

Fiche de confidentialité et de diffusion du mémoire

Confidentialité

Non Oui si oui : 1 an 5 ans 10 ans

Pendant toute la durée de confidentialité, aucune diffusion du mémoire n'est possible (1).

Date et signature du maître de stage (2) :
(ou de l'étudiant-entrepreneur)

le 19 octobre 2021


A la fin de la période de confidentialité, sa diffusion est soumise aux règles ci-dessous (droits d'auteur et autorisation de diffusion par l'enseignant à renseigner).

Droits d'auteur

L'auteur(3) Nom Prénom -----Vasseur Laura-----

autorise la diffusion de son travail (immédiatement ou à la fin de la période de confidentialité)

Oui Non

Si oui, il autorise

la diffusion papier du mémoire uniquement(4)

la diffusion papier du mémoire et la diffusion électronique du résumé

la diffusion papier et électronique du mémoire (joindre dans ce cas la fiche de conformité du mémoire numérique et le contrat de diffusion)

(Facultatif) accepte de placer son mémoire sous licence Creative commons CC-By-Nd (voir Guide du mémoire Chap 1.4 page 6)

Date et signature de l'auteur : 7 octobre 2021



Autorisation de diffusion par le responsable de spécialisation ou son représentant

L'enseignant juge le mémoire de qualité suffisante pour être diffusé (immédiatement ou à la fin de la période de confidentialité)

Oui Non

Si non, seul le titre du mémoire apparaîtra dans les bases de données.


Si oui, il autorise

la diffusion papier du mémoire uniquement(4)

la diffusion papier du mémoire et la diffusion électronique du résumé

la diffusion papier et électronique du mémoire

Date et signature de l'enseignant :

26 octobre 2021 

Année universitaire : 2020 - 2021

Spécialité : Ingénieur agronome

Spécialisation (et option éventuelle) :

Sciences Halieutiques et Aquicoles (option :
Aquaculture)

Mémoire de fin d'études

- d'ingénieur d'AGROCAMPUS OUEST (École nationale supérieure des sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage), école interne de L'institut Agro (Institut national d'enseignement supérieur pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement)
- de master d'AGROCAMPUS OUEST (École nationale supérieure des sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage), école interne de L'institut Agro (Institut national d'enseignement supérieur pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement)
- de Montpellier SupAgro (étudiant arrivé en M2)
- d'un autre établissement (étudiant arrivé en M2)

Étude de faisabilité d'un élevage du ver tube *Diopatra biscayensis*

Par Laura VASSEUR



Soutenu à Rennes

le 14 septembre 2021

Devant le jury composé de :

Président : Hervé Le Bris

Autres membres du jury : Nicolas Desroy

Maître de stage : Cédric Hennache

Enseignant référent : Grégory Raymond

Les analyses et les conclusions de ce travail d'étudiant n'engagent que la responsabilité de son auteur et non celle d'AGROCAMPUS OUEST

Ce document est soumis aux conditions d'utilisation

«Paternité-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de Modification 4.0 France»

REMERCIEMENTS

Tout d'abord je tiens à remercier toutes les personnes qui m'ont aidé au cours de mon stage que ce soit lors de la collecte d'informations sur l'espèce, la mise en place des installations pour les expérimentations mais aussi lors de l'analyse des résultats.

Je pense à mon maître de stage, Cédric Hennache, qui a su m'aiguiller tout au long du projet par son encadrement et ses conseils quotidiens. Grâce à lui j'ai pu acquérir des compétences professionnelles qui me resserviront à l'avenir.

Je souhaite remercier Pierrick Barbier pour sa disponibilité et son écoute.

Je tiens à remercier le duo de choc, Paul et Gaël, car sans eux je n'aurais pas pu mettre en place la moitié des expérimentations.

Je remercie également Fabien Aubert, ingénieur d'étude en taxonomie benthique, Stanislas Dubois, chercheur à l'IFREMER, et Andrés Arias, Chercheur espagnol à l'Université d'Oviedo, pour leur partage de savoir sur l'espèce *Diopatra biscayensis*.

Merci à Vincent Gayet, professeur d'aquaculture au lycée de Bourcefranc-le-Chapus, pour m'avoir permis d'utiliser les nouvelles infrastructures de l'exploitation de l'établissement.

Je voudrais remercier aussi l'ensemble de l'équipe du CAPENA pour leur accueil et leur partage de connaissances. Tout comme les pêcheurs à pied qui ont pris le temps de répondre à mes nombreuses questions.

Je pense à ma famille, mes parents qui m'ont toujours soutenu dans tous mes projets. La réussite de mes études est en grande partie grâce à eux.

TABLE DES MATIERES

| | |
|--|----|
| Remerciements..... | |
| Lexique | |
| Liste des illustrations | |
| 1 Introduction..... | 1 |
| 1.1 Contextualisation | 1 |
| 1.2 Présentation de la structure d'accueil et du projet MEDIHOM..... | 1 |
| 1.3 État des lieux des élevages d'annélides dans le monde..... | 2 |
| 1.4 Quels sont les débouchés et les marchés actuels ? | 3 |
| 2 Présentation de l'espèce <i>Diopatra biscayensis</i> | 4 |
| 2.1 Taxonomie et identification de l'espèce..... | 4 |
| 2.2 La reproduction en milieu naturel | 5 |
| 2.2.1 Espèce hermaphrodite simultanée protandre..... | 5 |
| 2.2.2 Les différents types de reproduction du genre <i>Diopatra</i> | 6 |
| 2.2.3 Périodicité de reproduction | 7 |
| 2.2.4 Production des gamètes et sacs gélatineux | 7 |
| 2.3 Le développement larvaire et le stade juvénile | 9 |
| 2.4 L'espèce <i>Diopatra biscayensis</i> dans son milieu naturel..... | 10 |
| 2.4.1 Répartition spatiale de l'espèce <i>Diopatra biscayensis</i> | 10 |
| 2.4.2 Le régime alimentaire..... | 11 |
| 2.4.3 Processus de régénération des parties amputées..... | 11 |
| 2.4.4 Remarques supplémentaires sur le genre <i>Diopatra</i> | 12 |
| 2.5 Techniques de pêche et sites exploités | 12 |
| 3 Maîtrise du cycle de reproduction de l'espèce <i>Diopatra biscayensis</i> | 14 |
| 3.1 Objectif | 14 |
| 3.2 Matériels et Méthodes | 14 |
| 3.2.1 Suivi de la maturation ovocytaire des vers tubes provenant du milieu naturel..... | 14 |
| 3.2.2 Induction de la maturation ovocytaire et de la ponte <i>in vitro</i> en réponse à la température 15 | |
| 3.2.3 Méthode pour étudier la densité des individus sur la maturation ovocytaire..... | 16 |
| 3.2.4 Reproduction artificielle..... | 16 |
| 3.2.5 Analyses statistiques | 17 |
| 3.3 Résultats | 17 |
| 3.3.1 Suivi de la maturation ovocytaire des individus provenant du milieu naturel..... | 17 |
| 3.3.2 Induction de la maturation ovocytaire en aquarium en réponse à la température..... | 20 |

| | | |
|-------|--|----|
| 3.3.3 | Test de reproduction artificielle | 23 |
| 3.4 | Discussion | 24 |
| 3.4.1 | Suivi de la maturation ovocytaire des vers tubes <i>D.biscayensis</i> sur le site de Saint-Trojan-les-Bains..... | 24 |
| 3.4.2 | Test de l'accélération de la maturation ovocytaire en milieu contrôlé | 24 |
| 3.4.3 | Test de la reproduction artificielle..... | 25 |
| 3.5 | Conclusions..... | 25 |
| 4 | Prémices de l'optimisation des conditions d'élevage..... | 26 |
| 4.1 | Influence de l'oxygénation du sédiment sur l'élevage de vers tubes..... | 26 |
| 4.2 | Matériel et Méthodes..... | 27 |
| 4.3 | Résultats..... | 28 |
| 4.4 | Discussion | 28 |
| 4.4.1 | Un gain de poids plus élevé pour <i>Diopatra biscayensis</i> avec un sédiment oxygéné..... | 28 |
| 4.4.2 | Le choix des individus étudiés | 29 |
| 4.4.3 | Autres observations rencontrées au cours de l'expérience | 29 |
| 4.5 | Conclusion | 30 |
| 5 | Test d'élevage en claire ostréicole | 30 |
| 5.1 | Intérêt d'un élevage en marais | 30 |
| 5.2 | Matériel et Méthodes..... | 30 |
| 5.3 | Résultats..... | 32 |
| 5.4 | Discussion | 32 |
| 5.5 | Conclusion | 33 |
| 6 | Conclusion générale et perspectives | 33 |

LEXIQUE

- **Huître chambrée** : Se dit d'une huître dont la coquille présente intérieurement une ou plusieurs poches fragiles renfermant un liquide d'odeur parfois nauséabonde.
- **Lecithotrophie** : Mode de développement larvaire où le développement du jeune dépend du jaune d'œuf.
- **Parapodes modifiés** : Premiers parapodes sur la partie antérieure, portant des cires.
- **Sétigère** : Segment d'un annélide polychète qui porte des soies, des poils raides.
- **Vénériculteur** : Culture de mollusques bivalves de la famille des *Veneridae*, les vénéroïdes (les palourdes, les praires...).

LISTE DES ILLUSTRATIONS

| | |
|---|----|
| Tableau 1. Tableau récapitulatif des caractéristiques des quatre types de reproduction du genre <i>Diopatra</i> | 6 |
| Tableau 2. Nombre d'ovocytes par classe de taille obtenus après une et deux semaines (T1 et T2 respectivement) d'expérimentation pour la modalité « Augmentation progressive de température » (N_{aug}) et « Choc thermique » (N_{choc})..... | 21 |
| Tableau 3 Résumé du test du χ^2 pour comparer la fréquence des classes de diamètres entre les deux conditions en fonction des temps de prélèvements | 23 |
| Figure 1. Photographie des bassins de grossissement de l'entreprise australienne Aquabait..... | 2 |
| Figure 2. Graphique représentant l'évolution des captures de vers tubes, du nombre de pêcheurs actifs et de licences « appât » délivrées dans le département de Charente-Maritime entre 2012 et 2020 (CDPMEM 17)..... | 3 |
| Figure 3. Classification de l'espèce d'intérêt <i>Diopatra biscayensis</i> | 4 |
| Figure 4. Comparaison des deux espèces de <i>Diopatra</i> avec des images effectuées au microscope électronique..... | 4 |
| Figure 5. Analyse phylogénétique des espèces du genre <i>Diopatra</i> en fonction des séquences qui codent l'ARN ribosomal 16S et le cytochrome oxydase I (COI). | 5 |
| Figure 6. Pourcentage de distribution des tailles du 10 ^{ème} sétigère des individus hermaphrodites et de mâles de <i>D.biscayensis</i> provenant de l'estuaire San Vicente de la Barquera lors de la période de reproduction | 5 |
| Figure 7. Comparaison des trois étapes du cycle de reproduction annuel des espèces <i>D.biscayensis</i> et <i>D.neapolitana</i> sur les côtes nord espagnoles | 7 |
| Figure 8. Ovocytes présents dans le fluide cœlomique de l'espèce <i>Diopatra biscayensis</i> | 8 |
| Figure 9. Partie antérieure du tube de l'espèce <i>Diopatra biscayensis</i> dans l'estuaire San Vicente de la Barquera sur lequel sont attachés des vers juvéniles..... | 8 |
| Figure 10. Description des stades larvaires de <i>Diopatra neapolitana</i> | 9 |
| Figure 11. Schéma récapitulatif du cycle de vie de l'espèce <i>Diopatra biscayensis</i> | 9 |
| Figure 12. Carte des mouvements de population de l'espèce de ver tube <i>Diopatra biscayensis</i> | 10 |
| Figure 13. Pourcentage de survie de l'espèce <i>D.neapolitana</i> à chaque niveau d'amputation (Pires et al., 2012a) | 11 |
| Figure 14. Photographies de l'espèce <i>D.biscayensis</i> à différents stades de régénération..... | 12 |

| | |
|---|----|
| Figure 17. Aquariums utilisés pour les différentes expérimentations | 15 |
| Figure 18. Photographies de l'installation de l'expérimentation de reproduction artificielle pour l'espèce <i>Diopatra biscayensis</i> au lycée de la mer de Bourcefranc-le-Chapus..... | 17 |
| Figure 19. Moyenne des diamètres ovocytaires de <i>D.biscayensis</i> par mois pendant la période d'étude au niveau de la plage du Soleil, Saint-Trojan-les-Bains | 18 |
| Figure 20. Histogrammes des fréquences de classes de diamètres ovocytaires de <i>D.biscayensis</i> provenant de la plage du Soleil, Saint-Trojan-les-Bains, de Mars à Aout 2021..... | 19 |
| Figure 21. Histogrammes des fréquences de classes de diamètres ovocytaires de l'espèce <i>D.biscayensis</i> par temps de prélèvement | 20 |
| Figure 22. Histogrammes des fréquences de classes de diamètres ovocytaires de l'espèce <i>D.biscayensis</i> par temps de prélèvement | 22 |
| Figure 23. Histogrammes des proportions de diamètres ovocytaires par classe de taille en fonction des trois individus étudiés | 23 |
| Figure 24. Photographie des installations de l'entreprise Hemarina sur l'île de Noirmoutier..... | 26 |
| Figure 25. Photographie de l'installation expérimentale..... | 27 |
| Figure 26. Poids moyen individuel et croissance de <i>Diopatra biscayensis</i> pour les deux traitements tous les mois | 28 |
| Figure 27. Photographie de la claire du CAPENA avec les quatre paniers enfouis dans le sédiment vaseux | 31 |
| Figure 28. Mesure de la croissance de <i>Diopatra biscayensis</i> toutes les trois semaines | 32 |

1 INTRODUCTION

1.1 CONTEXTUALISATION

Le ver tube est un organisme « ingénieur » de son écosystème du fait de son influence sur la structure et l'organisation de son environnement (Dubois, 2014). La profonde implantation de son tube permet de maintenir le sédiment dans des conditions de forte densité d'individus. D'autres parts, la particularité d'extension du tube hors du sédiment offre un support de colonisation pour les algues (Thomsen and McGlathery, 2005) mais aussi pour le recrutement de larves d'autres espèces sous forme de sac gélatineux (ponte de gastéropodes), tout en permettant l'installation et le maintien de la méiofaune (copépodes) et de la macrofaune (polychètes, amphipodes). Du fait de ce mode de vie, les vers tubicoles (nommés « vers tubes » dans la suite du manuscrit) sont sédentaires, on les retrouve dans des substrats très hétérogènes, aussi bien sableux que vaseux. Son tube souple est le résultat d'une sécrétion de mucus où s'agrège principalement du sable mais aussi des morceaux de coquilles avoisinants. L'espèce de ver tube majoritaire en Charente-Maritime est *Diopatra biscayensis* et on trouve également l'espèce *Diopatra neapolitana* qui est moins présente. Le département de Charente-Maritime et plus particulièrement la plage de Gauseau dans le sud-ouest de l'île d'Oléron est connue pour avoir la densité de ver tube la plus importante de France (Woodin et al., 2014). Aujourd'hui, le ver tube est principalement connu en France comme appât de pêche de loisir. En Charente-Maritime, cette espèce fait l'objet d'une pêche professionnelle pratiquée par seulement quelques pêcheurs à pied. Pourtant la pêche de loisir reste une activité très pratiquée dans ce département et par conséquent, la demande en appât de pêche reste importante. Un élevage de ver tube est donc apparu comme une alternative durable à la pêche, pour palier à la demande, mais aussi pour avoir un approvisionnement régulier tout au long de l'année. Les claires ostréicoles, anciens marais salants, sont spécifiques à la Charente-Maritime, les professionnels y affinent leurs huîtres avant leur commercialisation. Ces marais sont également exploités par des éleveurs de palourde et de crevette impériale (*Peneus japonicus*). L'élevage des vers tubes en claires est une piste qui reste à explorer.

L'objectif de ce projet est d'étudier la possibilité d'élever l'espèce de ver tube *Diopatra biscayensis* en travaillant sur différents aspects de son cycle de vie dans différentes conditions. **L'axe principal de ce travail concerne la maîtrise de sa reproduction**, les expérimentations se sont donc concentrées sur **la maturation ovocytaire et l'induction de la ponte**. Le contrôle de cette étape est indispensable pour créer un élevage pérenne sans dépendre du milieu naturel. En parallèle, **la croissance de ces vers tubes a été étudié en milieu contrôlé tout en optimisant les conditions d'élevage**. Le dernier axe a été de **tester le grossissement de ces vers tubes en claire ostréicole**. L'objectif final de ce projet est de proposer une nouvelle voie de diversification de production aux professionnels charentais possédant des claires ostréicoles. C'est pourquoi nous nous sommes interrogés sur la faisabilité d'un tel élevage aussi bien dans les marais de Charente-Maritime qu'en bassins hors-sol.

1.2 PRESENTATION DE LA STRUCTURE D'ACCUEIL ET DU PROJET MEDIHOM

Le CAPENA ou Centre pour l'Aquaculture, la Pêche et l'Environnement de Nouvelle-Aquitaine est une association définie par la loi de 1901. Cette structure a été créée au 1^{er} janvier 2021. Elle résulte de la fusion du Centre Régional d'Expérimentation et d'Application Aquacole (CREAA) situé sur l'île d'Oléron, et de l'Institut des Milieux Aquatiques (IMA) à Bayonne. L'objectif de cette association est de donner une expertise technique et scientifique aux acteurs des filières pêche, aquaculture et cultures marines que ce soit pour des structures

publiques ou privées. Sa gouvernance est partagée en différents collèges qui regroupent les organismes professionnels, collectivités territoriales et établissements publics, organismes d'enseignement et de recherche, personnes qualifiées et par un bureau complet. Le budget global pour l'année 2021 avoisine les 1,7 millions d'euros. Le financement provient principalement de subventions de la Région Nouvelle-Aquitaine, des collectivités locales et de l'Europe. Il est complété par une part de prestations et de cotisations.

Ce projet d'élevage de vers tubes s'intègre dans le projet MEDIHOM, pour Mise en place d'un Elevage de *Diopatra* et d'*Holothuria* en Marais ostréicole. L'autre partie de ce projet s'intéresse à la survie en claire de deux espèces d'holothuries : *Holothuria tubulosa* et *Holothuria forskalis* en co-culture avec des huîtres. L'objectif de ce projet pilote est de suivre le taux de survie en claire ostréicole afin d'explorer les critères d'élevage optimaux de ces espèces.

1.3 ÉTAT DES LIEUX DES ELEVAGES D'ANNELIDES DANS LE MONDE

La production de vers marins s'est développée et démocratisée depuis plusieurs années avec des débouchés très variés. Le meilleur exemple de réussite au niveau national pour ce nouveau type d'élevage est l'entreprise Hemarina. Elle produit l'espèce *Arenicola hemarina* pour récolter son hémoglobine qui a quarante fois plus d'affinité avec l'oxygène que l'hémoglobine humaine (Rousselot et al., 2006). Le principal débouché de cette nouvelle molécule est la biopharmaceutique, particulièrement dans le cadre des transplantations et des greffes. En France, il n'existe pas d'élevage de vers tubes. Il est exclusivement pêché sur l'estran par des pêcheurs à pied professionnels et par des pêcheurs de loisir. En Sardaigne, une expérimentation scientifique a été menée sur l'espèce de vers tubes *Diopatra neapolitana* dans la lagune de Cagliari au début des années 2000. La première phase était d'étudier la survie et le grossissement des vers dans un circuit ouvert avec des densités et une alimentation différente. Puis dans un second temps, les vers survivant à cette première phase ont été transférés dans la lagune pour étudier leur croissance dans des conditions semi-naturelles (De Murtas and Sini, 2003). Malgré des résultats encourageants pour le développement de cette pratique, les pêcheurs professionnels italiens n'ont pas voulu persévérer dans cette nouvelle voie qui était trop contraignante selon eux. La seule entreprise connue qui produit des vers tubes est australienne et il s'agit d'Aquabait. Située sur la côte est, au nord de Sydney, cette entreprise produit l'espèce locale *Diopatra aciculata* depuis 1996. Elle réalise l'étape de grossissement dans de nombreux bassins en hors-sol sur leur site de production (Figure 1).



Figure 1. Photographie des bassins de grossissement de l'entreprise australienne Aquabait (Facebook page publique de l'entreprise)

Dans le cadre de ce projet, nous avons rencontré plusieurs pêcheurs à pied professionnels afin d'avoir leur retour d'expérience sur la pratique de cette pêche. A cette occasion, il est apparu que certains d'entre eux avaient déjà réalisé des essais de stabulation et de grossissement dans des bassins hors-sol et dans des claires. L'un d'entre eux a testé différentes techniques de stabulation des vers dans les claires afin de les avoir directement à disposition et échelonner ses ventes. Il a réalisé différents essais comme de les maintenir dans des cagettes avec et sans sédiment, avec et sans couvercle pour éviter la prédation... Néanmoins cela lui demandait beaucoup de travail en plus des marées de récolte, il n'a pas continué ces essais. Un autre professionnel, a essayé de les maintenir dans des bacs remplis de sédiment en système clos dans son garage avec un changement d'eau régulier. Pour suivre la croissance de ces vers tubes, il regardait l'évolution de la partie antérieure régénérée sur une période de trois mois. Il a dû arrêter ses essais par manque de matériel et de temps.

1.4 QUELS SONT LES DEBOUCHES ET LES MARCHES ACTUELS ?

Le ver tube est principalement connu en France comme un appât de pêche de loisir, pour sa polyvalence et sa forte appétence pour bon nombre de poissons marins comme le bar (*Dicentrarchus labrax*). Cela fait de lui un ver très apprécié et vendu à prix fort dans les magasins spécialisés ou dans les grandes enseignes de sport telle que Décathlon. Les prix varient en fonction de l'acheteur, pour une boîte de dix vers tubes le prix d'achat est de 3,20 € pour les grossistes et de 4,20 € pour les magasins. Selon un ancien pêcheur à pied, le prix d'achat pour les magasins spécialisés a presque doublé depuis 2009. Malgré cette valeur ajoutée, seulement quatre pêcheurs à pied professionnels sont détenteurs d'une licence appât (campagne 2021-2022) et seulement deux sont actifs. Cette licence est délivrée par le Comité Départemental des Pêches Maritimes et des Élevages Marins de Charente-Maritime (CDPMEM 17) et leur permet d'exploiter cette ressource. Il s'agit d'une licence non contingentée délivrée moyennant une cotisation annuelle de 100€. Depuis la campagne 2012-2013, le nombre de vers pêchés n'a cessé de diminuer passant de 325 000 vers tubes à 125 000 pour 2017-2018. Comme on peut le voir sur la figure 2, le nombre de vers pêchés s'est stabilisé depuis cette période, avec un nombre de pêcheurs actifs relativement stable. Néanmoins il est intéressant de noter que malgré la hausse importante du nombre de licences délivrées (6 pour la campagne 2016-2017 à 12 pour la campagne 2018-2019) le nombre de pêcheurs actifs est resté stable comme dit précédemment. Cette licence n'attire que très peu les pêcheurs professionnels et ceci pour différentes raisons : un gisement moins rentable dans certains secteurs (sites des plages des galons d'or et ronce-les-bains), une activité trop physique qui demande beaucoup d'investissement personnel, fermeture de plus en plus de magasins spécialisés...

