sup>a</sup>	1,03 ( $\pm 1,14$ )	P	203,46 <sup>b</sup>	4,58 ( $\pm 0,38$ )
Tc	161,23 <sup>a</sup>	1,92 ( $\pm 1,14$ )	Cp	240,06 <sup>c</sup>	7,19 ( $\pm 0,34$ )
Ts	179,14 <sup>b</sup>	4,91 ( $\pm 1,27$ )	Ts	Pas de survie	
PTs	164,51 <sup>ab</sup>	2,45 ( $\pm 1,16$ )	Tsc	160,39 <sup>a</sup>	1,51 ( $\pm 0,27$ )
PTc	161,26 <sup>a</sup>	1,93 ( $\pm 1,03$ )	PTs	164,88 <sup>a</sup>	1,83 ( $\pm 0,25$ )
-	-	-	CpTs	244,27 <sup>c</sup>	6,26 ( $\pm 0,45$ )
-	-	-	CpTsc	226,98 <sup>c</sup>	7,48 ( $\pm 0,45$ )

## DISCUSSION ET CONCLUSION

La plupart des travaux de la littérature s'accorde pour qualifier *T. suecica* comme une microalgue de faible valeur nutritionnelle lorsque celle-ci constitue la seule ration alimentaire chez les larves et juvéniles d'Ostréidés (Laing et Millican, 1986; Nell et O' Connor, 1991; O' Connor *et al.*, 1992; Robert *et al.*, 2000; Robert *et al.*, 2001). Cependant, une sensible amélioration des performances de croissance et/ou de survie des mollusques est souvent enregistrée lorsque cette Prasinophycée est associée à une ou plusieurs autres espèces phytoplanctoniques (Laing et Millican, 1986; Robert *et al.*, 2001). De tels résultats ont été rapportés avec *T. chui* chez des juvéniles de *Saccostrea commercialis* (O' Connor *et al.*, 1992). À notre connaissance, seuls les travaux de Wikfors *et al.* (1996) démontrent la bonne valeur nutritionnelle de *T. chui*, quelle que soit l'origine de la souche, pour des juvéniles de *Crassostrea virginica* alimentés sur régimes monospécifiques. Par contre, ces croissances sont nettement plus contrastées lorsque ce même naissain est alimenté avec *T. striata*; en ce cas une seule souche permettait des performances supérieures à celles enregistrées chez le témoin, représenté par des naissains alimentés avec la Prymnesiophycée *Isochrysis* aff. *galbana* souche T-Iso (Wikfors *et al.*, 1996).

Nos expérimentations sur des larves âgées de *C. gigas*, aptes à ingérer des microalgues de plus grande taille, n'ont pas permis de valider la bonne valeur alimentaire de ces Prasinophycées. En effet, au cours de la première expérimentation, les performances de développement larvaire de *C. gigas* alimentées avec *T. chui*, considérée comme la meilleure microalgue pour des juvéniles de *C. virginica* (Wikfors *et al.*, 1996), n'étaient pas statistiquement différentes de celles enregistrées chez les témoins recevant *P. lutheri*. Par contre, une meilleure croissance par rapport à ces mêmes témoins étaient enregistrées au cours de la première expérience avec la seule *T. striata*. Avec cette dernière, ces bonnes performances n'ont pu être confirmées au cours de la deuxième série expérimentale. En effet, une faible survie était enregistrée, d'une part, chez les larves alimentées avec la seule *T. striata* fraîche et, d'autre part, les croissances larvaires enregistrées avec cette même microalgue conservée étaient bien inférieures à celles enregistrées chez les témoins recevant exclusivement *P. lutheri*, ou *C. calcitrans* forma *pumilum*. De plus, en régimes bispécifiques l'apport de *T. striata* fraîche ou conservée n'a pas amélioré les performances larvaires. Les divergences entre nos résultats et ceux rapportés par Wikfors *et al.* (1996) pourraient s'expliquer soit par des exigences nutritionnelles propres à chaque espèce (*C. gigas* vs *C. virginica*) ou stade de développement (larvaire vs juvénile) comme rapportées par Knauer et Southgate (1999). Une modification de la qualité biochimique des microalgues utilisées, liée à des conditions de culture différente (ex: batch vs semi-continu, milieu de Conway vs E. medium), comme rapportée par certains auteurs (Wikfors *et al.*, 1984; Lourenco *et al.*, 1997), pourrait constituer une autre explication possible.