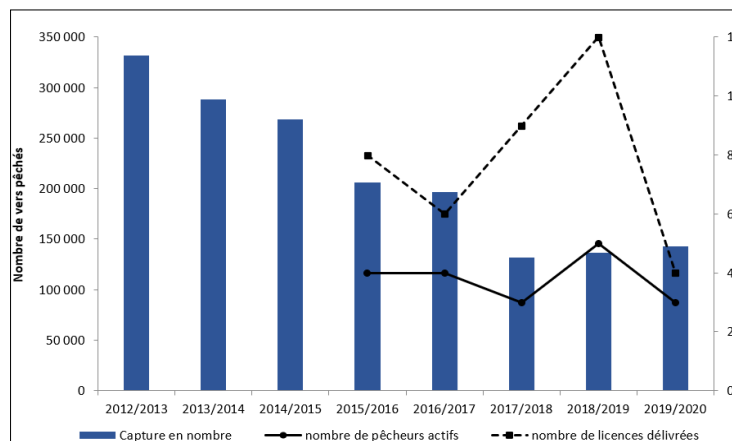


Figure 2. Graphique représentant l'évolution des captures de vers tubes, du nombre de pêcheurs actifs et de licences « appât » délivrées dans le département de Charente-Maritime entre 2012 et 2020 (CDPMEM 17)

2 PRÉSENTATION DE L'ESPÈCE *DIOPATRA BISCAYENSIS*

2.1 TAXONOMIE ET IDENTIFICATION DE L'ESPECE

L'espèce *Diopatra biscayensis* fait partie de l'embranchement des annélides et de la classe des polychètes (Figure 3). Elle a été identifiée récemment en 2012 :

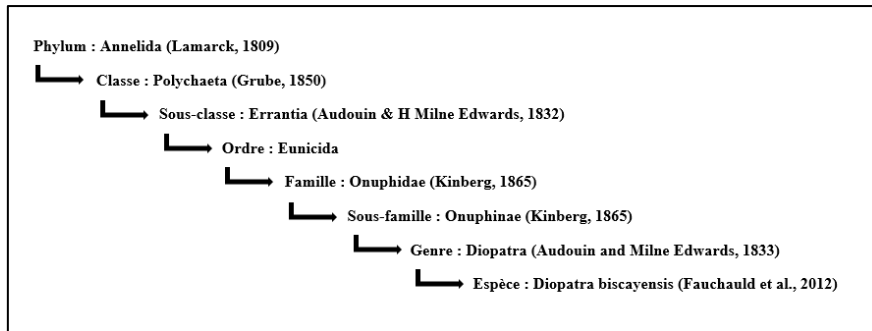


Figure 3. Classification de l'espèce d'intérêt *Diopatra biscayensis* (Laura Vasseur, CAPENA d'après World Register of Marine Species)

Du fait de sa forte ressemblance morphologique avec l'espèce *Diopatra neapolitana* (Delle Chiaje, 1841), cette espèce a été décrite assez tardivement par Falchaud et al. (2012). Cette découverte s'est déroulée lors d'identification d'individus provenant du site de Tharon-plage, dans le département de la Loire Atlantique (44) en France. Un article a référencé des individus identifiés comme l'espèce *D.neapolitana* dits « différents des vrais » mais sans les identifier comme nouvelle espèce (Lo Bianco, 1899). Le critère d'identification qui fait l'unanimité chez les taxonomistes et qui a été choisi pour différencier ces deux espèces est le nombre de lobes chaetaux sur les premiers parapodes modifiés. Si l'individu possède deux lobes pré et post-chaetaux, alors il s'agit de l'espèce *D.biscayensis*, comme on peut le voir sur la figure 4, alors que l'espèce *Diopatra neapolitana* ne possède qu'un lobe post-chaetal.

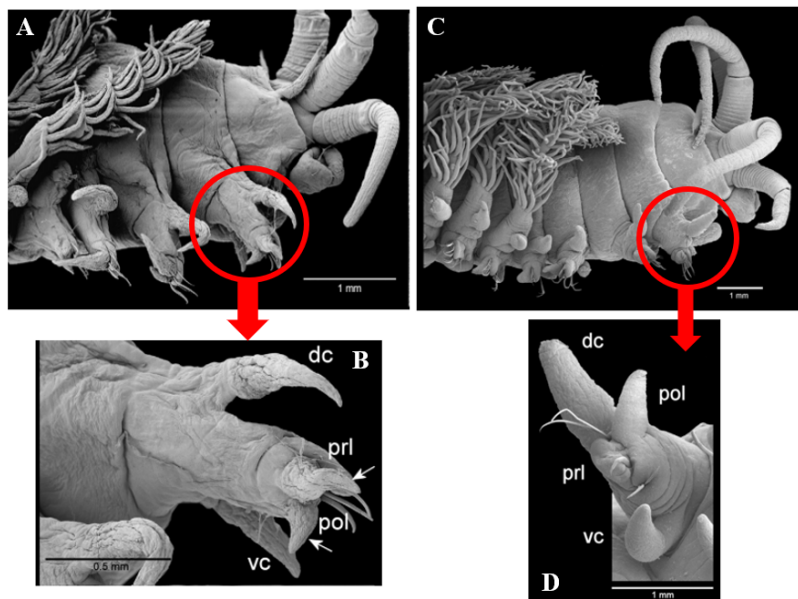


Figure 4. Comparaison des deux espèces de *Diopatra* avec des images effectuées au microscope électronique. A -Vue latérale de l'espèce *Diopatra biscayensis* (Arias and Paxton, 2015). B – Détail du premier parapode modifié de l'espèce *Diopatra biscayensis* (Arias and Paxton, 2015). C – Vue latérale de l'espèce *Diopatra neapolitana* (Arias et al., 2016). D – Détail du premier parapode modifié de l'espèce *Diopatra neapolitana* (Arias et al., 2016). (dc) dorsal cirrus ; (prl) prechaetal lobe ; (pol) postchaetal lobe ; (vc) ventral cirrus.

L'espèce la plus proche génétiquement de *Diopatra biscayensis* est *Diopatra marocensis* comme l'a démontré l'analyse phylogénétique représentée sur la figure ci-dessous (Figure 5).

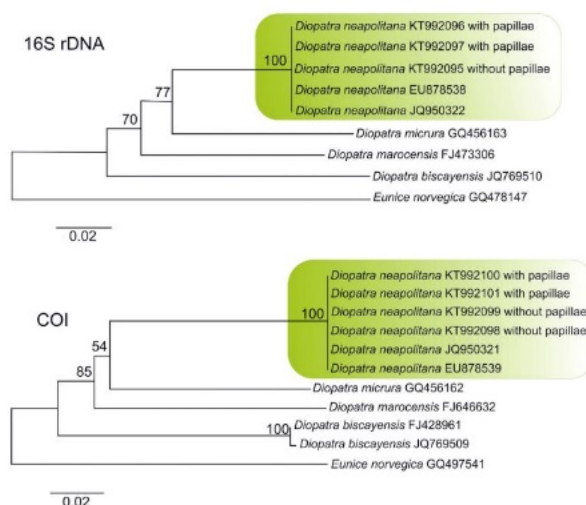


Figure 5. Analyse phylogénétique des espèces du genre *Diopatra* en fonction des séquences qui codent l'ARN ribosomal 16S et le cytochrome oxydase I (COI) (Arias et al., 2016).

2.2 LA REPRODUCTION EN MILIEU NATUREL

2.2.1 Espèce hermaphrodite simultanée protandre

L'espèce *D. biscayensis* est un ver hermaphrodite simultané protandre (Arias and Paxton, 2015). Le ver tube passe par un jeune stade uniquement mâle puis hermaphrodite. Les individus deviennent progressivement hermaphrodites lorsque leur diamètre augmente (Figure 6).

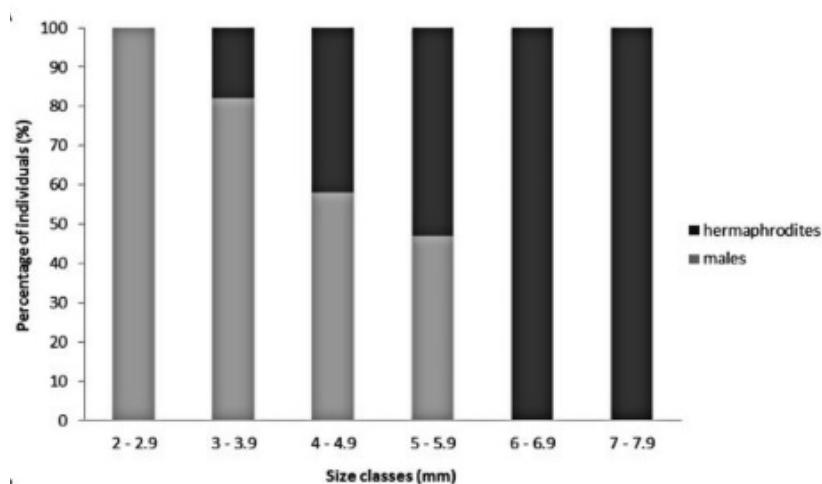


Figure 6. Pourcentage de distribution des tailles du 10^{ème} stégère des individus hermaphrodites et de mâles de *D. biscayensis* provenant de l'estuaire San Vicente de la Barquera lors de la période de reproduction (Arias and Paxton, 2015).

La stratégie de reproduction de l'espèce *D. biscayensis* n'est pas décrite dans la littérature. On sait que la ponte est sous forme de sac gélatineux mais le mécanisme précis, notamment l'origine du sperme, n'est pas connu. La production d'ovocytes est plus coûteuse en énergie que celle de sperme ce qui explique que ce soient les vers les plus gros qui soient hermaphrodites. D'autres mécanismes existent chez les polychètes pour optimiser les chances d'accouplement. Dans certains cas, la femelle adapte la ponte de ses ovocytes matures en fonction de son partenaire (jeune mâle, mâle adolescent ou hermaphrodite simultané) (Akesson, 1973 ; Sella, 1988). De la même façon, le ver *Ophryotrocha gracilis* alterne les rôles en se

mettant par paire (Sella et al., 1997). Cela réduit la compétition entre mâles puisque certaines espèces jouent sur une surproduction de sperme pour échapper à cette compétition (Premoli and Sella, 1995).

2.2.2 Les différents types de reproduction du genre *Diopatra*

Les annélides sont particulièrement vulnérables à la prédation du fait de l'absence de moyen de protection. Leur succès de survie et de développement vient de leur grand éventail de mode de reproduction (Pandian, 2019). Selon Paxton (1993), les espèces du genre *Diopatra* s'organisent en quatre groupes selon leur type de développement :

- Le type I correspond à un développement larvaire dans le tube parental jusqu'à atteindre le stade de 20-30 sétigères. Il s'agit de vers qui sont hermaphrodites simultanés. L'espèce qui est le meilleur exemple pour ce groupe est *Diopatra marocensis* décrit par Pires et al. (2012).
- Le type II est basé sur peu d'informations mais il semblerait que ce soit un développement direct dans un cocon. Néanmoins, Arias et Paxton (2015) pose l'hypothèse que c'est probablement des vers du type I.
- **Le type III** est une ponte sous forme de sac gélatineux attachée au tube parental. Les vers sont des hermaphrodites simultanés avec un stade de protandrie. On retrouve dans ce groupe l'espèce d'intérêt *Diopatra biscayensis*.
- Le type IV correspond à des espèces qui expulsent des gamètes en pleine eau. L'espèce *Diopatra neapolitana* est une espèce récemment définie comme hermaphrodite simultané avec un stade de protandrie (Arias et al., 2016).

Tous les types de reproduction sont décrits dans l'article Arias and Paxton (2015) dans le tableau 1 ci-dessous.

Tableau 1. Tableau récapitulatif des caractéristiques des quatre types de reproduction du genre *Diopatra*, le cadre rouge correspond au type de reproduction de *Diopatra biscayensis* (Arias and Paxton, 2015)

| Type of reproduction | Species | Maximum width of adult (mm) | Egg size (µm) | Brood size | Sexuality | Sperm type | Development | Time spent free in watermass | Reference |
|---|---------------------------------|-----------------------------|---------------|------------------|--|---------------|-----------------------------|---|--|
| I. Brooding in parental tube | <i>Diopatra marocensis</i> | 4.8 | 600 | 200 | Simultaneous hermaphrodite | Ent-aquasperm | Direct | None | Arias et al., 2013 |
| | 8 other <i>Diopatra</i> species | 5.7 | 600 –1400 | Up to 300 | ? | ? | Direct | None | Paxton 1993; Pires et al., 2012c |
| II. Direct development in cocoon (based on insufficient information, probably same as type I) | <i>Diopatra</i> sp. | ? | ? | ? | ? | ? | Direct | None | Day, 1960; Paxton, 1993; Pires et al., 2012c |
| III. Brooding in gelatinous masses or sacs attached to parental tube | <i>Diopatra biscayensis</i> | 5.2 | 260 | Thousands | Simultaneous hermaphrodite with previous protandrous phase | Ect-aquasperm | Lecithotrophic trochophores | <1 day as metatrochophore before settling | Present study |
| | 2 other <i>Diopatra</i> species | 10 | 280 –350 | 250 to thousands | ? | ? | Direct | None | Paxton, 1993; Pires et al., 2012c |
| IV. Broadcast spawning | <i>Diopatra neapolitana</i> | 13 | 200 | Thousands | Dioecious | Ect-aquasperm | Lecithotrophic trochophores | 4–5 days | Cazaux, 1970; Bhaud and Cazaux, 1987; Conti and Massa, 1998; Conti et al., 2005; Pires et al., 2012c |
| | 6 other <i>Diopatra</i> species | 13 | 200 –260 | Thousands | ? | ? | Lecithotrophic trochophores | ? | Paxton, 1993; Pires et al., 2012c |

La reproduction par sacs gélatineux est répandue à raison de 13% d'après une approche holistique de la classe des polychètes par Wilson (1991) (Pandian, 2019).

2.2.3 Périodicité de reproduction

Les périodes de reproduction varient en fonction des différentes espèces du genre *Diopatra* (Arias and Paxton, 2015; Pires et al., 2012c; Arias et al., 2016). Certaines espèces comme *Diopatra marocensis* pondent régulièrement tout au long de l'année, ce qui est caractérisé par une présence constante d'ovocytes (Pires et al., 2012c). A l'inverse, l'espèce *D. neapolitana* possède une longue période de reproduction de cinq mois, puis s'en suit une période de repos de deux mois (absence totale de gamètes mâles et femelles) (Arias et al., 2016). Cette observation est contredite par Pires et al. (2012b) et Dagli et al. (2005) qui ont démontré que l'espèce *D. neapolitana* avait une période de reproduction en continue. Toutefois les trois articles sont d'accord sur la période du pic de reproduction en été pour les espèces *D. biscayensis* et *D. neapolitana* (Figure 7).

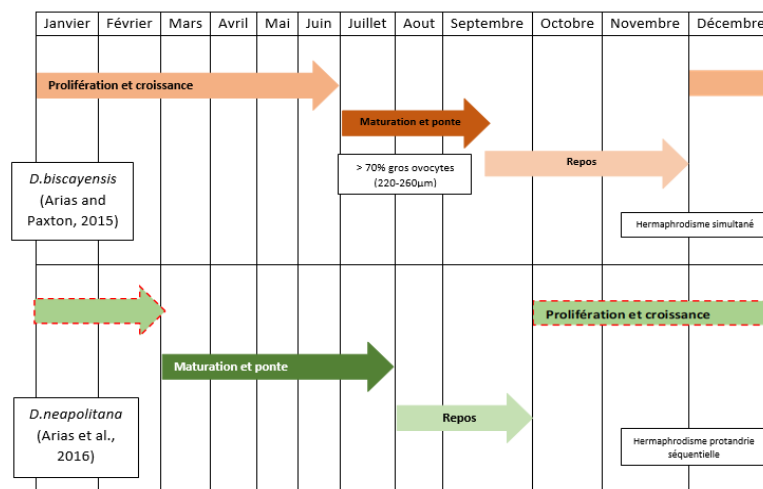


Figure 7. Comparaison des trois étapes du cycle de reproduction annuel des espèces *D. biscayensis* et *D. neapolitana* sur les côtes nord espagnoles (Laura Vasseur, CAPENA).

2.2.4 Production des gamètes et sacs gélatineux

L'espèce d'intérêt *D. biscayensis* fait partie de la reproduction de type III répertoriée par Paxton (1993). La période de reproduction pour cette espèce est caractérisée par une proportion supérieure à 70% d'ovocytes présents dans le fluide cœlomique. Il s'agit d'ovocytes de diamètre compris entre 220 et 260 µm. En ce qui concerne la production de sperme, elle peut être quantifiée par la quantité de fluide blanchâtre présent dans les vers. En effet, plus on se rapproche de la période estivale de reproduction, plus on retrouve une proportion importante de vers tubes produisant ce fluide. Les échanges avec les pêcheurs à pied professionnels ont confirmé que les vers sont « en lait » à cette période et se conservent mal dès les mois d'avril et mai, ce qui ne facilite pas leur commercialisation.

La morphologie des gamètes femelles varie en fonction du stade de maturation. Un ovocyte non mature est caractéristique car il possède des cellules nourricières attachées à celui-ci, sous formes de deux fils transparents. Les ovocytes matures n'ont plus de cellules nourricières attachées. Néanmoins, un ovocyte dit mature n'est pas forcément fécondable car il doit atteindre une taille minimale de 220 µm. Lors de la réalisation des profils ovocytaires, de nombreux ovocytes matures ont été recensés avec une taille inférieure à 220 µm (Figure 8).

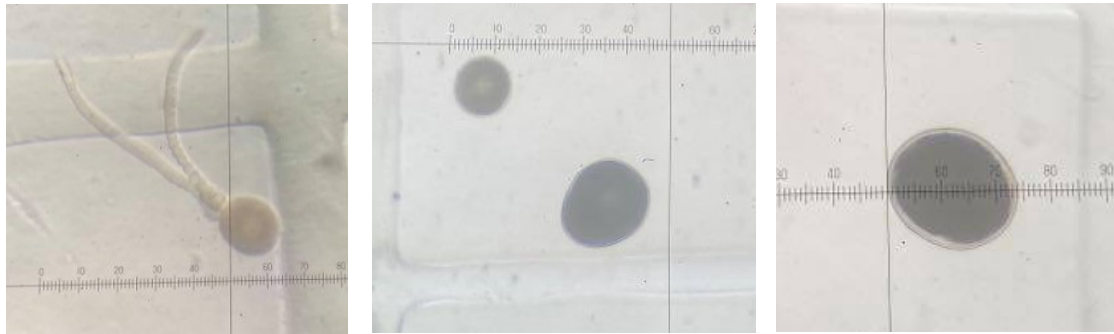


Figure 8. Ovocytes présents dans le fluide cœlomique de l'espèce *Diopatra biscayensis* (Laura Vasseur, CAPENA). Une graduation = 10µm. Gauche – Ovocyte non mature avec ses cellules nourricières. Centre – Ovocytes matures non fécondables. Droite – Ovocyte mature fécondable.

Bien que *D.biscayensis* fasse partie du type III de reproduction, aucun sac gélatineux n'a été trouvé sur le terrain en France pour cette espèce. En effet, les professionnels pêchant ce ver tube tout au long de l'année, ont été formels sur ce sujet. De plus, Andrés Arias (1^{er} auteur de l'article traitant de la biologie et la reproduction de *D.biscayensis*) a également précisé qu'il n'avait jamais vu de sacs gélatineux de vers tubes sur les côtes françaises. Néanmoins, les sacs gélatineux restent une méthode de reproduction répandue chez les polychètes comme il a été précisé précédemment. C'est la raison pour laquelle on peut en retrouver régulièrement en période estivale sur l'estran. De plus, ce type de reproduction limite le déplacement des larves pour que l'environnement extérieur reste approprié à leur implantation. Selon Woodin et al. (2014), les larves de l'espèce *D.biscayensis* ne dépassent pas les 50 km autour de leurs géniteurs.

Arias et Paxton (2015) ont démontré que les juvéniles mâles produisent plus de sperme que les vers hermaphrodites. Le sperme à l'origine de la fécondation semble donc provenir principalement des juvéniles mâles. En effet, la production d'ovocytes demande beaucoup plus d'énergie car ce sont des cellules plus grosses et plus complexes que les spermatozoïdes. L'hypothèse émise dans cet article est que la fécondation s'effectue grâce à des individus directement présents sur le tube (figure 9). Pour vérifier, il faudrait inspecter chaque tube où ont été retrouvés des sacs gélatineux pour y trouver d'éventuelles traces de tubes de juvéniles. L'autre technique possible pour valider cette hypothèse est de réaliser une analyse génétique pour voir les similarités.

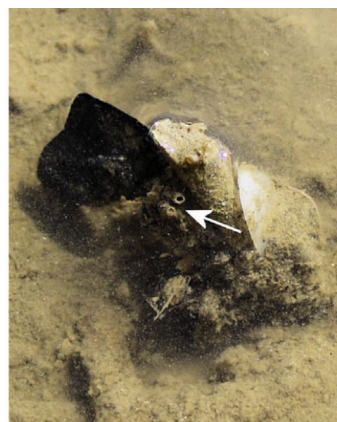


Figure 9. Partie antérieure du tube de l'espèce *Diopatra biscayensis* dans l'estuaire San Vicente de la Barquera sur lequel sont attachés des vers juvéniles (Arias and Paxton, 2015).

Des phénomènes d'autofécondation sont communs chez les spécimens de large diamètre dans des conditions d'isolement (Sella, 2006; Arias and Paxton, 2015).

2.3 LE DEVELOPPEMENT LARVAIRE ET LE STADE JUVENILE

Le développement larvaire de l'espèce *D. biscayensis* passe par différents stades larvaires. Quatre à six heures après la fécondation dans le sac gélatineux, il s'agit d'une larve au stade trochophore, qui possède un sac vitellin. A partir de 48h, le sac protecteur débute sa désintégration tout en gardant les larves au stade métatrochophore. Lorsque le sac est complètement détruit après trois jours, les larves deviennent planctoniques pour une durée de moins de 24h. A cette étape, le ver cherche à s'implanter et former son tube sur du sédiment propice à son développement (Arias and Paxton, 2015). En raison de la récente découverte de l'espèce, il n'existe pas dans la littérature de description morphologique précise des stades larvaires pour *D. biscayensis*. Néanmoins, les stades larvaires de l'espèce proche morphologiquement *D. neapolitana*, ont été décrit par Fauvel (1923) dans son livre « les polychètes errantes » (Figure 10).

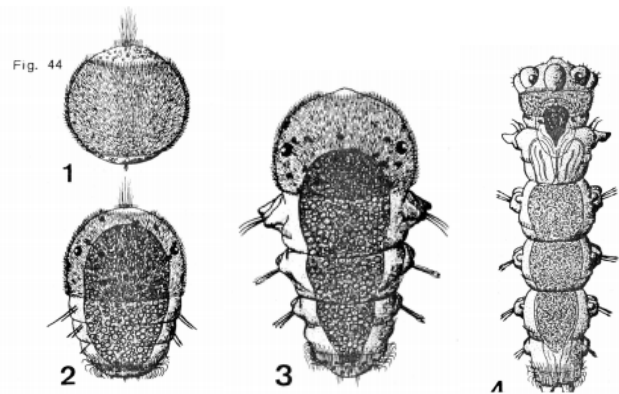


Figure 10. Description des stades larvaires de *Diopatra neapolitana*. 1-Protochophore (24h, L= 215 µm). 2-Métatrochophore (3 jours, L=240 µm). 3-Métatrochophore (4 jours, L= 390 µm). 4-Erpochaete (6 jours, L= 550 µm) (Fauvel, 1923)

Selon Woodin et al. (2014), les vers tubes d'un diamètre inférieur à 5 mm sont des jeunes dits de l'année. On peut trouver des individus hermaphrodites à des diamètres de 3 mm au minimum, mais à partir de 6 mm, les vers tubes le sont exclusivement (Figure 11).

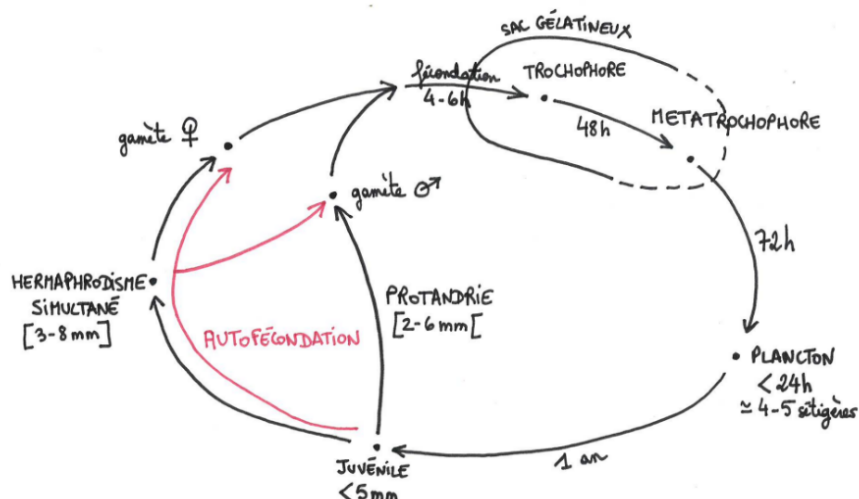


Figure 11. Schéma récapitulatif du cycle de vie de l'espèce *Diopatra biscayensis* (Laura Vasseur, CAPENA). Les valeurs indiquées en mm correspondent à la taille du diamètre au 10^{ème} sétigère de l'individu.

Notons que d'après les observations personnelles de Safarik et al. (2006), l'espérance de vie de l'espèce *Diopatra aciculata* élevée en Australie, peut atteindre les 6 ans. Les principales techniques de suivi de croissance des polychètes se basent sur le poids individuel, le nombre

total de sétigères et/ou le diamètre à un sétigère donné (Duchêne, 1982). Néanmoins ces techniques nécessitent de récolter et de ramener les individus pour les étudier en laboratoire. Un outil a été spécialement créé par Woodin et al. (2014) pour permettre la mesure *in situ* du diamètre interne de l'extrémité du tube. Il s'agit de deux cônes marqués par des anneaux indiquant différentes tailles de diamètre. Grâce à cet outil, une corrélation entre le diamètre du 10^{ème} sétigère et celui de l'ouverture des tubes a été mise en évidence. Nous avons pu nous procurer cet outil de mesure unique, mais suite à des tests sur des individus de diamètre supérieur à 5mm, aucune corrélation n'a été mise en évidence. Il n'y a donc pas eu de suite pour ce type de suivi (annexe 1).

2.4 L'ESPECE *DIOPATRA BISCAYENSIS* DANS SON MILIEU NATUREL

2.4.1 Répartition spatiale de l'espèce *Diopatra biscayensis*

L'espèce est recensée tout le long des côtes nord espagnoles, notamment près de la Baie de San Vicente et Santander. En ce qui concerne la population française de *D.biscayensis*, elle est concentrée sur la côte Atlantique : de la baie d'Arcachon jusqu'au sud Bretagne, au niveau de la trinité-sur-mer. Cette espèce a également été identifiée dans certaines localités du golfe normano-breton, notamment sur la plage de Sainte-Anne, alors que les températures ne sont normalement pas adéquates pour le développement de *D.biscayensis*. En effet, son cycle de reproduction dépend de la température qui ne doit pas être inférieure à 18°C sinon celui-ci n'est pas possible (Wethey and Woodin ,2008). L'analyse génétique de différentes populations a mis en évidence que la diversité génétique la plus importante est issue de la population située en Espagne. Ensuite, les transferts d'huîtres espagnoles vers Arcachon, ont permis à la population de vers tubes de s'étendre progressivement jusqu'à la limite sud de la Bretagne. La zone de la baie d'Arcachon possède une population génétique très différente qui peut être due à sa forte activité conchylicole et l'utilisation des vers tubes dans la pêche de loisir. Ensuite, les individus retrouvés à Saint-Anne en Normandie proviennent sûrement d'une introduction anthropique via le transport de matériel ostréicole et mytilicole (Figure 12). Cette implantation a probablement été facilitée par le réchauffement climatique pour que les eaux normandes soient plus accueillante pour le développement de cette espèce de ver tube (Galaska et al., 2021).

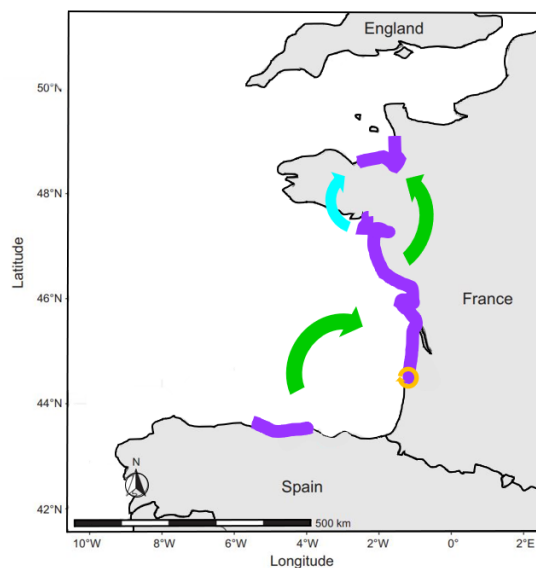


Figure 12. Carte des mouvements de population de l'espèce de ver tube *Diopatra biscayensis*. Violet – Zones où l'on peut retrouver cette espèce. Flèche verte – Déplacements via des transferts d'huîtres. Flèche bleue – Déplacement via du matériel mytilicole. Flèche orange – Introduction d'une population génétique variée via l'utilisation des appâts de pêche. (Laura Vasseur, CAPENA adaptée de Galaska et al., 2021)

2.4.2 Le régime alimentaire

Les annélides ont des régimes alimentaires qui varient en fonction des différentes familles. Le ver *Hediste diversicolor* est omnivore alors que *Pseudopolydora antennata* est un détritivore (Fauvel, 1923). En ce qui concerne le genre *Diopatra*, selon Leguerrier et al. (2004) le ver tube est un carnivore qui chasse des proies vivantes qui passent près de son tube. Néanmoins, peu de travaux se sont concentrés sur le régime alimentaire des vers *Diopatra*. Dans certains travaux, on trouve des expérimentations où ils sont nourris avec des morceaux d'algues (De Murtas and Sini, 2003). Du fait de la présence de deux mandibules puissantes dans la région buccale, cela laisse supposer que le ver tube a un comportement de prédation. Ces mandibules permettent d'attraper la proie puis de la tirer rapidement dans son tube tout en évitant de se faire lui-même prédater ou voler sa nourriture.

D'autre part, lors des expérimentations réalisées durant ce projet, des grains de sables provenant des aquariums où les vers étaient maintenus depuis plusieurs semaines ont été observés dans certains de leur tube digestif. Lors de ces expérimentations les individus n'étaient pas nourris. Ce comportement ressemble à celui du ver *Hediste diversicolor* décrit par Costa et al. (2006), où l'on retrouve un pourcentage non négligeable de sable dans son appareil digestif. En effet, il se nourrit des organismes (microalgues telles que les diatomées, méio et macrofaune) que l'on peut retrouver sur le substrat de la zone intertidale. Néanmoins, il s'agit d'individus provenant des bacs d'expérimentations et ce comportement n'a pas été vérifié dans le milieu naturel. Pour l'expérience en système clos, le choix de l'alimentation s'est porté sur la complémentarité de l'appétence des granulés (annexe 2) et de morceaux d'huîtres notamment pour son apport protéique. La fréquence de nourrissage et la quantité d'aliments a évolué en fonction du gain de masse des vers tubes (cf § 4.2).

Les vers tubes semblent donc avoir un comportement alimentaire que l'on peut qualifier d'opportuniste. Pour l'espèce *D. neapolitana*, la préférence se tourne vers les invertébrés comme d'autres polychètes et amphipodes, lorsque la nourriture est disponible. Dans le cas contraire, ils se nourrissent des débris proches de leur tube.

2.4.3 Processus de régénération des parties amputées

Les espèces du genre *Diopatra* n'ont pas toutes les mêmes capacités de régénération. La majorité des espèces étudiées peuvent régénérer leurs parties antérieures alors que d'autre non comme *D. aciculata*, *D. dentata* et *D. maculata*. En ce qui concerne la partie postérieure, la majorité des espèces peuvent la régénérer sauf les espèces *D. sugokai* et *D. tuberculantennata*

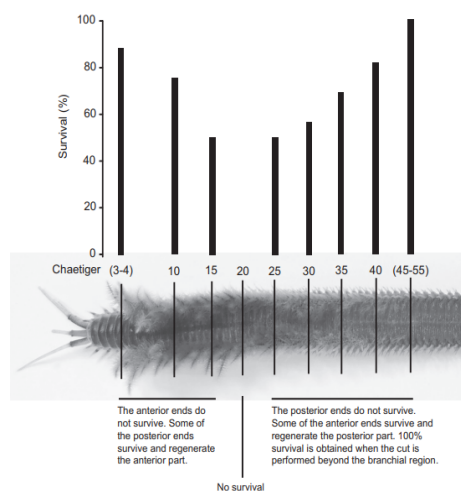


Figure 13. Pourcentage de survie de l'espèce *D. neapolitana* à chaque niveau d'amputation (Pires et al., 2012a)

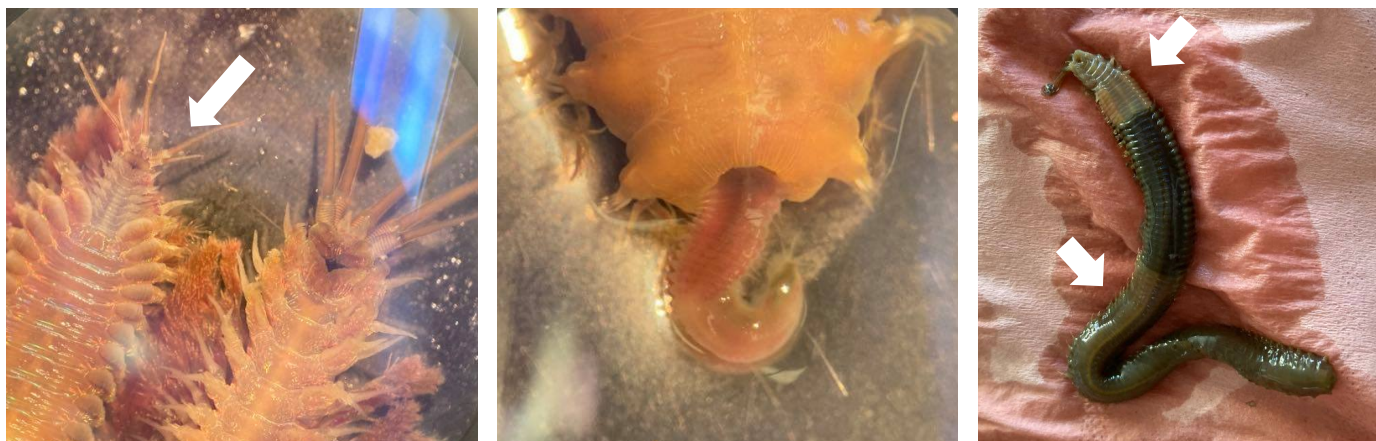


Figure 14. Photographies de l'espèce *D.biscayensis* à différents stades de régénération (Laura Vasseur, CAPENA). Gauche – Comparaison de deux parties antérieures dont l'une est en pleine régénération (flèche blanche). Centre – Partie postérieure en début de régénération. Droite – Individu avec des zones de différentes couleurs ce qui démontrent d'une régénération passée (flèches blanches).

(Pires et al., 2012a). Le pourcentage de survie a été étudié en fonction de la zone de section, sur l'espèce *Diopatra neapolitana*. Ils en ont conclu que plus la zone de section se situe proche du 20^{ème} sétigère, moins le ver tube a de chance de survivre (Pires et al., 2012a) (Figure 14). Dans cet article, l'espèce d'intérêt *Diopatra biscayensis* n'est pas mentionnée car elle n'a pas été encore décrite. Néanmoins Arias et Paxton (2015) ont remarqué des signes de régénération antérieure et postérieure sur 30% des spécimens prélevés dans le milieu naturel. Des observations similaires ont été faites dans le cadre de ce projet, avec des individus récoltés qui possédaient des marques évidentes de régénération (Figure 13). Cette caractéristique peut être intéressante dans le cadre d'un élevage puisqu'elle offre une forte robustesse à cette espèce et notamment lors des diverses manipulations.

2.4.4 Remarques supplémentaires sur le genre *Diopatra*

Le ver tube est un organisme dit sédentaire du fait de son tube implanté dans le sédiment. Néanmoins au cours de son cycle de vie, il est amené à changer de tube lorsqu'il grossit car il peut se retrouver à l'étroit en particulier durant les stades juvéniles.

En ce qui concerne la prédation de cette espèce, peu de potentiels prédateurs sont répertoriés. Il s'agit d'oiseaux marins qui profitent de la marée basse pour chasser ce ver. Le second prédateur cité dans la littérature est la raie brunette, *Raja undulata* (Arias and Paxton, 2015). On peut également supposer que les poissons marins (téléostéens) soient aussi des prédateurs puisque l'on utilise ces vers comme appâts de pêche.

2.5 TECHNIQUES DE PECHE ET SITES EXPLOITES

La technique de récolte la plus employée par les pêcheurs à pied de loisir et professionnels est l'utilisation de la pelle à ver tube. Cet outil est spécifique pour ce type de ver car la partie plate est longue et étroite. Son extrémité est aiguisée pour couper facilement les tubes (Figure 15). Les vers récoltés sont stockés dans un panier à maille de 9mm. Un panier de ce type a été réalisé à partir de vieilles poches à huîtres dans le cadre du projet (Figure 15). Cela permet de les garder en contact avec le sédiment humide et de les nettoyer facilement dans la mer. Une autre technique de pêche consiste à pêcher les vers un par un en utilisant du gros sel comme pour la pêche aux couteaux. Grâce à cette technique, les vers peuvent être récoltés en entier. Elle est peu employée car elle demande de l'entraînement et que le rendement est faible.

Avant de commencer le projet, une prospection a été réalisée sur plusieurs sites pour estimer la densité et la taille moyenne des vers. Cinq sites ont été visités et deux ont été exploités pour les expérimentations car ils correspondaient à nos attentes en raison de leur forte densité, diversité de classe d'âge hétérogène et de l'accessibilité de la zone de récolte (Figure 16).



Figure 15. Matériels (gauche) et technique standard (droite) pour récolter les vers tubes en milieu naturel (Laura Vasseur, CAPENA)

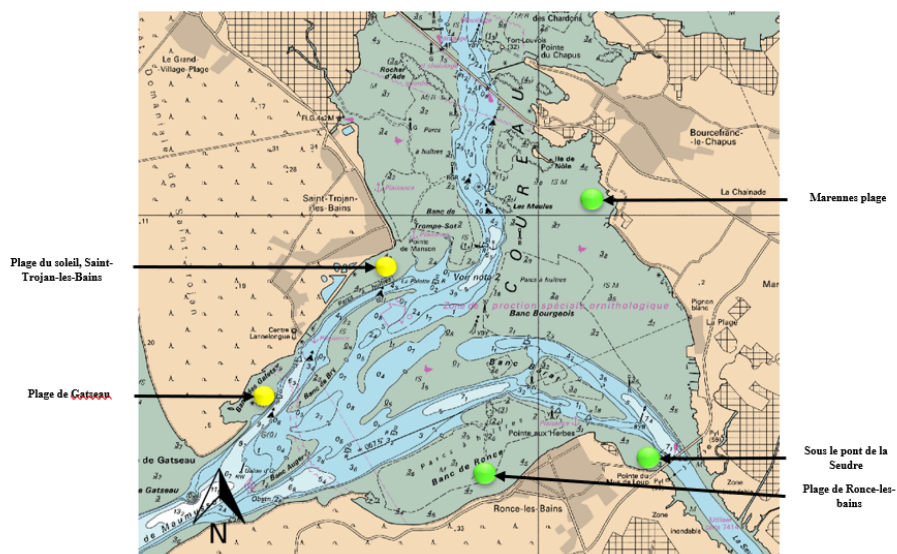


Figure 16. Carte répertoriant les sites prospectés pour la récolte des vers tubes. Jaune – Les sites de prélèvements. Vert – Les sites visités mais non-exploités. (Laura Vasseur, CAPENA)

3 MAITRISE DU CYCLE DE REPRODUCTION DE L'ESPECE *DIOPATRA BISCAYENSIS*

3.1 OBJECTIF

L'objectif de cet axe est de comprendre et de contrôler le cycle de reproduction de l'espèce *Diopatra biscayensis*. Pour cela, plusieurs expériences ont été menées afin de provoquer l'accélération de la maturation des gamètes femelles pour obtenir des ovocytes matures et fécondables et déclencher une ponte afin d'obtenir des larves.

La période de reproduction de *D.biscayensis* s'étend de début août à fin septembre sur les côtes nord espagnoles (Arias and Paxton, 2015). En conditions contrôlées, l'obtention de larves pour cette espèce n'a pas été décrite dans la littérature. La reproduction artificielle de *D.neapolitana*, espèce proche de *D.biscayensis* est mieux connue, et a été réalisée avec succès (Conti et Massa, 1998). Ces résultats et les techniques de maturation ovocytaire d'autres organismes ont été utilisées pour mettre en œuvre les expérimentations sur la reproduction de *D.biscayensis*.

3.2 MATERIELS ET METHODES

Quatre expériences ont été menées *in vitro* pour initier la maturation par stimuli thermique, optimiser la maturation en adaptant la densité et pour tester la reproduction artificielle. En parallèle, un suivi de la maturation de l'espèce en milieu naturel a été effectué.

3.2.1 Suivi de la maturation ovocytaire des vers tubes provenant du milieu naturel

Pour comparer et suivre l'évolution de la maturation des ovocytes du ver tube *D.biscayensis* dans son milieu naturel, des profils ovocytaires ont été réalisés chaque mois. Pour avoir une représentation correcte de la population, trente vers sont prélevés dans le milieu naturel pour espérer en avoir au minimum douze qui possèdent des ovocytes. Les profils ovocytaires sont analysés au laboratoire, selon le protocole d'Arias et Paxton (2015) qui est détaillé dans l'annexe 3. Dans les grandes lignes, la méthodologie employée a consisté dans un premier temps à tuer les vers puis les disséquer et analyser leur contenu sous microscope. Les observations consistent à relever les diamètres de quarante ovocytes par individu. Les valeurs moyennes (indiquées « Moy » puis de la valeur) des différents diamètres ovocytaires sont réparties par intervalle de taille comme indiqué ci-dessous :

- moy40 =]20 ; 60]
- moy80 =]60 ; 100]
- moy120 =]100 ; 140]
- moy160 =]140 ; 180]
- moy200 =]180 ; 220]
- moy240 =]220 ; 260]

De plus, une sonde HOBO Data Logging Solutions a relevé la température toutes les heures, au niveau de la plage du Soleil à Saint-Trojan-les-Bains entre le 30 mars et le 8 août (annexe 4).

3.2.2 Induction de la maturation ovocytaire et de la ponte *in vitro* en réponse à la température

Une série d'expériences a été menée au cours de ce projet, pour lesquelles leur protocole a été adapté en fonction des résultats de la précédente. En ce qui concerne les conditions d'élevage, elles ont été affinées à la suite d'une première expérimentation qui a mis en évidence certains paramètres à améliorer : forte variation de température jour/nuit, faible influence de la photopériode et densité de ver trop faible pour avoir une analyse rigoureuse à la fin de l'expérience.

Matériel utilisé

Deux aquariums de 100L sont utilisés pour les différentes expérimentations sur la reproduction (Figure 17). Pour chaque aquarium, un système de pompe à air et des résistances électriques sont installés pour respecter au mieux la température choisie et maintenir un taux d'oxygène supérieur à 80 %. Un changement d'eau d'un tiers du volume total est effectué toutes les semaines. L'eau issue d'un chenal voisin est prélevée grâce à une pompe vide-cave, filtrée puis décantée. Les aquariums sont compartimentés en plusieurs bidons coupés et troués pour favoriser les mouvements de l'eau. Chaque bidon est rempli de sable grossier provenant d'une zone naturelle proche du CAPENA, sur une hauteur d'environ 20 cm. Durant la réalisation de ce projet, la densité naturelle des vers tubes prélevés sur la plage de Saint-Trojan-les-Bains a été évaluée à 79 individus/m² au mois de mars. Dans un but d'avoir une quantité suffisante de vers hermaphrodites possédant des ovocytes apparents, pour chaque prélèvement, nous avons disposé 24 individus dans l'aquarium, soit 6 par bidon ce qui représente une densité avoisinant les 250 individus/m² (trois fois plus que la densité en milieu naturel).

Les vers ne sont pas nourris durant les expérimentations. Ce choix a été fait suite à des observations où les vers ne sont pas stimulés par des granulés déposés près de l'entrée de leur tube suggérant qu'ils ne mangent pas pendant cette période. De plus, il a été démontré en salmoniculture qu'il existe des interactions entre nourriture et reproduction. Notamment pour l'élevage de truites reproductrices, elles ne sont pas nourries avant et pendant la période de ponte pour que les réserves énergétiques soient orientées sur l'ovogénèse (Luquet and Watanabe, 1986).

A chaque fin d'expérimentation, l'eau des aquariums est filtrée à 150 µm, les filtrats sont analysés au microscope.



Figure 15. Aquariums utilisés pour les différentes expérimentations (Laura Vasseur, CAPENA)

Méthodes utilisant la température afin d'induire la maturation ovocytaire

La première expérience compare l'approche de la technique du choc thermique à celle de l'augmentation progressive de la température. Le choc thermique est facile à réaliser à grande échelle, c'est pourquoi nous avons voulu tester cette technique dès le début des

expérimentations. Celle-ci s'est déroulée sur une période de deux semaines. La température seuil pour les deux aquariums est fixée à 21°C correspondant à la température moyenne de l'eau en août dans le bassin de Marennes-Oléron (source CAPENA). La période estivale étant la période de reproduction en Espagne, 21°C semble être la température adéquate pour tenter de faire murer les ovocytes des vers tubes *D.biscayensis*.

La deuxième expérience a pour but de comparer deux augmentations progressives de la température car cette technique a donné de meilleurs résultats lors de la première expérience, par rapport au choc thermique. C'est pourquoi dans cette expérience deux températures seuils ont été testées, l'une à 21°C et l'autre à 25°C, sur une période d'un mois. L'hypothèse soulevée dans cette expérimentation est qu'une hausse de la température impacte l'accélération de la maturation ovocytaire.

Méthodes utilisant la température afin d'induire la ponte

La troisième expérience consiste à tester l'effet du choc thermique sur le déclenchement de la ponte de la même façon que pour les huitres *Crassostrea gigas* en éclosion (Helm and Millican, 1977). Ainsi, après deux semaines de stabulation dans une eau à 22 °C, le renouvellement d'eau a été réalisé avec une eau préalablement chauffée à 27/28°C et maintenue à cette température pendant deux autres semaines. L'expérience a été suivie au quotidien pour déceler l'apparition, ou non, de sacs gélatineux. Un profil ovocytaire issu de sept vers tubes a été réalisé à la fin de l'expérimentation (annexe 5).

3.2.3 Méthode pour étudier la densité des individus sur la maturation ovocytaire

Il a été démontré pour les espèces de polychètes *Ceratonereis pseudoerythraensis* et *Polydora ligni*, que l'augmentation de la densité d'élevage est corrélée à une réduction de la reproduction et au recrutement de juvéniles (Kent and Day, 1983 ; Zajac, 1985). Dans cette expérience, plus proche de la situation naturelle, deux vers hermaphrodites avec un juvénile ont été disposés dans chaque bidon de l'aquarium avec une eau maintenue à 21°C pendant 1 mois. Le but de cette expérimentation est de tester l'impact de la densité des individus sur la maturation ovocytaire. Ainsi, la densité a été réduite de moitié, à 125 individus/m² par rapport aux autres expériences. Soit 250 individus/m² pour les expériences utilisant la température pour induire la maturation ovocytaire (cf 3.2.2). Le matériel utilisé est identique (cf § matériel utilisé, partie 3.2.2). A l'issue de l'expérience, un profil ovocytaire issu de cinq vers tubes a été réalisé (annexe 5).

3.2.4 Reproduction artificielle

Le but de cette expérience est d'obtenir des larves grâce à une fécondation *in vitro*. Le protocole utilisé a été inspiré par ceux décrits par Pires et al. (2012a) et Conti et Massa (1998) axés sur l'espèce *Diopatra neapolitana*. Avant de commencer l'expérimentation, dix-huit vers tubes ont été mis à murer pendant deux semaines dans une eau à 22°C. La phase d'incubation s'est déroulée dans une salle isotherme qui nous a été prêtée par le lycée de la mer de Bourcefranc-le-Chapus pour maintenir une température constante de 22°C.

Sept individus matures (trois hermaphrodites et quatre mâles) ont été scarifiés au niveau du 50^{ème} sétigère puis stockés séparément, dans 15 mL d'eau de mer filtrée à 40 µm (Figure 18) pendant 15 min, dans le but de libérer les gamètes des vers. Ensuite, 1 mL de solution contenant la semence a été prélevé, puis les deux types de gamètes sont mélangés dans une boîte de pétri remplie de 15 mL d'eau filtrée. La fécondation est réalisée à partir de trois couples différents et est répliquée à trois reprises. Une dernière condition a été testée en rassemblant les gamètes femelles des trois hermaphrodites utilisés précédemment. Cette dernière condition a été

fécondée avec un donneur de sperme différent, toujours avec trois répliques. On se retrouve donc avec 4 fécondations différentes et par conséquent, douze boîtes de pétri ont été générées pour cette expérience (Figure 18). Un schéma descriptif du protocole se trouve à l'annexe 6.

Le suivi s'est déroulé sur quatre jours et les heures de prélèvements ont été choisies en fonction de la physiologie du ver décrite dans la littérature :

| |
|--|
| 5h → stade trochophore (Arias and Paxton, 2015) |
| 19h → larve protochophore nageante (Pires et al., 2012b) |
| 48h → stade métrotrochophore (Arias and Paxton, 2015) |
| 72h → larve nageante moins de 48h (Arias and Paxton, 2015) |

Un changement d'eau est réalisé tous les jours en enlevant 5 mL par boîte de pétri et en ajoutant 7 mL pour compenser l'évaporation et le prélèvement d'échantillon journalier. Dans chaque boîte de pétri, 1 mL est prélevé et conditionné dans des tubes Eppendorfs conservés à basse température dans une glacière pour le transport. Chaque échantillon est observé au microscope pour suivre l'évolution de la fécondation. La température est prise tout au long de l'expérimentation par une sonde HOBO Data Logging Solutions (annexe 7).