L'utilisation de *T. striata*, y compris sous sa forme conservée, a cependant permis la substitution d'une importante partie (50%) de *C. calcitrans* forma *pumilum*, caractérisée par une valeur nutritionnelle élevée pour les larves de *C. gigas* (Robert *et al.*, 1989), sans influencer négativement les performances de croissance et de survie larvaire.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Benemann J.R., 1992. Microalgae aquaculture feeds. *Journal of Applied Phycology* 4: 233-245.

- Brown M.R., Jeffrey S.W., Volkman J.K. & Dunstan C.A., 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture* **151**: 315-331.
- Coutteau P. & Sorgeloos P., 1992. The use of algal substitutes and the requirement for live algae in the hatchery and nursery rearing of bivalve molluscs: an international survey. *Journal of Shellfish Research* **11**(2): 467-476.
- Knauer J. & Southgate P.C., 1999. A review of the nutritional requirements of bivalves and the development of alternative and artificial diets for bivalve aquaculture. *Reviews in Fisheries Science*, **7**(3-4): 241-280.
- Lorenco S.O., Lanfer Marquez U.M., Mancini-Filho J., Barbarino E. & Aida E., 1997. Changes in biochemical profile of *Tetraselmis gracilis*. 1. Comparison of two culture media. *Aquaculture* **148**: 153-168.
- Laing I. & Millican P.F., 1986. Relative growth and growth efficiency of *Ostrea edulis* L. spat fed various algal diets. *Aquaculture* **54**: 245-262.
- Nell J.A. & O'Connor W.A., 1991. The evaluation of fresh algae and stored algal concentrates as a food source for Sydney rock oyster, *Saccostrea commercialis* (Iredale and Roughley), larvae. *Aquaculture* **99**: 277-284.
- O'Connor W.A., Nell J.A., & Diemar J.A., 1992. The evaluation of twelve algal species as food for juvenile Sydney rock oysters *Saccostrea commercialis* (Iredale & Roughley). *Aquaculture* **108**: 227-283.
- Robert R., Noël T. & Galois R., 1989. The food value of five unicellular diatoms to the larvae of *Crassostrea gigas* Thunberg. In: Proceedings Aquaculture Europe '89. October 2-4 Bordeaux (France). *EAS Special Publication* **10**: 215-216.
- Robert R. & Trintignac P., 1997. Microalgues et nutrition larvaire en éclosion de mollusques. *Haliotis* **26**: 1-13.
- Robert R. & Gérard A., 1999. Bivalve hatchery technology: the current situation for the Pacific oyster *Crassostrea gigas* and the scallop *Pecten maximus* in France. *Aquatic Living Resources* **12**(2): 121-130.
- Robert R., Parisi G., Pastorelli R., Poli B.M. & Tredici M., 2000. Nutritional value of preserved *Tetraselmis suecica* for *Crassostrea gigas* spat. AQUA 2000, responsible aquaculture in the new millennium, Nice, 2-6 may 2000, special publication 28: 601.
- Robert R., Parisi G., Rodolfi L., Poli B.M. & Tredici M.R., 2001. Use of fresh and preserved *Tetraselmis suecica* for feeding *Crassostrea gigas* larvae. *Aquaculture* **192**: 333-346.
- Tredici M.R., Chini Zittelli G. & Montaini E., 1996. Cold preservation of microalgae aquaculture feeds.. Proceedings of Refrigeration Science and Technology, Bordeaux, France, 20-22 March. pp 25-32.
- Walne P.R., 1966. Large scale culture of larvae of *Ostrea edulis* (L.) *Fisheries Investigations*, London., (2)**24**(4): 1-52.
- Wikfors G.H., Twarog J.W. & Ukeles R., 1984. Influence of chemical composition of algal sources on growth of juvenile oysters, *Crassostrea virginica*. *Biological Bulletin* **167**: 251-263.
- Wikfors G.H., Patterson G.W., Ghosh P., Lewin R.A., Smith B.C. & Alix J.H., 1996. Growth of post-set oysters *Crassostrea virginica*, on high-lipid strains of algal flagellates *Tetraselmis* spp. *Aquaculture* **143**: 411-419.