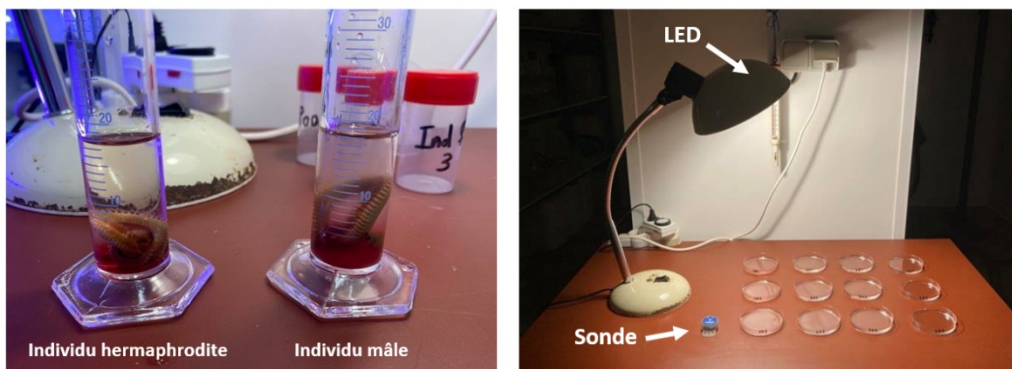


Figure 16. Photographies de l'installation de l'expérimentation de reproduction artificielle pour l'espèce *Diopatra biscayensis* au lycée de la mer de Bourcefranc-le-Chapus (Laura Vasseur, CAPENA). Gauche – Incubation de deux individus utilisés pour l'expérience pour y prélever leurs gamètes. Droite – Les 12 boîtes de pétri contenant les gamètes.

3.2.5 Analyses statistiques

L'ensemble des données est présenté dans le texte sous forme de moyenne et de proportion. Lorsque cela sera jugé pertinent, la variabilité des résultats sera présentée sous la forme d'écart-type. La comparaison des proportions d'ovocyte est testée avec le khi deux. L'ensemble des données sont traitées avec les logiciels R et RStudio© (version 1.1.453).

3.3 RESULTATS

3.3.1 Suivi de la maturation ovocytaire des individus provenant du milieu naturel

La figure 19 met en évidence l'augmentation progressive de la taille moyenne des ovocytes présents dans le fluide cœlomique des vers tubes provenant de la plage du Soleil à Saint-Trojan-Bains. Le diamètre ovocytaire moyen a augmenté progressivement du mois de mars à août en passant de 63 μm à 194 μm (Figure 19).

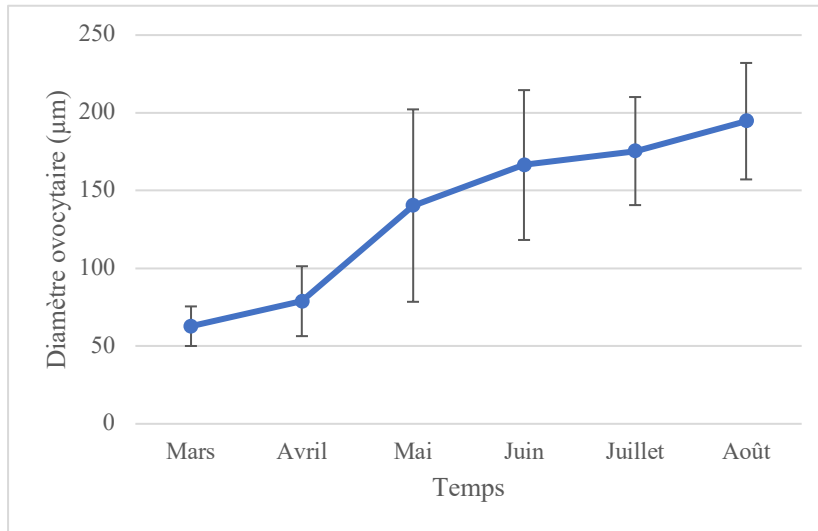
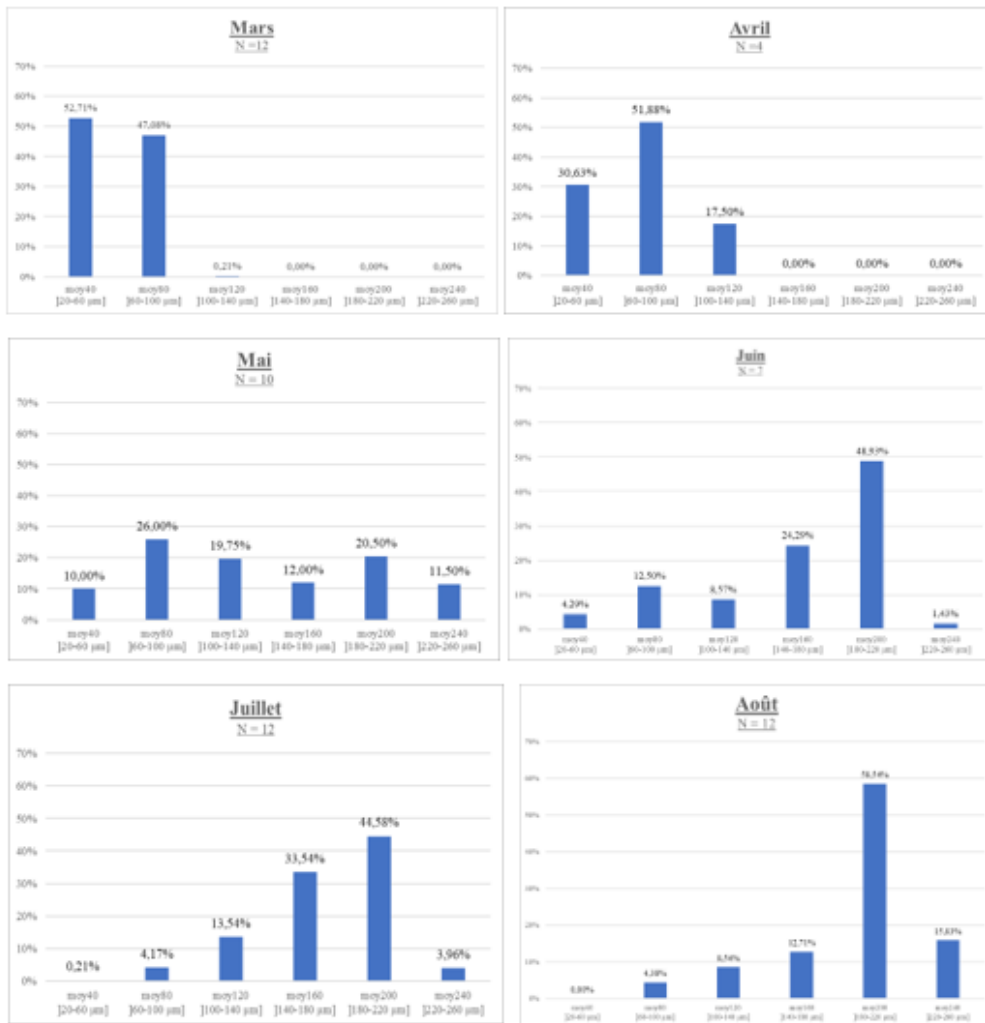


Figure 17. Moyenne des diamètres ovocytaires de *D. biscayensis* ($\mu\text{m} \pm \text{écart type}$) par mois pendant la période d'étude au niveau de la plage du Soleil, Saint-Trojan-les-Bains

Ces résultats se traduisent par une évolution graduelle des effectifs de chaque classe de taille d'ovocyte (Figure 20). En effet, les classes de tailles majoritaires en mars et avril étaient respectivement celles de 40 μm (respectivement 53% et 31%) et de 80 μm (respectivement 47% et 52%). En mai, les proportions de chaque classe étaient homogènes. Enfin, en juillet et août, la classe de taille majoritaire était la 200 μm (respectivement 45% et 59%). Il y a eu jusqu'à 16% d'ovocytes fécondables (classe 240 μm) en août.

Par ailleurs, il a été observé dans un même individu à chaque reprise, différentes classes de diamètres ovocytaires indiquant des différences de développement dans la maturité des ovocytes (Figure 20). L'ovogénèse est donc asynchrone chez ce ver *D. biscayensis*.

Pourcentage d' ovocytes (%)



Classe des diamètres ovocytaires

Figure 18. Histogrammes des fréquences de classes de diamètres ovocytaires de *D.biscayensis* provenant de la plage du Soleil, Saint-Trojan-les-Bains, de Mars à Aout 2021

3.3.2 Induction de la maturation ovocytaire en aquarium en réponse à la température

Comparaison augmentation progressive de la température et choc thermique (Expérience 1)

Une variation de la température de l'eau comprise entre 20 et 22°C a été observée alors que la température ciblée était de 21°C (annexe 8). La première modalité de cette expérience était de tester l'augmentation progressive de la température (Figure 21-A) et celle-ci montre un déplacement significatif de la taille des ovocytes vers les diamètres de plus en plus gros. Cette caractéristique a été observée pour les deux comparaisons de temps de prélèvements : T0 versus T1 et T1 versus T2. Le plus remarquable est la valeur de 10,6 % des ovocytes de diamètre de 240 µm en moyenne à T2 qui a significativement augmentée par rapport à T1 avec une valeur de 1,9 % ($p < 0,05$).

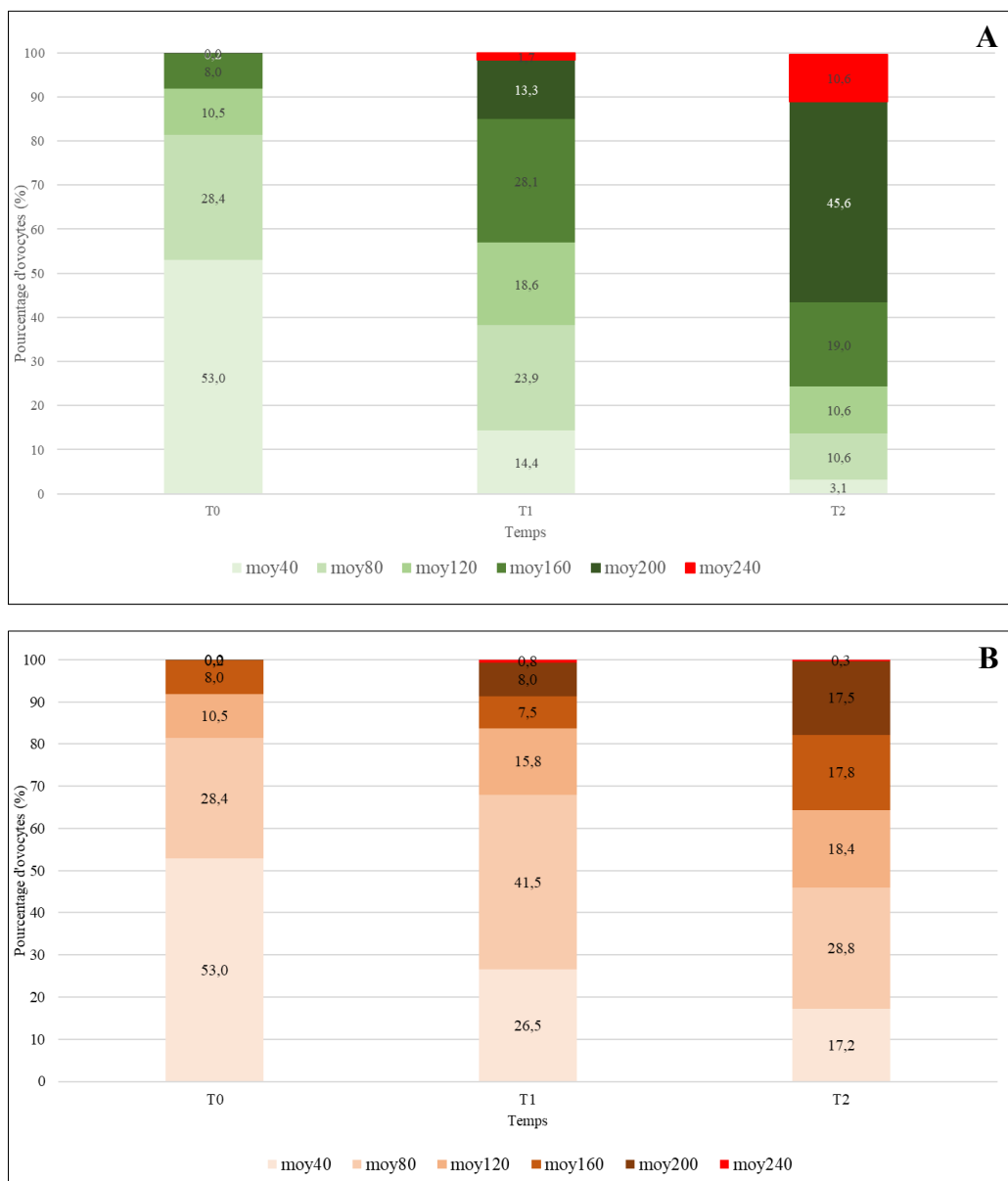


Figure 19. Histogrammes des fréquences de classes de diamètres ovocytaires de l'espèce *D. biscoyensis* par temps de prélèvement (T0 = avant la mise en eau, T1 = 1 semaine et T2 = 2 semaines) pour l'expérience 1. A – modalité testant une augmentation progressive de la température à 21°C. B – Modalité testant un choc thermique à 21 °C.

En ce qui concerne la modalité testant le choc thermique (Figure 21-B), les fréquences dans chaque classe de taille sont restées relativement similaires au cours des deux semaines d'expérimentations. Aucune différence significative entre T0, T1 et T2 n'a pu être montrée pour la classe de diamètre de 240 μm . L'ensemble des résultats des tests du Khi^2 sont regroupés dans l'annexe 9.

Lorsque les deux modalités de l'expérience 1 sont comparées (Tableau 2), on peut remarquer que les proportions sont significativement différentes pour les classes de diamètres les plus gros (200 et 240), après deux semaines d'expérimentation (respectivement $P < 0,001$ et $P < 0,01$).

Tableau 2. Nombre d'ovocytes par classe de taille obtenus après une et deux semaines (T1 et T2 respectivement) d'expérimentation pour la modalité « Augmentation progressive de température » (N_{aug}) et « Choc thermique » (N_{choc}). Les statistiques du test du Ki^2 sont également représentées.

| <i>Temps</i> | <i>Taille</i> | N_{aug} | N_{choc} | $F \text{Khi}^2$ | <i>p-value</i> |
|--------------|---------------|------------------|-------------------|------------------|----------------------------|
| <i>T1</i> | moy40 | 52 | 106 | 3,55 | 0,06 |
| | moy80 | 86 | 166 | 4,74 | 0,03 (*) |
| | moy120 | 67 | 63 | 0,24 | 0,63 |
| | moy160 | 101 | 30 | 11,9 | $0,6 \times 10^{-3}$ (***) |
| | moy200 | 48 | 32 | 1,33 | 0,25 |
| | moy240 | 6 | 3 | 0,35 | 0,56 |
| <i>T2</i> | moy40 | 15 | 55 | 9,74 | $0,2 \times 10^{-2}$ (**) |
| | moy80 | 51 | 92 | 8,34 | $0,4 \times 10^{-2}$ (**) |
| | moy120 | 51 | 59 | 2,1 | 0,15 |
| | moy160 | 91 | 57 | 0,04 | 0,85 |
| | moy200 | 219 | 56 | 12,5 | $0,4 \times 10^{-3}$ (***) |
| | moy240 | 51 | 1 | 9,72 | $0,2 \times 10^{-2}$ (**) |

* ($p < 0,05$), ** ($p < 0,01$), *** ($p < 0,001$)

Comparaison d'augmentation progressive à des températures seuils différentes : 21 et 25°C

La deuxième expérience comparant l'augmentation progressive à des températures seuils de 21°C ou de 25°C, montre que l'évolution la plus marquée s'est passée sur les deux premières semaines de l'expérimentation (entre T0 et T1, pour les deux graphiques de la figure 22). En effet, la proportion de la classe de diamètre correspondant à 200 μm est significativement différente à partir de T1 que ce soit avec une température atteignant 21°C ou 25°C (respectivement 74% et 68%, $p < 0,001$). D'après les résultats obtenus à la fin de cette deuxième expérience, au bout d'un mois (T2), les proportions de chaque classe de taille de diamètre n'ont pas évoluées. L'ensemble des résultats des tests du Khi^2 sont regroupés dans l'annexe 10 et le suivi de température dans l'annexe 11.

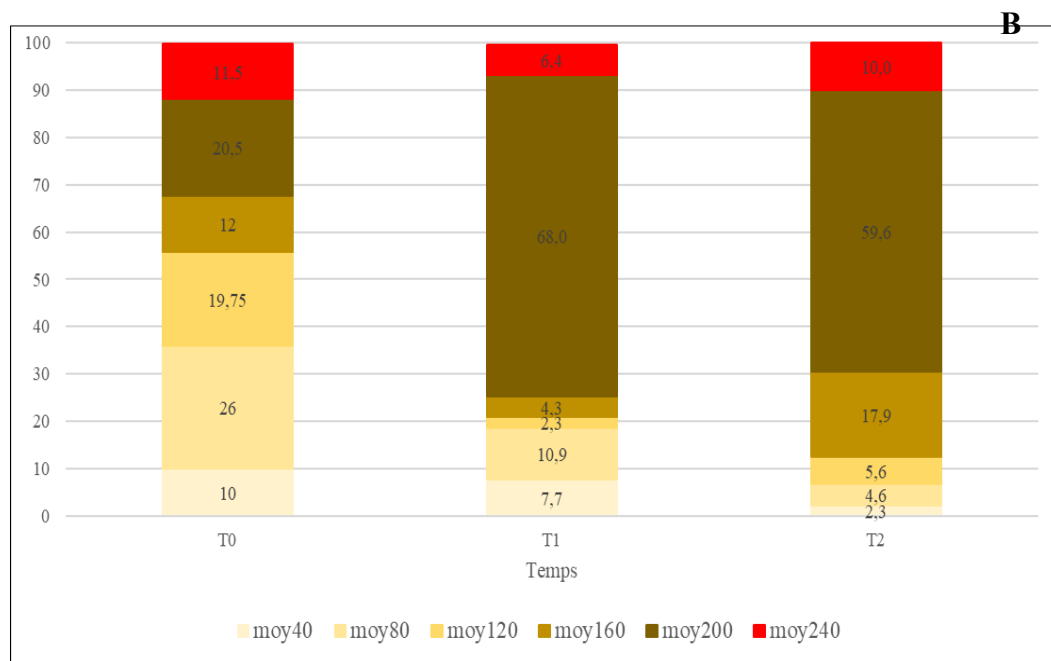
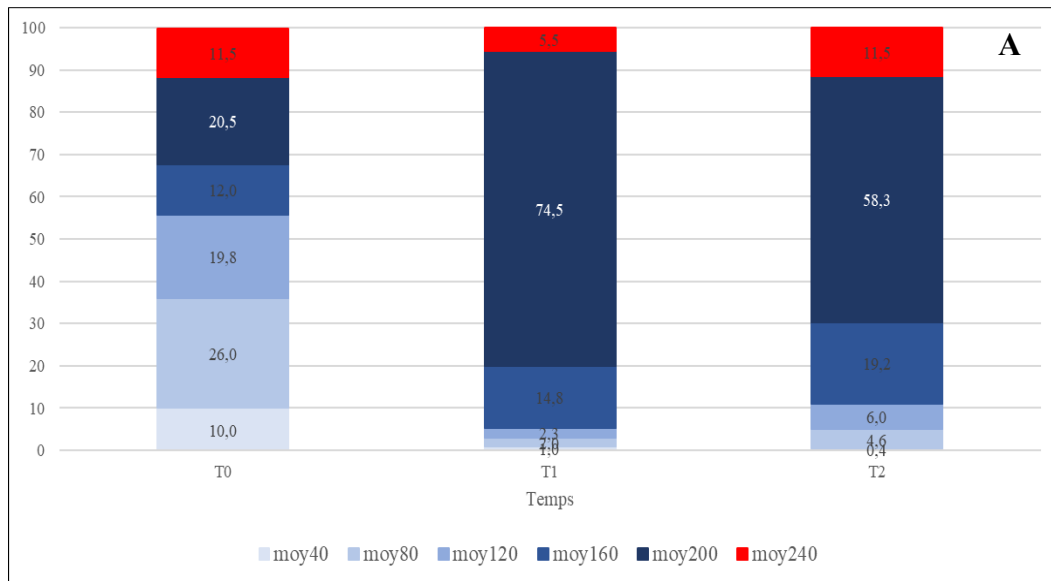


Figure 20. Histogrammes des fréquences de classes de diamètres ovocytaires de l'espèce *D. biscayensis* par temps de prélèvement (T0, T1 = 2 semaines et T2 = 1 mois). A – Expérience d'augmentation progressive de la température à 21°C. B – Expérience par augmentation progressive de la température à 25°C (Laura Vasseur, CAPENA)

La comparaison entre les deux conditions ne montre aucune différence significative pour la fin de l'expérimentation (T2) (Tableau 3). Ceci suggère que l'augmentation progressive à 25°C n'a pas plus d'impact sur la maturation des ovocytes par rapport à une température qui plafonne à 21°C.

Tableau 4 Résumé du test du χ^2 pour comparer la fréquence des classes de diamètres entre les deux conditions en fonction des temps de prélèvements (T0, T1 = 2 semaines ou T2 = 1 mois) pour l'espèce *D. biscayensis* (dl =1)

| Temps | Classe de diamètre | $N_{21^\circ C}$ | $N_{25^\circ C}$ | F χ^2 | p-value |
|-------|--------------------|------------------|------------------|----------------------|-----------|
| T1 | moy40 | 4 | 34 | 5,19 | 0,022 (*) |
| | moy80 | 8 | 48 | 6,15 | 0,013 (*) |
| | moy120 | 9 | 10 | $0,1 \times 10^{-3}$ | 0,99 |
| | moy160 | 59 | 19 | 5,7 | 0,016 (*) |
| | moy200 | 298 | 299 | 0,3 | 0,58 |
| | moy240 | 22 | 28 | 0,062 | 0,8 |
| T2 | moy40 | 2 | 11 | 1,3 | 0,25 |
| | moy80 | 22 | 22 | 0 | 1 |
| | moy120 | 29 | 27 | 0,014 | 0,9 |
| | moy160 | 92 | 86 | 0,04 | 0,83 |
| | moy200 | 280 | 286 | 0,01 | 0,9 |
| | moy240 | 55 | 48 | 0,1 | 0,75 |

* (P<0,05), ** (P<0,01), *** (P<0,001)

3.3.3 Test de reproduction artificielle

Les profils ovocytaires révèlent une majorité d'ovocytes de diamètre compris entre 180 μm et 220 μm provenant du fluide cœlomique pour les trois vers tubes hermaphrodites. Nous observons moins de 10% des ovocytes en fin de maturation donc fécondables de taille supérieure à 240 μm en moyenne (Figure 23). De plus, l'analyse au microscope des prélèvements n'a pas révélé d'ovocytes fécondés ou d'ovocytes en cours de division cellulaire spécifique au développement pré-larvaire. Les ovocytes ont commencé à se décomposer à partir de h+72 h.

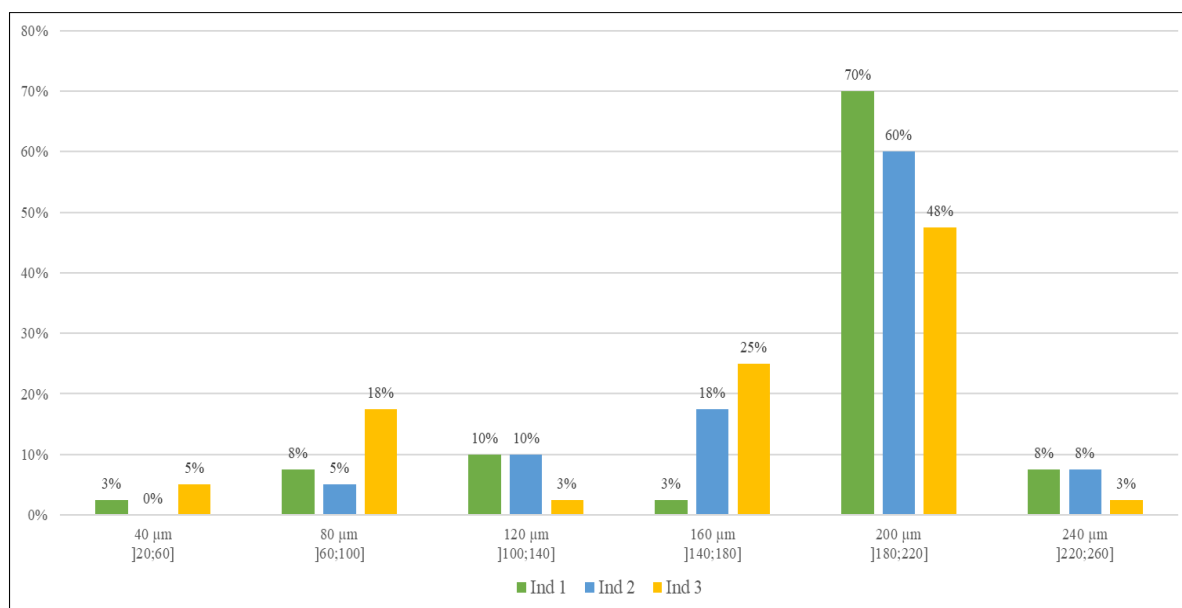


Figure 22. Histogrammes des proportions de diamètres ovocytaires par classe de taille en fonction des trois individus étudiés

3.4 DISCUSSION

3.4.1 Suivi de la maturation ovocytaire des vers tubes *D.biscayensis* sur le site de Saint-Trojan-les-Bains

Le suivi des individus *D.biscayensis* en milieu naturel sur le site de Saint-Trojan-les-Bains a mis en évidence un décalage de la période de reproduction par rapport aux vers tubes étudiés en Espagne par Arias et Paxton en 2015. La population de *D.biscayensis* espagnole semble avoir des ovocytes matures plus tôt dans l'année par rapport aux vers tubes de Charente-Maritime. La côte nord espagnole a une température plus élevée en période estivale par rapport à la Charente-Maritime. A Santander en Cantabrie, la température moyenne en été est d'environ 22,6°C soit plus de deux degrés qu'en Charente-Maritime (seatemperature.info/fr/). Le stage de Master 2 dédié à cette expérimentation se terminant mi-août, il n'a pas été possible d'analyser les ovocytes de vers tubes prêts à pondre, ni de pontes récoltées sur l'estran. Si l'augmentation moyenne du diamètre ovocytaire reste constante, la période de ponte des vers tubes de Charente-Maritime devrait débuter fin septembre au plus tôt. Il faudrait analyser cela en regardant la présence de sac gélatineux sur l'estran et/ou continuer les mesures de tailles des ovocytes durant cette période de l'année.

La présence ou non d'ovocytes a été une problématique tout au long de l'étude sans vraiment réussir à comprendre la raison de ce phénomène. Selon (Pires et al., 2012c), la présence d'ovocytes dans le fluide coelomique des spécimens est variable en fonction des mois et suit le même schéma deux années de suite. D'autres parts, ils posent l'hypothèse que la majorité des individus sans ovocytes ont leur partie antérieure régénérée. L'organisme choisirait donc de favoriser sa croissance somatique (le développement des parties arrachées) au détriment de sa reproduction.

3.4.2 Test de l'accélération de la maturation ovocytaire en milieu contrôlé

Les résultats obtenus révèlent qu'une maturation ovocytaire du ver tube *D.biscayensis* a lieu dans une eau à 21°C avec une augmentation progressive de la température. En effet, la stabulation à 21°C montre une proportion significativement plus importante des deux dernières classes d'ovocytes avec des gros diamètres (moy200, moy240) par rapport à des ovocytes de vers qui ont subi un choc thermique. Malgré cela, le stade final n'a pas été atteint. Selon Arias et Paxton (2015), lorsque les vers sont prêts à pondre, les ovocytes de 220 à 260 µm sont majoritaires à 70%. Or dans notre expérience, seulement 10% des ovocytes ont atteint cette classe de taille. De la même façon, la proportion des gros ovocytes au cours de l'expérience d'induction progressive de la température pour atteindre 21°C et 25°C ne dépasse pas les 11,5% et 10% respectivement, même avec deux fois plus de temps pour maturer.

Les résultats obtenus sont difficilement comparables avec ceux de l'article d'Arias and Paxton (2015) car il manque une information, à savoir la classe de taille à laquelle les ovocytes de 220 µm appartiennent. En effet, un nombre non négligeable d'ovocytes étudiés mesuraient exactement 220 µm qui est à l'interface des deux dernières classes de diamètre. Malgré cela, même si ces ovocytes étaient intégrés dans la dernière classe (220-260 µm), la proportion de 70% ne serait pas atteinte, comme dans l'article d'Arias et Paxton (2015). D'autre part, il n'y a pas eu de ponte ni de sac gélatineux ce qui indique que les ovocytes n'étaient pas matures d'où l'influence d'autres facteurs *a priori*. Les aquariums étant à l'intérieur, ils n'ont pas pu subir l'influence du cycle lunaire et notamment les pleines lunes. Or, on sait par exemple que la reproduction de l'espèce *Hediste diversicolor* dépend de ce facteur puisque le nombre de ponte augmente en fonction de la nouvelle et pleine lune (Bartels-Hardege and Zeeck, 1997).

L'impact de la densité sur la reproduction de l'espèce a été testé. Les résultats obtenus montrent que ce facteur n'influence pas la fin de maturation, ni la ponte dans les conditions de l'expérimentation (densité de 125 vers/m²). Tout comme le test du choc thermique après deux semaines de maturation en aquarium, les résultats de fin d'expérimentation ne révèlent pas de proportion de plus de 70% d'ovocytes de diamètres compris entre 220 et 260 µm (annexe 5).

Il est aussi important de préciser que les conditions d'élevage ont sûrement été sous-évaluées. En effet, pour des raisons pratiques et de mise en œuvre des expérimentations, la hauteur du sédiment ne dépassait pas les 20 cm. Alors que selon les estimations d'Andrés Arias, la hauteur optimale pour l'espèce *Diopatra neapolitana* est de 25 cm minimum. De plus, les vers étant récoltés sur l'estran, la technique de capture à la pelle occasionne l'amputation d'une partie du ver. Cette blessure engendre un stress qui joue un rôle important sur la maturation ovocytaire (Zajac, 1985). En effet, Pires et al. (2012a) ont émis l'hypothèse que les individus hermaphrodites sans ovocytes majoritairement amputés serait la cause de l'absence de gamètes.

Pour les expérimentations futures il peut être intéressant de respecter les 25 cm minimum de hauteur de sédiment, tester l'influence de la lune et placer les aquariums dans une salle isotherme pour éviter les variations de températures, et surtout travailler avec des individus non sectionnés et sans marque de régénération. L'entreprise Aquabait a mis au point un anesthésiant pour faciliter la récolte sans tuer ni couper les vers. Ce produit détend les vers et engendre leur remontée progressive de leur tube. Il ne reste plus qu'à les récolter à la surface du sédiment. Celui-ci étant breveté, nous n'avons pas eu accès à sa composition pour le tester dans nos expérimentations.

3.4.3 Test de la reproduction artificielle

L'expérience n'a pas révélé de phénomène de fécondation. Malgré le faible pourcentage d'ovocytes matures (<10%), la fécondation était probable car les conditions expérimentales étaient rassemblées pour favoriser ce phénomène. Ce résultat peut s'expliquer par le mode de reproduction utilisé dans le milieu naturel sous forme de sac gélatineux (cf § 2.2.2). Les sacs gélatineux n'ont pas seulement une fonction de protection en limitant la prédation par le zooplancton par exemple. Il représente également un habitat favorable à la fertilisation de ses ovocytes. C'est pourquoi la seule réunion des gamètes mâles et femelles dans de l'eau de mer filtrée ne permet pas la fécondation pour l'espèce d'intérêt *D.biscayensis*. Cette technique fonctionne et a déjà été réalisée avec succès pour l'espèce *D.neapolitana* car sa reproduction de type III se fait en pleine eau et non pas par l'intermédiaire de sacs gélatineux (cf § 2.2.2).

3.5 CONCLUSIONS

Le cycle de reproduction de l'espèce *D.biscayensis* est aujourd'hui encore incertain car les observations par les pêcheurs professionnels et la littérature sont contradictoires. Néanmoins, les résultats des diverses expérimentations, en particulier ceux de l'expérience sur la reproduction artificielle, tendent à confirmer l'utilisation de sac gélatineux comme mode de reproduction pour cette espèce. De plus, le suivi sur l'estran de la maturation ovocytaire des vers tubes en milieu naturel en Charente-Maritime a montré qu'elle est progressive et qu'elle s'effectue plus tard probablement à la toute fin de l'été et donc après les individus de la côte espagnole. En effet, les profils ovocytaires mensuels des vers tubes charentais sont similaires mais en décalage par rapport à ceux espagnols. **La maturation peut être stimulée en milieu contrôlé**, il est toutefois nécessaire d'améliorer les conditions d'élevage en jouant sur différents facteurs comme la hauteur du sédiment, les variations de températures et en utilisant des individus entiers. Il reste à comprendre le processus de fin de maturation et de déclenchement

de la ponte pour obtenir des larves. Des nouvelles expérimentations testant des nouvelles modalités telles que la photopériode ou le cycle lunaire pourront être testées pour apporter de plus amples informations.

4 PREMICES DE L'OPTIMISATION DES CONDITIONS D'ELEVAGE

4.1 INFLUENCE DE L'OXYGENATION DU SEDIMENT SUR L'ELEVAGE DE VERS TUBES

Les connaissances sur la compréhension du milieu et du mode de vie du ver tube *D.biscayensis* doivent être approfondies afin de répondre aux objectifs de développement d'un élevage en bassin. La production de certains vers marins tels que *Hediste diversicolor* et *Arenicola hemarina* demandent un milieu de vie oxygéné. Le taux de mortalité des vers *H. diversicolor* est important lorsque l'oxygène est peu présent. La ferme marine du Douhet (FMD) a expérimenté un élevage de ces vers pour alimenter leurs crevettes impériales d'élevage (*Penaeus japonicus*). Ils ont remarqué que l'ajout de système d'airlift (pompe qui permet d'aérer le sédiment) dans les modules d'élevage diminuait la mortalité des vers (FMD, communication personnelle). L'entreprise Hemarina utilise des moulins brassant l'eau de surface et l'oxygénant tout en simulant les marées (Figure 24). *A contrario*, les installations de l'entreprise australienne Aquabait ne semblent pas pensées pour oxygéner le sable où sont élevés les vers tubes *D.aciculata* (Figure 1). Lors des marées de récolte en milieu naturel, il n'est pas rare de trouver des vers tubes dans un sédiment en condition anoxique. Cet habitat est une vase de couleur noire et parfois odorante. On remarque cependant que le sédiment directement en contact avec le tube est de couleur orangée, ce qui suggère la présence d'un phénomène d'oxydation.

L'hypothèse émise est que les vers tubes de l'espèce *D.biscayensis* n'ont pas besoin d'un sédiment oxygéné pour survivre et que l'oxygénation du sédiment n'influence pas leur développement. Ils capteraient l'oxygène directement à l'entrée de leur tube. Cette hypothèse a été testée en comparant la croissance des vers tubes *D.biscayensis* dans des conditions de sédiment oxygéné et non oxygéné en système clos avec un renouvellement d'eau hebdomadaire.



Figure 23. Photographie des installations de l'entreprise Hemarina sur l'île de Noirmoutier (source : site internet d'Hemarina)

4.2 MATERIEL ET METHODES

L'expérimentation a duré trois mois, elle a débuté le 26 mars par la récolte des vers tubes dans le milieu naturel et l'ensemencement des réplicas, et elle a pris fin le 18 juin. Deux bacs de 70L de type « criée » ont été disposés à l'intérieur d'une grande cuve de 1200L. Un des deux bacs est troué pour favoriser l'oxygénation du sédiment. Ce dernier est composé d'un sable fin provenant d'une plage à proximité immédiate du site du CAPENA. Chaque bac comprend trois paniers fabriqués à partir de poches d'huîtres et d'une maille fine (0,5mm) pour éviter le passage des vers tubes à travers les poches (Figure 25). Pour les deux conditions, il y a trois paniers et tous les mois un panier est prélevé pour analyse, afin de déterminer le poids individuel, qui est calculé grâce à la biomasse totale/nombre d'individus. Trente-cinq vers tubes juvéniles (avec un diamètre inférieur à 5 mm) prélevés sur la plage de Gatseau, ont été disposés dans chaque panier. Comme le précise Crisp (2009) pour l'espèce *Pomatoleis kraussii* (Annelida, Polychaeta), le stade juvénile correspond au taux de croissance le plus important. Ces vers sont placés dans des conditions de densité plus élevées qu'en milieu naturel ; 200 individus/m² au lieu de 150 individus/m² (source personnelle). L'installation n'est pas un système dynamique avec un apport d'eau régulier, c'est pourquoi un changement d'eau est réalisé toutes les semaines. De plus, une pompe à air (400l/h) a été installée pour oxygéner continuellement l'eau. Au début de l'expérimentation, les vers étaient nourris une fois par semaine avec 5 g d'aliments (2,5 g de granulés et 2,5 g d'huîtres hachées) puis deux fois par semaine après l'analyse des individus lors du temps T1 (un mois d'expérimentation) le 23 avril 2021 (140mg/ver, une fois puis deux fois par semaine). A partir du 27 mai (1 semaine après le temps T2 qui représente deux mois d'expérimentation) la quantité de nourriture est passée de 5 g à 6 g par bac.

Un suivi journalier des paramètres du milieu est réalisé pour la température de l'eau, la saturation en oxygène et la salinité (annexe 12). Tous les individus sont pesés en eau pour faciliter le maintien des vers dans de bonnes conditions. La pesée a été réalisée au début de l'expérience, puis chaque mois (T1, T2, T3).

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne, les barres d'erreur représentent l'écart type pour les deux traitements en fonction des temps de prélèvements. L'analyse des résultats a montré que la normalité des valeurs n'est pas validée par le test de Shapiro-Wilk ($p < 0,001$). En ce qui concerne l'homoscédasticité des échantillons, elle n'est pas respectée puisque la p-value du test de Bartlett est fortement inférieure à 0,05 ($p = 0,3 \times 10^{-3}$). Ainsi, les comparaisons des moyennes des poids individuels ont été effectuées avec des tests non-paramétriques de Kuskal-Wallis et Wilcoxon, réalisés avec les logiciels R et RStudio© (version 1.1.453).



Figure 24. Photographie de l'installation expérimentale (Laura Vasseur, CAPENA)

4.3 RESULTATS

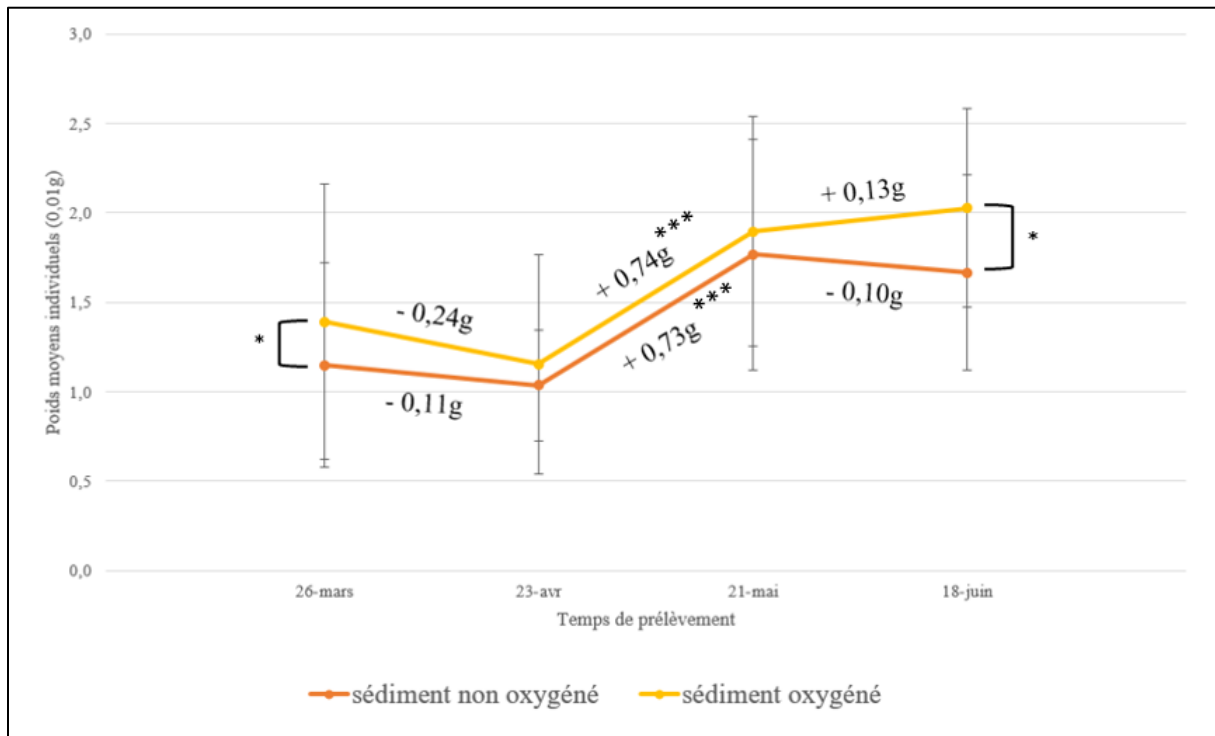


Figure 25. Poids moyen individuel et croissance de *Diopatra biscayensis* pour les deux traitements tous les mois avec T0 (26 mars) = mise en eau, T1 (23 avril) = 1 mois, T2 (21 mai) = 2 mois, T3 (18 juin) = 3 mois (0,01g \pm écart type)

La croissance des individus représentée par le poids individuel moyen a été déterminée en fonction des temps de prélèvements et est représentée sous la forme de graphique sur la figure 26. Le poids moyen des vers étaient de 1,39g pour le sédiment oxygéné et de 1,15g pour le sédiment non oxygéné à T0 ($p < 0,05$). Le poids moyen est resté stable au cours du premier mois, puis les vers ont montré une croissance significative entre T1 et T2, de même ordre de grandeur entre les deux modalités (+0,74g avec $p < 0,001$) (annexe 13). Puis entre T2 et T3, Les résultats obtenus montrent une différence significative entre les individus de traitement différents à T0 et T3 ($p < 0,05$). Si l'on regarde l'évolution de la croissance des individus sur l'ensemble de la période d'expérimentation, les vers tubes ont eu un gain de masse dans le bac troué mais également en condition non oxygénée. Les vers qui ont subi le traitement avec un sédiment oxygéné, ont en moyenne gagné 0,63 g, contre 0,52 g dans avec le bac non troué, soit 0,10 g de plus.

Le résumé des tests statistiques se trouvent dans l'annexe 13.

4.4 DISCUSSION

4.4.1 Un gain de poids plus élevé pour *Diopatra biscayensis* avec un sédiment oxygéné

Les valeurs des poids moyens au début de l'expérience sont significativement différentes ($p < 0,05$) entre les vers du bac troué et ceux du bac non troué. Pour analyser les résultats de cette expérience, les gains et les pertes de poids moyens ont été calculés entre différents temps, et entre les deux conditions expérimentales (Figure 26). Les résultats montrent une augmentation significative du poids moyens des individus dans les deux bacs, entre T1 et T2. Cela correspond à la période où les vers ont été nourris deux fois par semaine, après avoir été nourri 1 fois par semaine entre T0 et T1. Pour éviter le problème de différence significative entre les deux

conditions au T0, il aurait été préférable de couper les individus au même nombre de sétigères afin de suivre le nombre de sétigère régénérés plutôt que le poids moyen à chaque temps de prélèvement (Bely, 2006).

De plus, une différence significative des poids moyens a été mesurée entre les deux conditions expérimentales à la fin de l'essai ($P < 0,05$). Compte tenu de l'hypothèse initiale considérant que l'oxygénation du sédiment n'est pas un facteur limitant pour le développement des vers tubes, aucune différence n'était attendue pour cette expérience. Cette expérimentation devra être approfondie en utilisant un système d'airlift comme cela a pu être testé à la ferme marine du Douhet avec l'espèce *H. diversicolor*. C'est une piste de développement et d'optimisation des installations d'élevage pour *Diopatra biscayensis*.

Cette piste est justifiée par les résultats des tests d'élevage du ver *Hediste diversicolor* par la FMD. En effet, cette espèce fait partie des organismes majoritaires dans les claires ostréicoles (Bouquet et al., 2016). Or le sédiment vaseux des marais est très peu oxygéné du fait de sa conformation et des caractéristiques biochimiques du milieu. Le ver tube peut se développer dans un milieu pauvre en oxygène, mais sa croissance en milieu contrôlé semble favorisée lorsqu'il y a plus d'oxygène.

Une étude granulométrique a été réalisée pour comparer le sédiment de Gatseau où ont été prélevés les individus et le sédiment sableux utilisé lors de l'expérimentation. Elle indique que la granulométrie de l'échantillon de Gatseau, mesurée sur tamis, est sablo-vaseux légèrement graveleux (annexe 14). Il y a une différence granulométrique entre les deux milieux ce qui suggère qu'un temps d'adaptation à l'élevage en bassin, peut être nécessaire aux individus prélevés, bien que cette espèce soit ubiquiste pour le choix du sédiment dans lequel elle se développe.

4.4.2 Le choix des individus étudiés

Une autre piste pour optimiser l'élevage est la sélection des individus. Dans cette expérience, les vers tubes utilisés proviennent de l'étrier et sont en majorité amputés au moment de leur prélèvement. Il est probable que la croissance ait été retardée par la régénération des parties amputées (Hentschel and Harper, 2006). Pour mener à bien les différentes expérimentations et limiter les biais liés à cette amputation, il est préférable de travailler uniquement sur des vers entiers. Safarik et al. (2006) ont eu accès à des individus non amputés grâce aux installations et aux connaissances de l'entreprise australienne Aquabait et notamment de leur anesthésiant (voir partie I.2). Pour la suite du projet, l'utilisation de ce produit ou la création d'un nouveau composé avec le même effet doit être l'un des principaux axes de recherche afin d'avoir accès à des vers entiers pour les diverses expérimentations.

4.4.3 Autres observations rencontrées au cours de l'expérience

Quelques jours après l'ensemencement des répliques, des tubes ont été observés au fond du bac de 1200 L. Dans un premier temps, nous avons conclu qu'il s'agissait de cas isolés. Cependant des vers ont été retrouvés hors des bacs de répliques tout au long de l'expérimentation. Suite aux nombreuses observations faites au cours de ce projet, il est avéré que ce ver a la capacité de nager en pleine eau grâce à des impulsions et un mouvement en spirale de sa partie postérieure. Pour éviter cet échappement, il est nécessaire d'adapter les paniers avec des rebords suffisamment hauts qui dépassent hors de l'eau.

Durant cette expérimentation, il a été constaté au moment de la récolte des vers, que le sédiment du bac troué présentait quelques marques d'anoxie reconnaissables par le noircissement du sable par endroit. Cette anoxie était toutefois moins marquée que dans le bac non troué. Comme

il a été dit précédemment, les vers ont eu une croissance significativement plus importante en condition oxygénée. Il est raisonnable de penser que si l'oxygénation du sédiment avait été meilleure, alors la différence de croissance entre les deux bacs aurait été accentuée. Pour remédier à cela l'utilisation d'un bac avec plus de trous ou l'utilisation d'un système d'airlift est recommandé pour des expérimentations futures sur la croissance.

4.5 CONCLUSION

L'importance de l'oxygénation du sédiment n'a pas été complètement démontrée après cette expérience, bien qu'un sédiment oxygéné semble être davantage favorable à la croissance des vers qu'un sédiment plus anoxique. Un système d'airlift dans les bacs expérimentaux pourrait être testé à l'avenir pour confirmer cette tendance. **Ces expériences montrent qu'il est possible de maintenir et de faire grossir des vers tubes en système clos avec un renouvellement d'eau hebdomadaire**, malgré des variations significatives des paramètres de l'eau entre le jour et la nuit. Les individus et le sédiment doivent être sélectionnés pour optimiser au mieux les conditions d'élevage, et en particulier pour favoriser la croissance des vers. Cela se traduit par l'utilisation d'individus entiers, ou à défaut avec le même nombre de sétigères dès le début de l'expérience. Des dispositions doivent également être prises pour éviter la fuite des vers hors des bacs de répliques.

5 TEST D'ELEVAGE EN CLAIRE OSTREICOLE

5.1 INTERET D'UN ELEVAGE EN MARAIS

Les marais ostréicoles ou claires sont exploités depuis le X^{ème} siècle, d'abord comme lieu d'activité salicole. C'est à partir du XVII^{ème} siècle que l'activité ostréicole s'approprie les claires, elle se développe surtout à partir du XIX^{ème} siècle (Direction Départementale des Territoires et de la Mer 17, 2017). Aujourd'hui ces marais sont principalement utilisés pour l'affinage des huîtres en fin de cycle d'élevage. Ils accueillent également la principale production de crevettes impériales (*Peneus japonicus*) de France, ainsi que d'autres activités plus marginales comme la vénériculture.

L'objectif de cet axe est de poursuivre la dynamique de valorisation des claires. La création de nouveaux élevages permet d'envisager une diversification de la production des professionnels et la valorisation patrimoniale de marais inexploités ou à l'abandon. C'est dans ce contexte que des tests de croissance du ver tube *Diopatra biscoyensis* ont été réalisés en claire.

5.2 MATERIEL ET METHODES

Une première expérimentation de croissance, a été réalisée sans préparation au préalable de la claire. Pour se faire, deux cents individus, libres de leur tube ont été disposés dans deux claires du CAPENA. Quelques jours plus tard aucun tube n'était visible à la surface du sédiment suggérant la disparition de l'ensemble des individus. L'hypothèse qui nous a semblé la plus plausible est l'impact de la prédation qui a engendré 100% de mortalité. Avant de commencer la seconde expérimentation, la claire a été préparée en suivant le protocole prévu pour la pénéculture en marais pour éviter la prédation et favoriser le développement des proies (Blachier, 1998). Celles-ci sont en majorité des annélides tel que le ver *Hediste diversicolor*. Cette espèce a été retrouvée en abondance dans les claires du CAPENA en avril 2016 avec 967

individus/m² (Bouquet et al., 2016). Durant cette expérimentation, les vers tubes ne sont donc pas nourris pour évaluer leur capacité à survivre en claire sans apport extérieur de nourriture.

Quatre paniers ont été fabriqués à partir de vieilles poches ostréicoles (9mm) et doublés avec une maille fine (0,5mm) pour éviter la fuite des vers (même méthode que II.2). Dans chaque panier, la densité était de 192 individus/m², soit trente-cinq individus par panier. Ces derniers sont placés à une profondeur d'environ 20 cm dans le sédiment d'une claire expérimentale du CAPENA de 37 m². Ils proviennent de la plage de Gatseau car ce sont des juvéniles et que, par conséquent, leur taux croissance est plus importante (cf § III.2). Toutes les trois semaines, un panier est sorti de la claire pour réaliser le suivi de croissance des vers au temps T1 (3 semaines), T2 (6 semaines), T3 (9 semaines) et T4 (12 semaines) du 30 avril au 23 juillet. Le protocole est identique à celui décrit dans la partie II.2 (figure 27).



Figure 26. Photographie de la claire du CAPENA avec les quatre paniers enfouis dans le sédiment vaseux (Laura Vasseur, CAPENA)

Les paramètres de l'eau de la claire sont relevés deux fois par jour (matin et après-midi) (annexe 15).

L'étude statistique des données montre que la normalité des valeurs n'est pas validée par le test de Shapiro ($p < 0,001$). En ce qui concerne l'homoscédasticité des échantillons, elle n'est pas respectée puisque la p-value du test de Bartlett est inférieure à 0,05 ($p = 3,3 \times 10^{-10}$). Notre choix s'est donc porté sur l'utilisation d'un test non-paramétrique de Wilcoxon.

5.3 RESULTATS

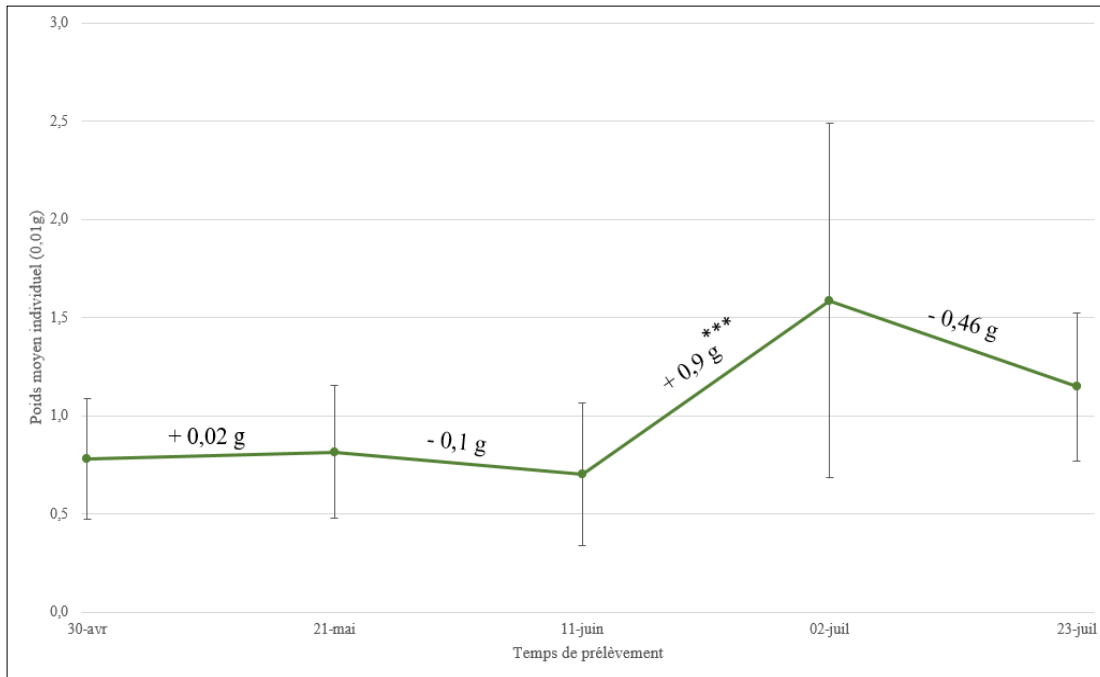


Figure 27. Mesure de la croissance de *Diopatra biscayensis* toutes les trois semaines avec T0 (30 avril) = mise en eau (N=140), T1 (21 mai) = 3 semaines (N=26), T2 (11 juin) = 6 semaines (N=29), T3 (2 juillet) = 9 semaines (N=25), T4 (23 juillet) = 12 semaines (N=17) (0,01g \pm écart type)

La croissance a été stable jusqu'au 21 mai, puis une augmentation d'un gramme en moyenne a été mise en évidence entre le 11 juin et le 2 juillet (Figure 28). Celle-ci est significative avec une p-value inférieure à 0,001. Lors des trois dernières semaines de l'expérimentation, les vers tubes ont perdu environ 0,5 g, cette estimation est basée sur un échantillon composé des 17 individus retrouvés.

Le résumé des résultats du test de Wilcoxon se trouve dans l'annexe 16.

5.4 DISCUSSION

La croissance constante des six premières semaines entre T0 et T2 pourrait s'expliquer par un temps d'adaptation des vers tubes au sédiment des claires dont la composition diffère du milieu de prélèvement. L'analyse granulométrique réalisée sur les deux sédiments révèle que le milieu est plus sablo-vaseux dans la claire alors que le site de Gatseau est davantage vaso-sableux (annexe 14). Ensuite, la forte croissance observée entre la 6^{ème} et la 9^{ème} semaine montre que les vers se sont développés dans la claire. Il est également possible que tous les petits vers soient morts et par conséquent les gros vers sont les seuls à être échantillonnés, ce qui augmente le poids moyen. Les données de poids moyen individuel à la fin de l'expérience correspondent à un échantillonnage de dix-sept vers retrouvés dans le dernier panier. Ce faible nombre d'individus après trois mois d'expérimentation, ne nous permet pas de conclusions très solides, mais cela suggère néanmoins qu'il y a eu de la mortalité après une hausse du poids moyen. Ce phénomène pourrait s'expliquer par l'absence de nourriture durant toute la période d'expérimentation engendrant un possible cannibalisme (agressivité observée régulièrement dans des conditions avec peu d'alimentation). Afin d'approfondir ces résultats, il serait intéressant de refaire cette expérience en comparant des individus nourris et non nourris dans

deux claires différentes, dans le but de démontrer l'impact d'un apport de nourriture sur le développement des vers tubes en claire.

Malgré la préparation de la claire, la principale difficulté rencontrée dans cette expérience est la prédation par les crabes verts (*Carcinus maenas*) très présents dans les marais. Un petit nombre a été retrouvés dans les paniers ce qui peut expliquer une partie de la mortalité. Dans le cas de la pénéculture, ce sont les principaux compétiteurs des crevettes pour les proies (notamment les vers) présentes dans les claires. Ce sont aussi des prédateurs des crevettes au stade juvénile d'où le protocole de traitement des marais pour limiter la présence de ces crabes.

Les vers tubes sont des animaux qui vivent sur l'estran, où les marées pourraient avoir leur importance dans le développement des vers. En théorie les vers tubes sont émergés deux fois par jour, plus ou moins longtemps, en fonction de leur position sur l'estran. Toutefois, si l'on compare *D.biscayensis* à l'espèce *D.neapolitana* très proche morphologiquement qui est majoritairement localisée en Méditerranée sur une zone à faible marnage (entre 20 et 50 cm), il est raisonnable de penser que ce paramètre n'est pas celui qui influence le plus la croissance de *D.biscayensis*. Pour s'en assurer, l'impact du phénomène de marée sur le cycle de vie des vers tubes devra être testé dans de futures expérimentations.

5.5 CONCLUSION

Les résultats obtenus durant ce travail, laissent à penser qu'**un élevage de *D.biscayensis* dans les marais ostréicoles semble possible**. Un travail complémentaire doit être mené avec des individus entiers et nourris, en limitant la présence de prédateurs, et en particulier des crabes, tout au long de l'expérimentation. Faciliter la récolte dans ce milieu est un facteur à prendre en compte si on souhaite développer ce type d'élevage. L'utilisation de l'anesthésiant créé par la société Aquabait serait une piste à explorer pour y parvenir. L'influence d'autres facteurs comme la marée ou la profondeur de sédiment restent à évaluer.

6 CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Plusieurs aspects du cycle d'élevage du ver tube *Diopatra biscayensis* ont été traités dans ce travail de six mois (annexe 17).

Son cycle de reproduction a été particulièrement étudié car c'est un point clé de la maîtrise du cycle d'élevage des espèces en aquaculture. La maturation ovocytaire a été effective grâce à une augmentation progressive de la température jusqu'à 21°C, qui correspond à la température moyenne observée en période estivale en Charente-Maritime.

Des tests de croissance ont été effectués en hors sol dans un bassin clos avec une eau régulièrement renouvelée et en claire ostréicole. Les résultats obtenus montrent que les vers tubes ont grossi en bassin et en claire. Pour compléter ces résultats, il faudrait comparer ces croissances en milieu clos à celle de populations naturelles, afin de voir si un des milieux est plus favorable pour la croissance de *D.biscayensis* et pouvoir discriminer les conditions environnementales déterminantes pour une croissance optimale.

De plus, le stade de grossissement pourrait être testé en condition de co-culture sous les tables ostréicoles. En effet, la majorité des pêcheurs professionnels récoltent leurs vers dans ce milieu, avec l'accord des propriétaires. La présence de nombreux vers tubes sous les tables peut être expliquée par une biodiversité plus importante favorisée par la forte densité d'huîtres. Cette

hypothèse a été démontré pour les concessions où se trouve des moules de bouchot en Normandie (Grant et al., 2012). Une étude sur la différence de densité doit être réalisée au préalable pour valider cette hypothèse. Elle consisterait à comparer une zone en dessous des tables à une autre sans table en suivant le même isobathe. Si cette hypothèse est confirmée, l'objectif serait d'installer des systèmes de paniers sous les tables des concessions pour les récolter facilement après quelques mois de grossissement. En ce qui concerne la reproduction de cette espèce, certains stades cruciaux n'ont pas pu être abordés car des étapes comme la fin de la maturation ovocytaire et le déclenchement de la ponte n'ont pas été atteintes. Par conséquent, aucune expérimentation sur le stade larvaire n'a pu être menée. La suite de ce projet devra se concentrer sur ces points.

Aujourd'hui, le seul débouché de ce ver en France est son utilisation en tant qu'appât pour la pêche de loisir. Or, ces vers peuvent être introduits dans l'alimentation des crevettes impériales produites dans les marais de Charente-Maritime, car ils sont sûrement riches en acides gras polyinsaturés comprenant les acides gras essentiels, comme c'est le cas pour le ver *Hediste diversicolor* (Santos et al., 2016). Ces lipides sont un complément alimentaire important pour le développement gonadique et la ponte, notamment des poissons marins (Bischoff et al., 2009) et des huîtres (Gasmi, 2017). On peut envisager la création d'un granulé à base de ces vers ou les donner entiers morts ou vivants. En effet, la pénéculture en Australie est le principal débouché pour l'élevage de *Diopatra aciculata*. Dans les marais charentais, l'espèce principalement consommée par les crevettes impériales est *Hediste diversicolor* (anciennement *Nereis diversicolor*) (Hussenot and Reymond, 1990). Ce ver se retrouve seulement dans l'hémisphère nord, et n'est donc pas présent en Australie (Breton et al., 2003). C'est pourquoi, le ver tube est une alternative de proie vivante en Australie pour les pénéculteurs, ce qui pourrait également s'appliquer en France.

A l'avenir, il est prévu de réaliser une recherche sur les molécules d'intérêts en partenariat avec l'Université de la Rochelle et le laboratoire LIENSs (Littoral Environnement et Société). Dans un premier temps, un profil des acides gras y serait déterminé pour faire une comparaison avec la composition du ver *Hediste diversicolor* et les besoins nutritionnels des crevettes. D'autre part, une étude sur le mucus serait menée pour déterminer ses propriétés et les possibles utilisations, à l'image du mucus de l'espèce *Lanice conchiliga* qui révèle des particularités bioadhésives intéressantes sur le plan industriel (Post-doctorat de Jean-Philippe Buffet, équipe BOREA du MNHN). De plus, tout comme le ver *Arenicola marina*, l'espèce *Diopatra biscayensis* vit sur la zone intertidale de l'estran. Les pressions environnementales de ce milieu étant les mêmes pour ces deux espèces, notamment pour l'accessibilité à l'oxygène dissout, il est probable que l'hémoglobine d'intérêt (cf III.1) puisse également être retrouvé dans le sang des vers tubes, mais cela reste à vérifier.

BIBLIOGRAPHIE

- Akesson B** (1973) Morphology and life history of *Ophryotrocha maculata* sp (Polychaeta, Dorvilleidae). Zool Scrip, 2: 141–144.
- Arias A, Paxton H** (2015) The cryptogenic bait worm *Diopatra biscayensis* Fauchald et al., 2012 (Annelida: Onuphidae) – Revisiting its history, biology and ecology. Estuarine, Coastal and Shelf Science 163: 22–36
- Arias A, Paxton H, Budaeva N** (2016) Redescription and biology of *Diopatra neapolitana* (Annelida: Onuphidae), a protandric hermaphrodite with external spermaducal papillae. Estuarine, Coastal and Shelf Science 174: 1–17
- Bartels-Hardege HD, Zeeck E** Reproductive behaviour of *Nereis diversicolor* (Annelida: Polychaeta). 4
- Bely AE** (2006) Distribution of segment regeneration ability in the Annelida. Integrative and Comparative Biology 46: 508–518
- Bischoff AA, Fink P, Waller U** (2009) The fatty acid composition of *Nereis diversicolor* cultured in an integrated recirculated system: Possible implications for aquaculture. Aquaculture 296: 271–276
- Blachier P** (1998) Guides techniques du CREAA ; l'élevage de la "Crevette Impériale."
- Bouquet AL, Guibergia M, Blachier P, Sauriau PG** (2016) Productivité naturelle des claires d'élevage de crevettes impériales en marais et étude comparative d'apport d'aliments inertes, Optimisation de l'alimentation des crevettes impériales.
- Breton S, Dufresne F, Desrosiers G, Blier PU** (2003) Population structure of two northern hemisphere polychaetes, *Neanthes virens* and *Hediste diversicolor* (Nereididae), with different life-history traits. Marine Biology 142: 707–715
- Conti G, Massa F** (1998) Esperienze de allavamento del polichete *Diopatra neapolitana* Delle Chiaje, 1841 nella Laguna di S. Gilla (Sardegna Meridionale). Biologia Marina Meditteranea, 5(3), 1473-1480.
- Costa PFE, Oliveira RF, Fonseca LCD** (2006) Feeding Ecology of *Nereis diversicolor* (O.F. Müller) (Annelida, Polychaeta) on Estuarine and Lagoon Environments in the Southwest Coast of Portugal. 12
- Crisp M** (2009) The development of the serpulid *Pomatoleios kraussii* (Annelida, Polychaeta). Journal of Zoology 183: 147–160
- Dagli E, Ergen Z, Cinar ME** (2005) One-year observation on the population structure of *Diopatra neapolitana* Delle Chiaje (Polychaeta: Onuphidae) in Izmir Bay (Aegean Sea, eastern Mediterranean). Marine Ecology 26: 265–272
- De Murtas R, Sini S** (2003) Prove di allevamento intensivo del polichete da esca *Diopatra neapolitana* nella laguna di S. Gilla (Cagliari). Biol. Mar. Medit
- Desrosiers G, Vincent B, Retière C, Boucher L** (1988) Comparaison de critères utilisables pour l'étude de la structure des populations du polychète *Nereis virens* (Sars). Can J Zool 66: 1454–1459
- Direction Départementale des Territoires et de la Mer 17** (2017) Présentation du schéma des structures des cultures marines de Charente-Maritime.

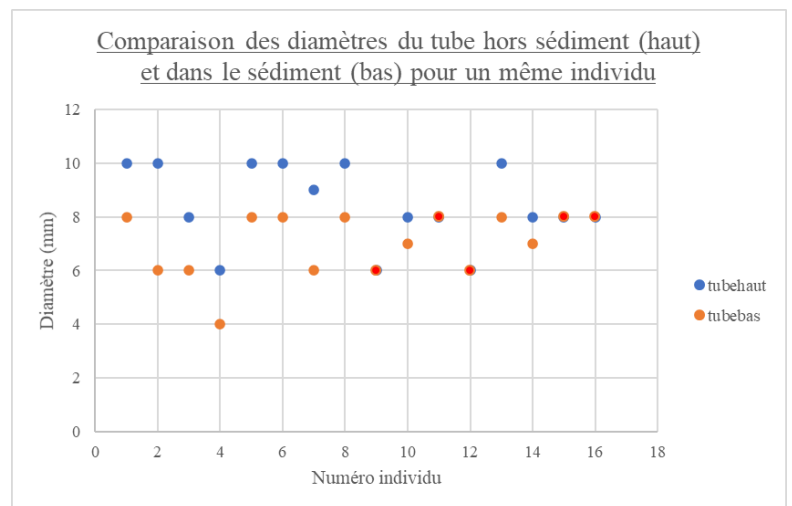
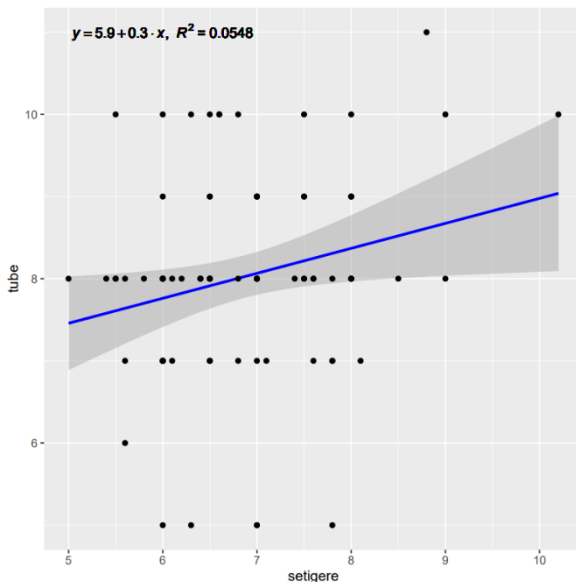
- Dubois S** (2014) Rôles des espèces ingénieurs dans la structure et le fonctionnement des habitats benthiques côtiers. 118
- Fauvel P** (1923) Polychètes errantes (Vol. 5). P. Lechevalier.
- Galaska MP, Wethey DS, Arias A, Dubois SF, Halanych KM, Woodin SA** (2021) The impact of aquaculture on the genetics and distribution of the onuphid annelid *Diopatra biscayensis*. *Ecol Evol* 11: 6184–6194
- Gasmi S** (2017) Ecologie trophique et reproduction d'une population sauvage d'huître creuse *Crassostrea gigas* dans un écosystème macrotidal, peu profond : cas du Bassin d'Arcachon. Thèse de doctorat en Biogéochimie et écosystèmes. Bordeaux
- Grant C, Archambault P, Olivier F, McKindsey C** (2012) Influence of 'bouchot' mussel culture on the benthic environment in a dynamic intertidal system. *Aquacult Environ Interact* 2: 117–131
- Helm M, Millican P** (1977) Experiments in the hatchery rearing of pacific oyster larvae (*Crassostrea gigas*, Thunberg). *Aquaculture* 1–12
- Hentschel BT, Harper NS** (2006) Effects of simulated sub lethal predation on the growth and regeneration rates of a spionid polychaete in laboratory flumes. *Marine Biology* 149, 1175e1183
- Hussenot J, Reymond H** (1990) Accroissement de la production des élevages semi-extensifs de crevette imperiale en marais sales Atlantiques (France). In Proceedings of FAGEIFAC Symposium on Production Enhancement in Still-Water Pond Culture, Prague (pp. 15-18).
- Leguerrier D, Niquil N, Petiau A, Bodoy A** (2004) Modeling the impact of oyster culture on a mudflat food web in Marennes-Oléron Bay (France). *Mar Ecol Prog Ser* 273: 147–162
- Lo Bianco S** (1899) Notizie biologiche riguardanti specialmente il periodo di maturità sessuale degli animali del golfo di Napoli. *Neapel* 13: 448–573
- Luquet P, Watanabe T** (1986) Interaction "nutrition-reproduction" in fish. *Fish Physiol Biochem* 2: 121–129
- Kent AC, Day RW** (1983) Population dynamics of an infaunal polychaete (*Ceratonereis pseudoerythraeensis*): the effect of predators and an adult-recruit interaction. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 73(2): 185-203.
- Pandian TJ** (2019) Reproduction and Development in Annelida: Series on: Reproduction and Development in Aquatic Invertebrates, 1st ed. doi: 10.1201/9780429198007
- Paxton H** (1993) *Diopatra* Audouin and Milne Edwards (Polychaeta: Onuphidae) from Australia, with a discussion of developmental patterns in the genus. *Beagle: Records of the Museums and Art Galleries of the Northern Territory*, The, 10, 115-154.
- Pires A, Freitas R, Quintino V, Rodrigues AM** (2012a) Can *Diopatra neapolitana* (Annelida: Onuphidae) regenerate body damage caused by bait digging or predation? *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 110: 36–42
- Pires A, Gentil F, Quintino V, Rodrigues AM** (2012b) Reproductive biology of *Diopatra neapolitana* (Annelida, Onuphidae), an exploited natural resource in Ria de Aveiro (Northwestern Portugal): Reproductive biology of *Diopatra neapolitana*. *Marine Ecology* 33: 56–65

- Pires A, Quintino V, Gentil F, Freitas R, Rodrigues AM** (2012c) Reproductive biology of a brooding *Diopatra* species: *Diopatra marocensis*. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 110: 85–92
- Premoli MC and Sella G** (1995) Sex economy in benthic polychaetes. *Ethol Ecol Evol*, 7: 27–48
- Rousselot M, Delpy E, Drieu La Rochelle C, Lagente V, Pirow R, Rees J-F, Hagege A, Le Guen D, Hourdez S, Zal F** (2006) *Arenicola marina* extracellular hemoglobin: a new promising blood substitute. *Biotechnol J* 1: 333–345
- Safarik M, Redden AM, Schreider MJ** (2006) Density-dependent growth of the polychaete *Diopatra aciculata*. *Sci Mar* 70: 337–341
- Santos A, Granada L, Baptista T, Anjos C, Simões T, Tecelão C, Fidalgo e Costa P, Costa JL, Pombo A** (2016) Effect of three diets on the growth and fatty acid profile of the common ragworm *Hediste diversicolor* (O.F. Müller, 1776). *Aquaculture* 465: 37–42
- Sella G** (1988) Reciprocation, reproductive success and safeguards against cheating in a hermaphroditic polychaete worm *Ophryotrocha diadema*, Åkesson 1976. *Biol Bull*, 175: 212–217.
- Sella G** (2006) *Reproductive Biology and Phylogeny of Annelida*, 1st Edition. CRC Press, Boca Raton.
- Sella G, Premoli MC and Turri F** (1997) Egg trading in simultaneously hermaphroditic polychaete worm *Ophryotrocha gracilis* (Huth). *Behav Ecol*, 8: 83–86.
- Thomsen MS, McGlathery K** (2005) Facilitation of macroalgae by the sedimentary tube forming polychaete *Diopatra cuprea*. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 62: 63–73
- Wethey DS and Woodin SA** (2008) Ecological hindcasting of biogeographic responses to climate change in the European intertidal zone. In *Challenges to marine ecosystems* (pp. 139–151). Springer, Dordrecht.
- Woodin SA, Wethey DS, Dubois SF** (2014) Population structure and spread of the polychaete *Diopatra biscayensis* along the French Atlantic coast: Human-assisted transport by-passes larval dispersal. *Marine Environmental Research* 102: 110–121.
- Zajac RN** (1985) The effects of sublethal predation on reproduction in the spionid polychaete *Polydora ligni* Webster. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 88(1), 1-19.

ANNEXES

Annexe 1 : Essai de suivi non invasif des cohortes en milieu naturel

Pour suivre la croissance des individus sauvages, en parallèle des expérimentations menées durant cette étude, un échantillon de 88 individus a été prélevé du milieu pour réaliser la même relation que Woodin et al. (2014). Les résultats obtenus ont révélé que la relation est faible ($R^2=0,05$). Cela peut s'expliquer par la différence d'intervalle de diamètre du 10^{ème} sétigère des individus choisis. En effet dans l'article en question, l'échantillon était composé de 17 vers de 1 à 5 mm de diamètre. Or l'échantillon récolté rassemble des vers avec un diamètre compris entre 5 et 10 mm. L'hypothèse la plus plausible est un phénomène d'« évasement » au niveau de l'ouverture du tube pour les vers avec un diamètre supérieur à 5 mm. Pour tester cette hypothèse deux mesures ont été effectués sur 16 individus : la partie haute du tube hors du sédiment et l'autre extrémité dans le sédiment. Les résultats montrent que 65% des tubes ont un diamètre différent entre la partie dans le sédiment plus étroite et l'extrémité à la surface. Pour confirmer cette hypothèse, le même test devra être réalisé sur des individus avec un diamètre inférieur à 5 mm.



Confrontation des différentes mesures de diamètres de vers et de tubes. Gauche - Mesure du 10^{ème} sétigère en mm (sans les parapodes) en fonction du diamètre de l'ouverture du tube en mm (N=88). Droite – Représentation du diamètre aux extrémités supérieures et inférieures pour un même tube (N=16, les points rouges représentent la superposition de l'orange et du bleu)



Les deux cônes de mesure avec quelques tubes (Laura Vasseur, CAPENA)

Annexe 2 : Composition des granulés utilisés pour nourrir les vers tubes.



INICIO Plus M

FRY FEED FOR MARINE SPECIES

PRODUCT FEATURES

Extruded mini pellets for marine fry. A feed with high digestibility, based on the best raw materials of marine origin. Great importance has been given to palatability, which together with a high protein content contributes to maximum growth and survival during the early life stages. The feed also contains immunomodulating ingredients and high levels of vitamins and minerals.

INICIO Plus M includes Bactocell[®] and B-WYSE[™]. This combination contributes to the improvement of performance parameters of the fry:

- Bactocell[®] - a probiotic that is documented for its potential to reduce vertebral deformities in marine larvae and fry
- B-WYSE[™] (BioMar Whole Yeast Synergistic Extracts) is a multi-strains yeast fraction that supports outer and inner barriers through an increase of mucus production, that increases microvilli density and that supports the gut flora of the fish due to its ability to bind to cell membranes.

INICIO Plus M is a dust free and very stable feed that is easy to use in automatic feeders.

PRODUCT FACTS

Composition: Fish meal, wheat, krill meal, fish oil, hydrolysed fish protein, wheat gluten, vitamins, minerals, yeast extracts, probiotics. The list of ingredients is indicative. For exact information please refer to label.

Declaration:

| | INICIO Plus M | | | INICIO Plus M | |
|-----------------|---------------|----------------|-------------|---------------|----------------|
| | 0.5 mm | 0.8 and 1.1 mm | | 0.5 mm | 0.8 and 1.1 mm |
| Crude proteins | 59 % | 57 % | vitC added | 1,000 mg/kg | 1,000 mg/kg |
| Crude lipids | 13 % | 15 % | vit E added | 400 mg/kg | 400 mg/kg |
| Crude ash | 11.9 % | 10.4 % | Phosphorus | 1.6 % | 1.6 % |
| Crude cellulose | 0.4 % | 0.4 % | | | |

Depending on producing factory and natural variations in raw materials, the information about carbohydrates, fibre and ash and about the composition may vary compared to the stated values. For further information and actual ingredients, please see the label.

Sizes: INICIO Plus M: 0.5 mm pellet
0.8 mm pellet
1.1 mm pellet

Storage: Store in a cool and dry place. Unopened, the product can be kept for at least 12 months after the date of manufacture.

PRODUCT USE

INICIO Plus M size 0.5/0.8 mm is subsequent to LARVIVA weaning products.

A typical feeding guide for marine species:

| | INICIO Plus M | | |
|--------------------|---------------|-------------|-------------|
| | 0.3 - 0.5 g | 0.5 - 1.0 g | 1.0 - 3.0 g |
| Fish size | 0.3 - 0.5 g | 0.5 - 1.0 g | 1.0 - 3.0 g |
| Pellet size | 0.5 mm | 0.8 mm | 1.1 mm |

Feeding ad libitum, depending on rearing temperature, local conditions and needs.

For adapted feeding protocols, please contact your local BioMar technical support

In the later nursery and grower stages continue with INICIO Plus 1.5 and 1.9 mm, and for sea bass, sea bream and meagre continue with INTRO Plus MT 1.5 and 1.9 mm.

Annexe 3 : Protocole de dissection et analyse des ovocytes sous le microscope.

Préparation de l'échantillon :

Etape 1 : Sortir les vers de leurs tubes et les stocker dans de l'eau de mer à la même température/salinité que le milieu naturel.

Etape 2 : Préparation d'une solution de surdosage de Chlorure de Magnésium dans le but de tuer les vers (20g dans 300mL d'eau de mer donc 67g/L). Dans l'article d'Arias et Paxton (2015), la solution anesthésiante est à 7,5% de $MgCl_2$ mais le but n'est pas de tuer l'animal (photographie 1).

Attention : Ne pas laisser les vers trop de temps dans la solution de $MgCl_2$ pour éviter que les tissus/organites ne se dégradent à cause du produit chimique. Laisser les vers en attente dans de l'eau de mer saine puis en mettre quelques-uns dans la solution et en ajouter au fur et à mesure.

Etape 3 : S'assurer que le ver est bien mort en testant les réactions à des stimuli physiques puis vérifier qu'il s'agit de l'espèce *Diopatra biscayensis* (un lobe chaetal sur les premiers parapodes modifiés).

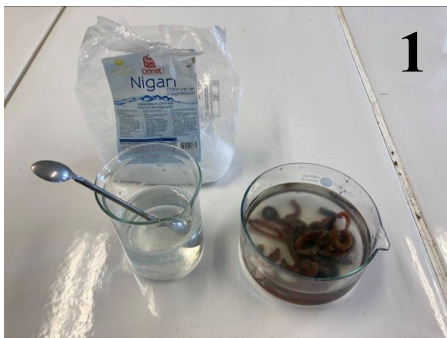
Etape 4 : Positionner le ver en mettant sa partie ventrale en évidence. Compter les cinquante sétigères en partant de la tête, et faire une incision à ce niveau (photographie 2). Diluer le liquide cœlomique avec de l'eau de mer et récupérer au moins 0,5mL de ce mélange (photographie 3).

Etape 5 : Disposer ces 0,5mL sur une cellule de comptage (notamment utilisé pour le comptage des larves d'huitres) et regarder sous un microscope optique (photographie 4).

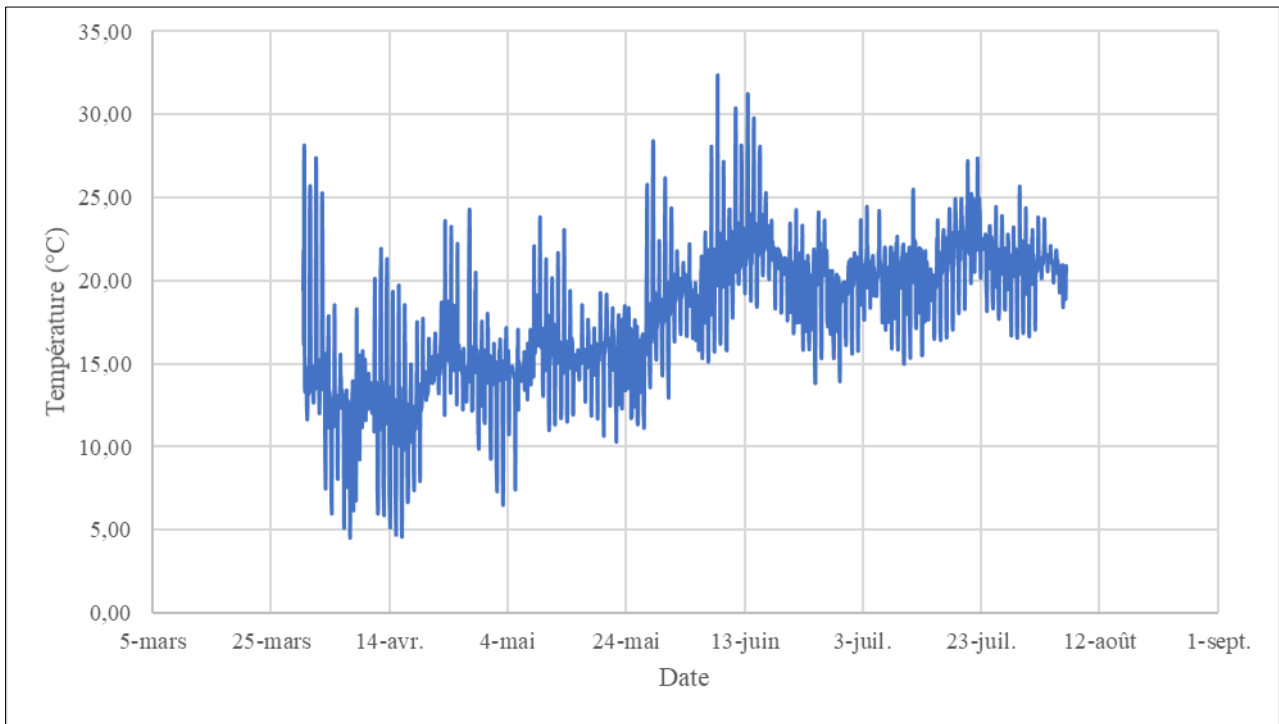
Analyse des ovocytes sous le microscope :

Etape 6 : Relever le diamètre de quarante ovocytes par ver. Utiliser les cellules de comptage pour se repérer et éviter de relever le diamètre d'un même ovocyte.

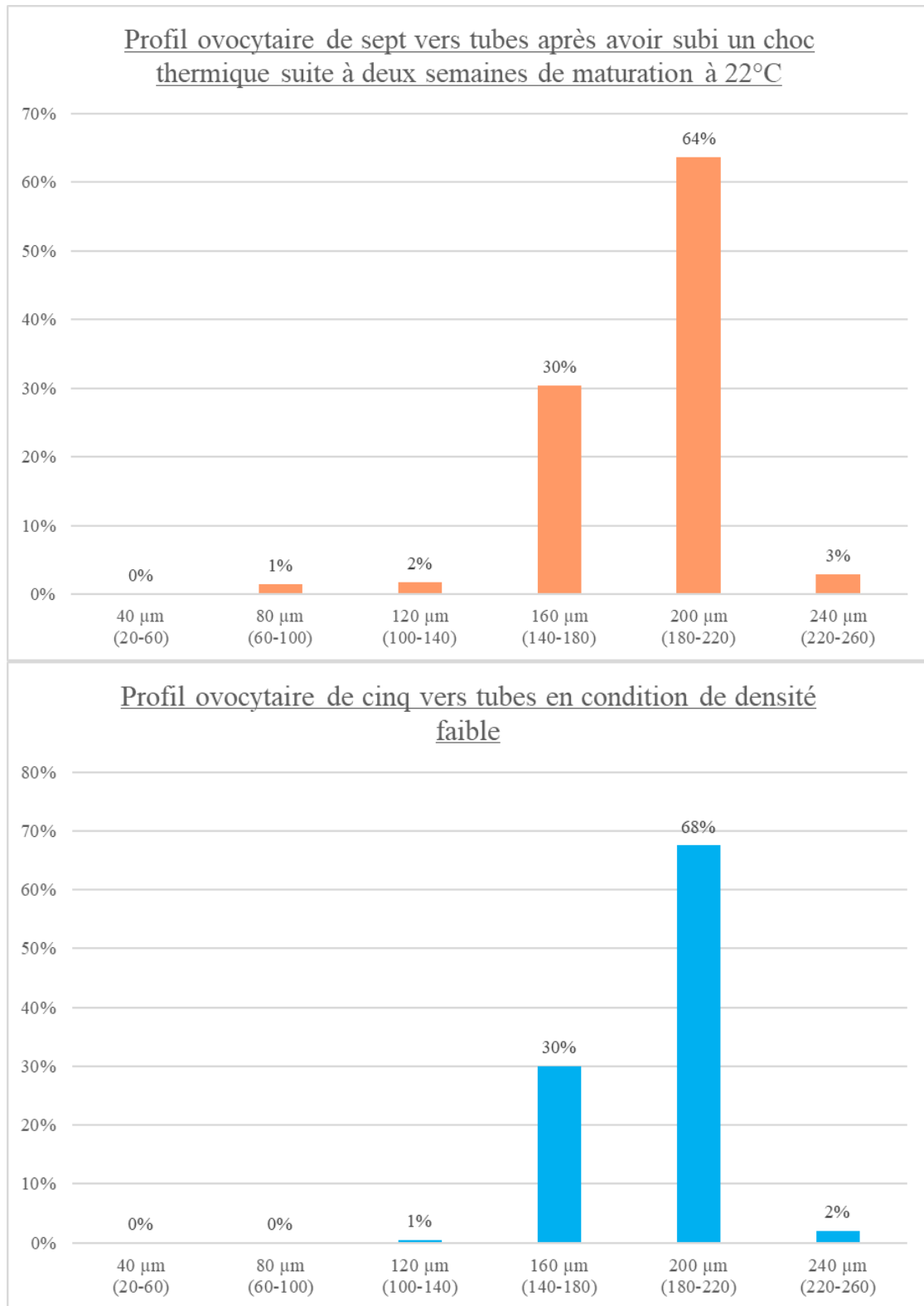
Etape 7 : Si l'ovocyte est circulaire de façon homogène, alors prendre une seule valeur du diamètre. Au contraire, si l'ovocyte a une forme hétérogène alors faire la moyenne entre la plus courte et longue distance.



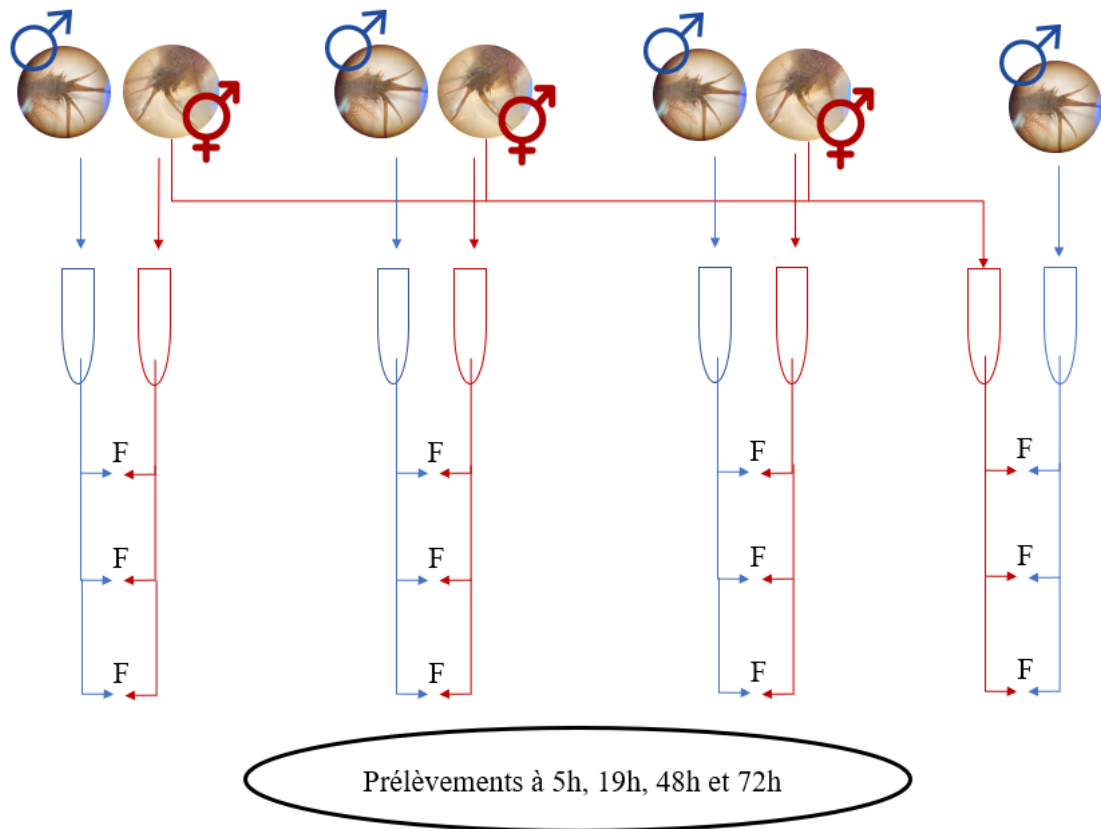
Annexe 4 : Suivi de la température en fonction du marnage, sur la plage du Soleil à Saint-Trojan-les-Bains.



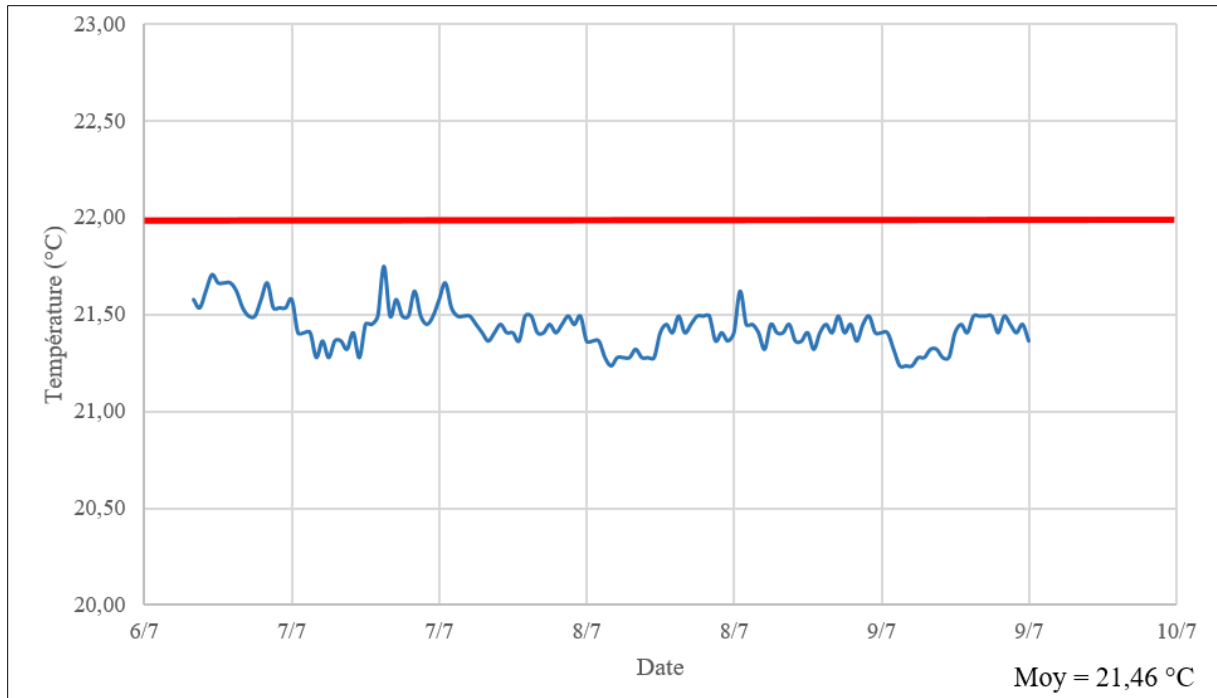
Annexe 5 : Résultats de la maturation ovocytaire dans le cas d'une densité faible (125 ind/m²) et d'un choc thermique suite à deux semaines de maturation.



Annexe 6 : Schéma simplifié représentant le protocole réalisé pour l'expérimentation de la fécondation artificielle (F = fécondation, Laura Vasseur, CAPENA).

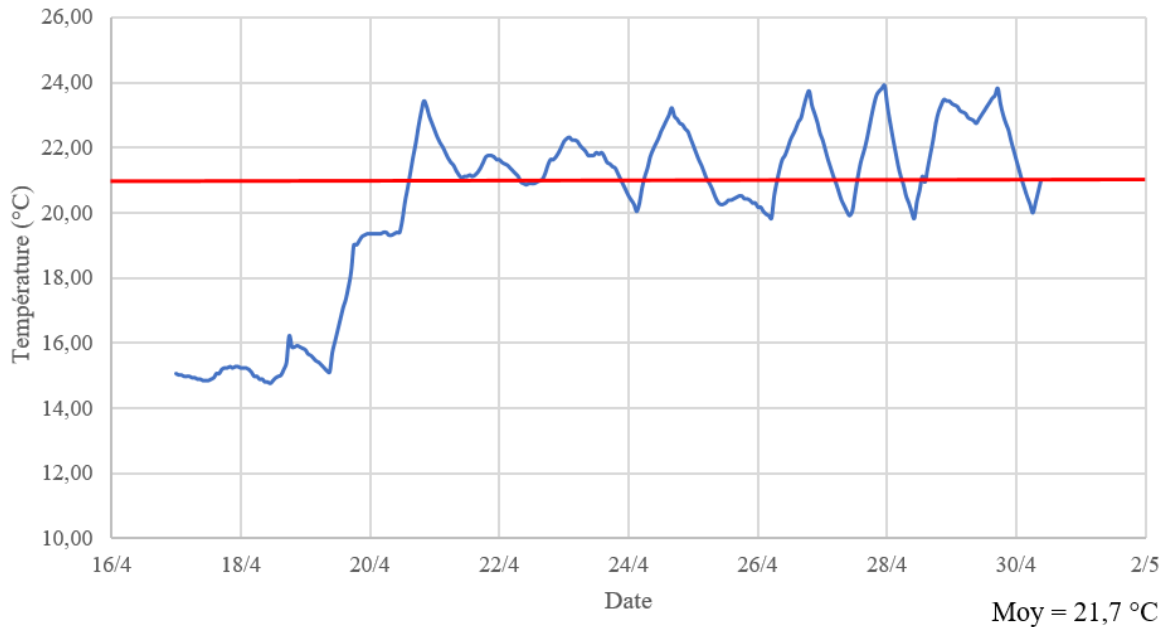


Annexe 7 : Suivi de la température de la salle d'incubation pour l'expérience de reproduction artificielle entre le 6 et le 9 juillet.

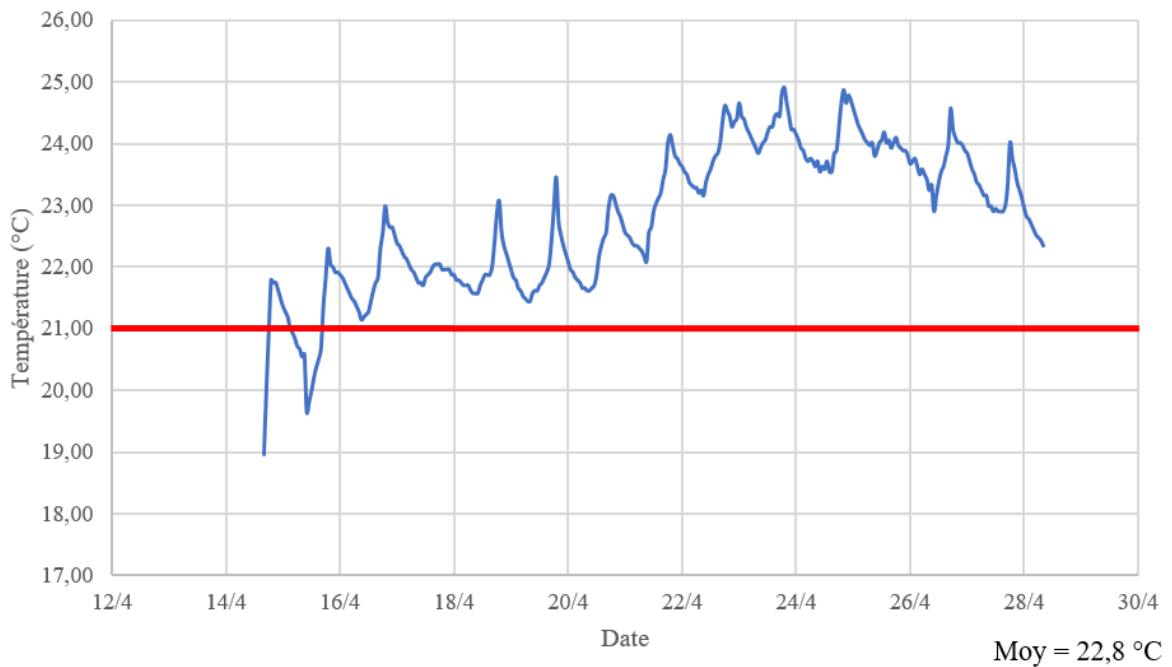


Annexe 8 : Suivi des températures de l'expérience comparant la méthode d'augmentation progressive de la température et du choc thermique.

Température de l'eau pour l'aquarium simulant une augmentation progressive de la température à 21°C



Evolution de la température pour l'aquarium simulant un choc thermique



Annexe 9 : Résumé des tests du χ^2 pour comparer chaque classe de diamètre ovocytaire en fonction du temps de prélèvement (T0, T1 = 1 semaine ou T2 = 2 semaines) pour l'espèce *D.biscayensis* (dl =1) et en fonction des conditions thermiques : Gauche – Augmentation progressive de la température à 21°C et Droite – Choc thermique à 21°C.

| Temps | Taille | N_{T0} | N_{T1} | N_{T2} | F_{χ^2} | p-value | Temps | Taille | N_{T0} | N_{T1} | N_{T2} | F_{χ^2} | p-value |
|-------|--------|----------|----------|----------|--------------|---------------------------------|-------|--------|----------|----------|----------|--------------|------------------------------|
| T0/T1 | 40 | 233 | 52 | | 22 | $2,721 \times 10^{-6}$ (***) | T0/T1 | 40 | 233 | 106 | | 8,8 | $0,3 \times 10^{-2}$ (**) |
| | 80 | 125 | 86 | | 0,39 | 0,53 | | 80 | 125 | 166 | | 2,45 | 0,12 |
| | 120 | 46 | 67 | | 2,29 | 0,13 | | 120 | 46 | 63 | | 1,07 | 0,3 |
| | 160 | 35 | 101 | | 11,22 | $0,8 \times 10^{-3}$ (***) | | 160 | 35 | 30 | | 0,13 | 0,91 |
| | 200 | 1 | 48 | | 12,7 | $0,3 \times 10^{-3}$ (***) | | 200 | 1 | 32 | | 7,34 | $0,7 \times 10^{-2}$ (**) |
| | 240 | 0 | 6 | | 1,67 | 0,2 | 240 | 0 | 3 | | 0,75 | 0,39 | |
| T1/T2 | 40 | | 52 | 15 | 7,2 | $0,6 \times 10^{-2}$ (**) | T1/T2 | 40 | | 106 | 55 | 2 | 0,16 |
| | 80 | | 86 | 51 | 5,1 | 0,02 (*) | | 80 | | 166 | 92 | 2,31 | 0,13 |
| | 120 | | 67 | 51 | 2,2 | 0,17 | | 120 | | 63 | 59 | 0,21 | 0,65 |
| | 160 | | 101 | 91 | 1,7 | 0,18 | | 160 | | 30 | 57 | 4,2 | 0,04 (*) |
| | 200 | | 48 | 219 | 17,7 | $2,6 \times 10^{-5}$ (***) | | 200 | | 32 | 56 | 3,53 | 0,06 |
| | 240 | | 6 | 51 | 6,5 | 0,01(*) | | 240 | | 3 | 1 | 0,18 | 0,67 |

* (P<0,05), ** (P<0,01), *** (P<0,001)

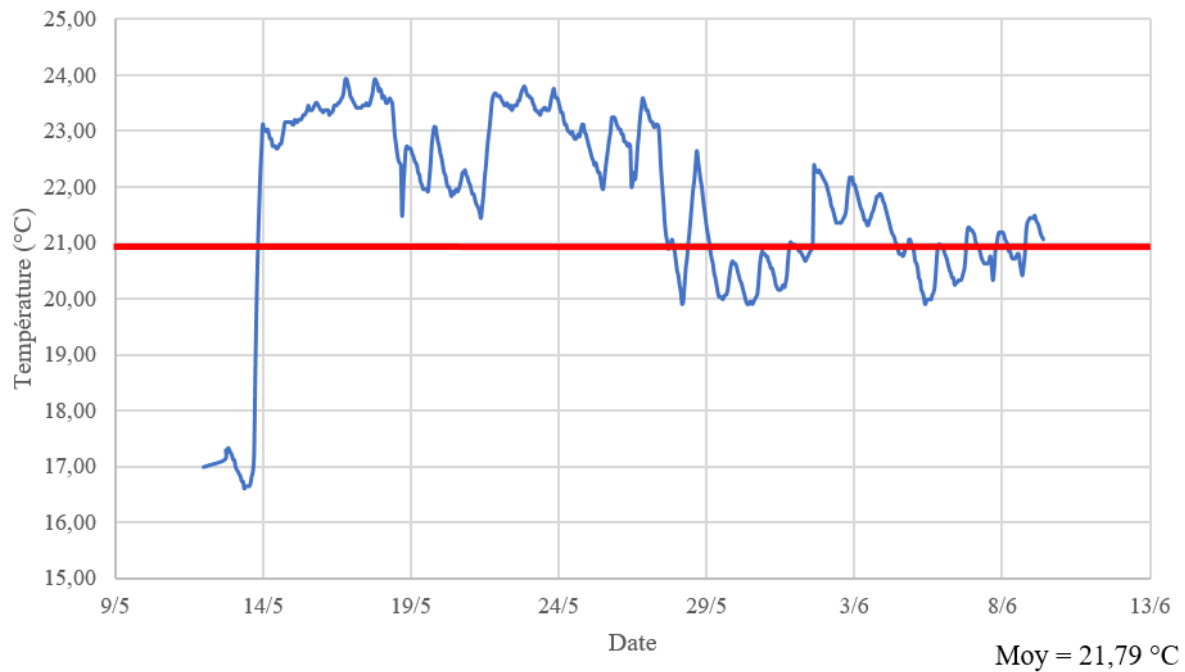
Annexe 10 : Résumé des tests du χ^2 pour comparer chaque classe de diamètre ovocytaire en fonction du temps de prélèvement (T0, T1 = 2 semaines ou T2 = 1 mois) pour l'espèce *D.biscayensis* (dl =1) et en fonction des conditions thermiques : Gauche – Augmentation progressive à 21°C et Droite – Augmentation progressive à 25°C.

| Temps | Taille | N_{T0} | N_{T1} | N_{T2} | F_{χ^2} | p-value | Temps | Taille | N_{T0} | N_{T1} | N_{T2} | F_{χ^2} | p-value |
|-------|--------|----------|----------|----------|--------------|-----------------------------|-------|--------|----------|----------|----------|--------------|-----------------------------|
| T0/T1 | 40 | 40 | 4 | | 7,36 | $0,7 \times 10^{-2}$ (**) | T0/T1 | 40 | 40 | 34 | | 0,29 | 0,59 |
| | 80 | 104 | 8 | | 20,57 | $5,75 \times 10^{-6}$ (***) | | 80 | 104 | 48 | | 6,17 | 0,13 |
| | 120 | 79 | 9 | | 13,92 | $0,19 \times 10^{-3}$ (***) | | 120 | 79 | 10 | | 13,87 | $0,19 \times 10^{-3}$ (***) |
| | 160 | 48 | 59 | | 0,28 | 0,59 | | 160 | 48 | 19 | | 3,62 | 0,057 |
| | 200 | 82 | 298 | | 30,69 | $3,02 \times 10^{-8}$ (***) | | 200 | 82 | 299 | | 25,46 | $4,52 \times 10^{-7}$ (***) |
| | 240 | 46 | 22 | | 2,12 | 0,15 | | 240 | 46 | 28 | | 1,48 | 0,24 |
| T1/T2 | 40 | | 4 | 2 | 0,24 | 0,62 | T1/T2 | 40 | | 34 | 11 | 2,94 | 0,086 |
| | 80 | | 8 | 22 | 1,01 | 0,31 | | 80 | | 48 | 22 | 2,58 | 0,11 |
| | 120 | | 9 | 29 | 1,73 | 0,19 | | 120 | | 10 | 27 | 1,42 | 0,23 |
| | 160 | | 59 | 92 | 0,58 | 0,44 | | 160 | | 19 | 86 | 8,32 | $0,39 \times 10^{-2}$ (**) |
| | 200 | | 298 | 280 | 1,97 | 0,16 | | 200 | | 299 | 286 | 0,55 | 0,46 |
| | 240 | | 22 | 55 | 2,09 | 0,15 | | 240 | | 28 | 48 | 0,8 | 0,37 |

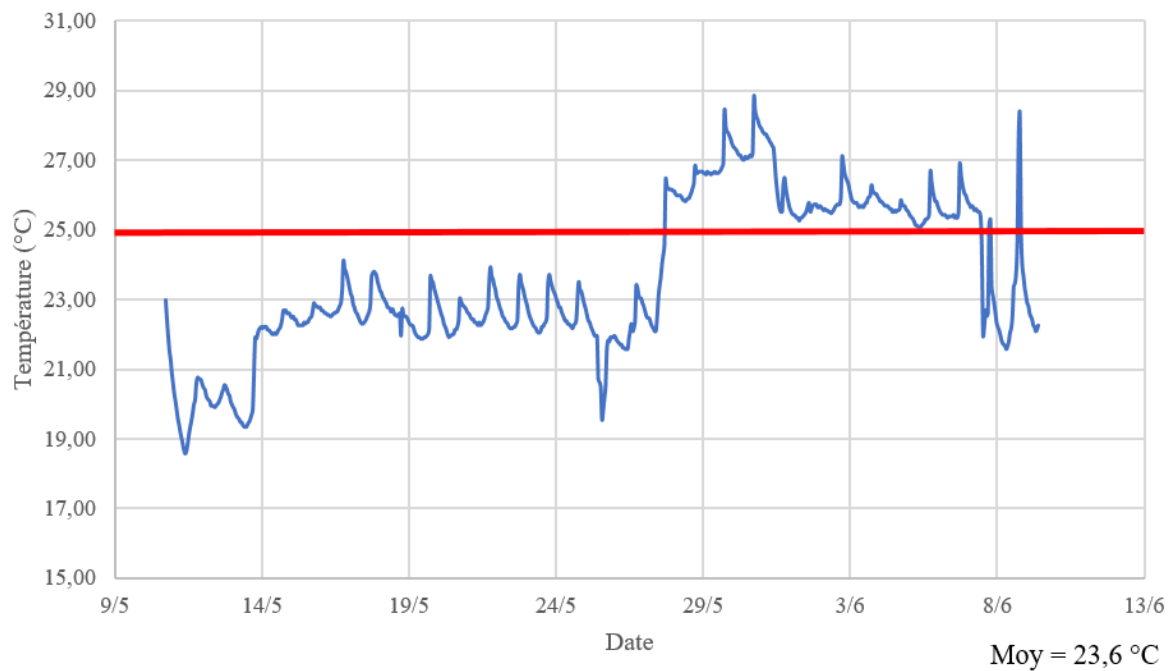
* (P<0,05), ** (P<0,01), *** (P<0,001)

Annexe 11 : Suivi des températures de l'expérience comparant la méthode d'augmentation progressive de 21 et 25°C sur une période d'un mois.

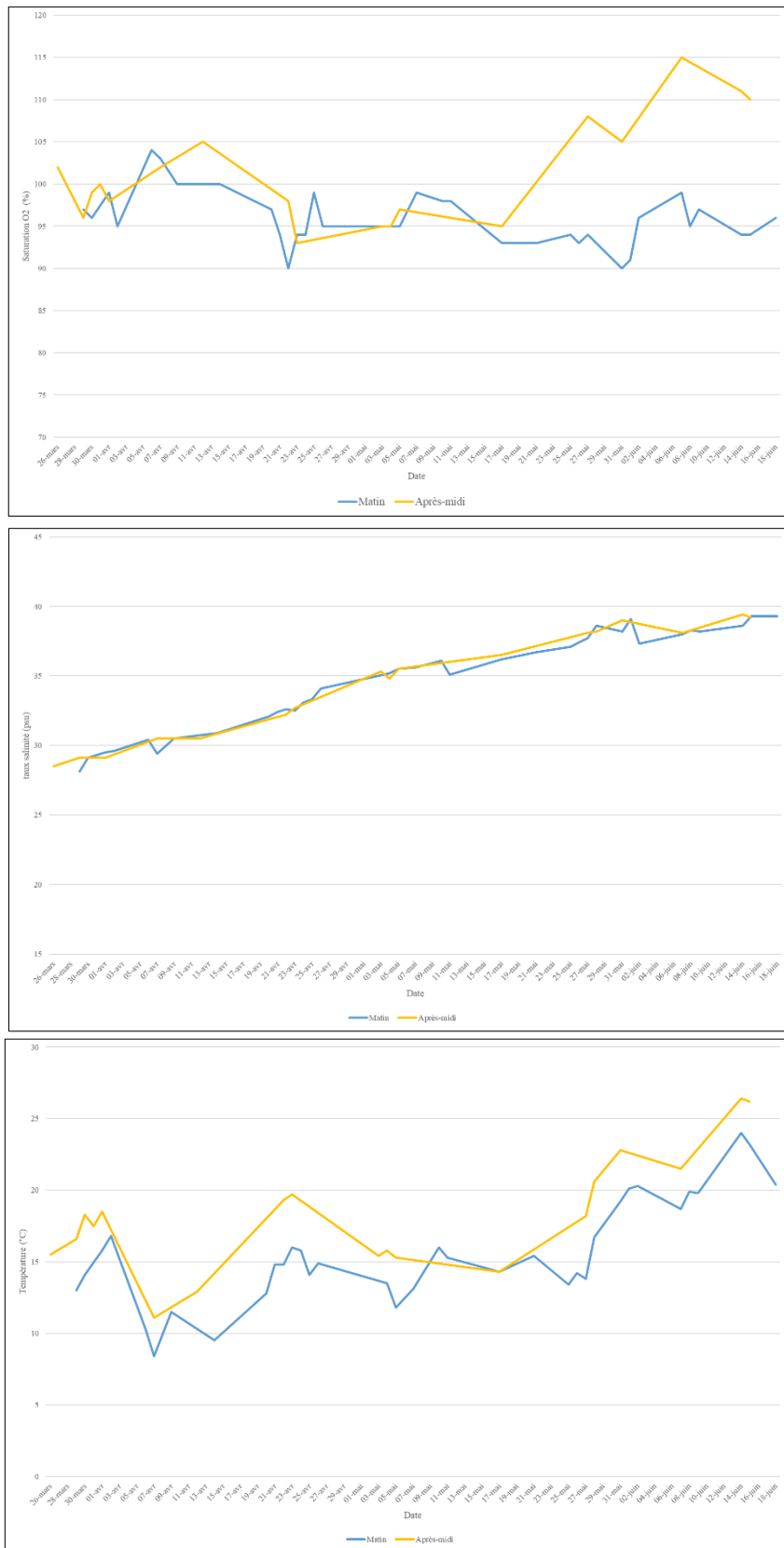
Evolution de la température pour l'aquarium simulant une augmentation à 21°C pendant 1 mois



Evolution de la température pour l'aquarium simulant une augmentation à 25°C pendant 1 mois



Annexe 12 : Suivi des paramètres de l'expérimentation en système clos portant sur le facteur d'oxygénation du sédiment.



Annexe 13 : Résultats des deux tests non paramétriques pour l'expérimentation avec des sédiments oxygénés et non oxygénés.

Résumé du test non paramétrique de Wilcoxon pour la comparaison des poids individuels de *D.biscayensis* deux à deux par temps en fonction du traitement « bac troué » ou « bac non troué ».

Résumé du test non paramétrique de Kruskal – Wallis pour la comparaison des poids individuels des individus *D.biscayensis* par temps en fonction du traitement « bac troué » ou « bac non troué »

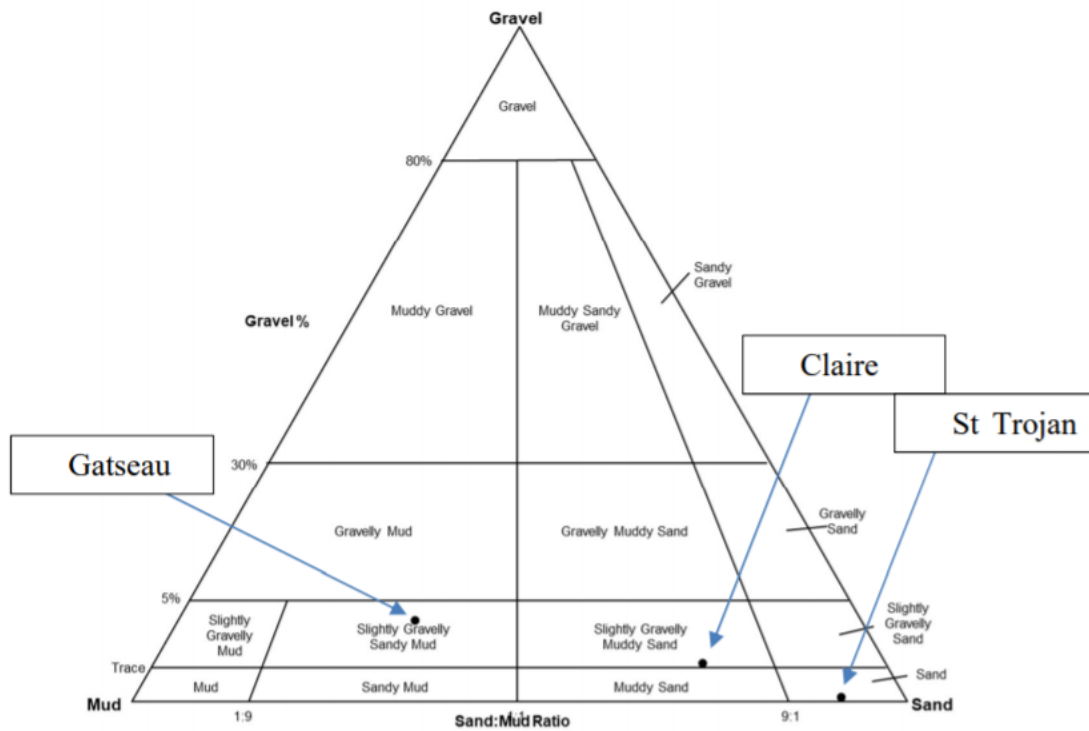
| | <i>Poids ~ temps</i> | <i>N</i> | <i>W</i> | <i>p-value</i> |
|----------------------|----------------------|----------|----------|----------------------------------|
| <i>Bac troué</i> | T0/T1 | 135 | 1896 | 0,089 |
| | T1/T2 | 56 | 132 | 2,25 x 10 ⁻⁵ (***) |
| | T2/T3 | 49 | 260,5 | 0,45 |
| <i>Bac non troué</i> | T0/T1 | 140 | 1927 | 0,67 |
| | T1/T2 | 70 | 194 | 8,6 x 10 ⁻⁷ (***) |
| | T2/T3 | 62 | 500,5 | 0,67 |

* (P<0,05), ** (P<0,01), *** (P<0,001)

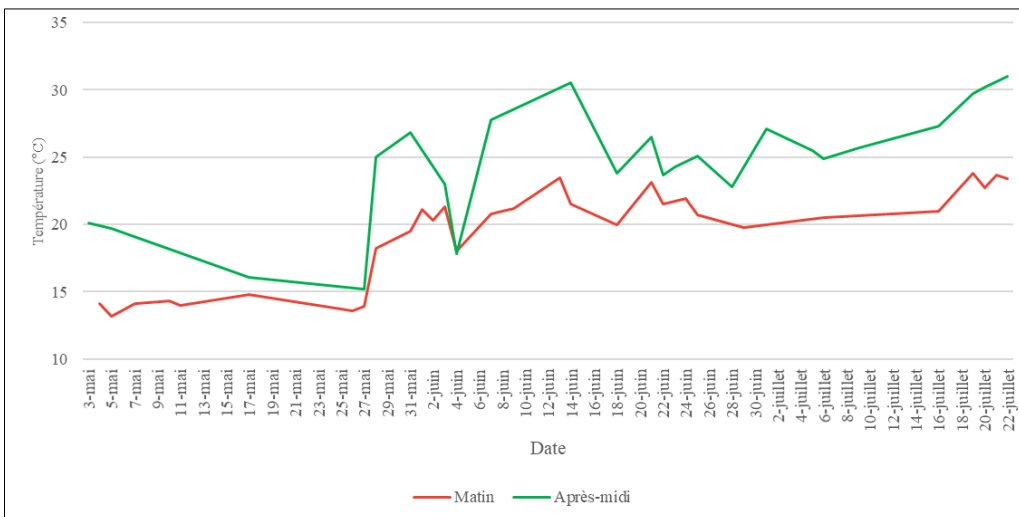
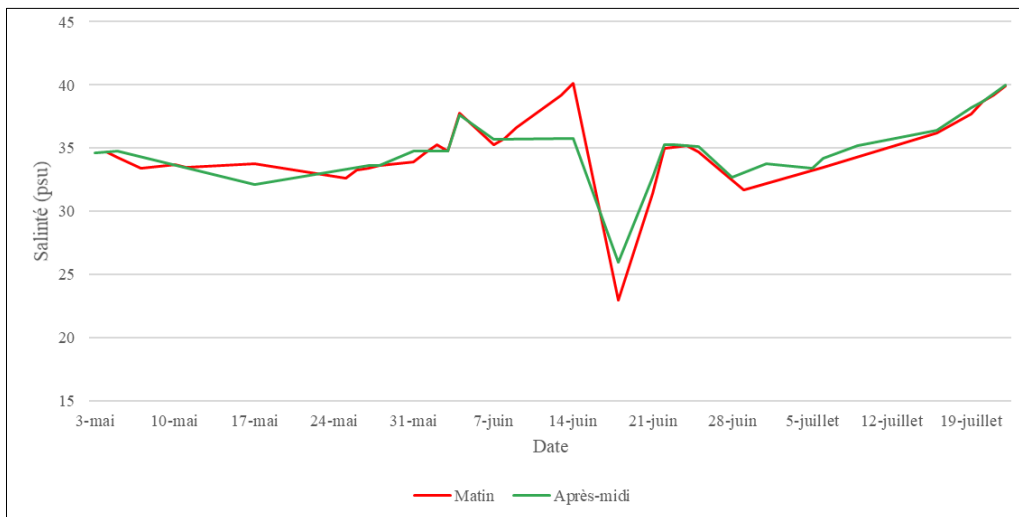
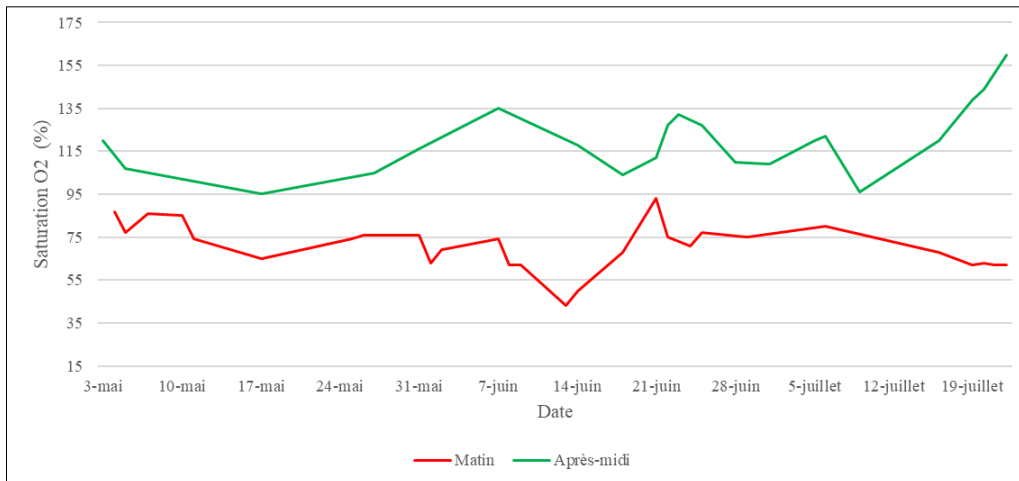
| <i>Poids ~ Traitement</i> | <i>N</i> | <i>F Kruskal-Wallis</i> | <i>p-value</i> |
|---------------------------|----------|-------------------------|----------------|
| <i>T0</i> | 210 | 5,72 | 0,016 (*) |
| <i>T1</i> | 65 | 0,03 | 0,87 |
| <i>T2</i> | 61 | 0,39 | 0,53 |
| <i>T3</i> | 50 | 4,24 | 0,04 (*) |

Annexe 14 : Résultats de l'analyse de granulométrie sur tamis pour les trois stations Saint-Trojan-les-Bains, Gatseau et la claire du CAPENA (Gravel mud sand diagram).

Réalisation par la cellule COHABYS.



Annexe 15 : Suivis des paramètres de l'expérimentation en claire du CAPENA.

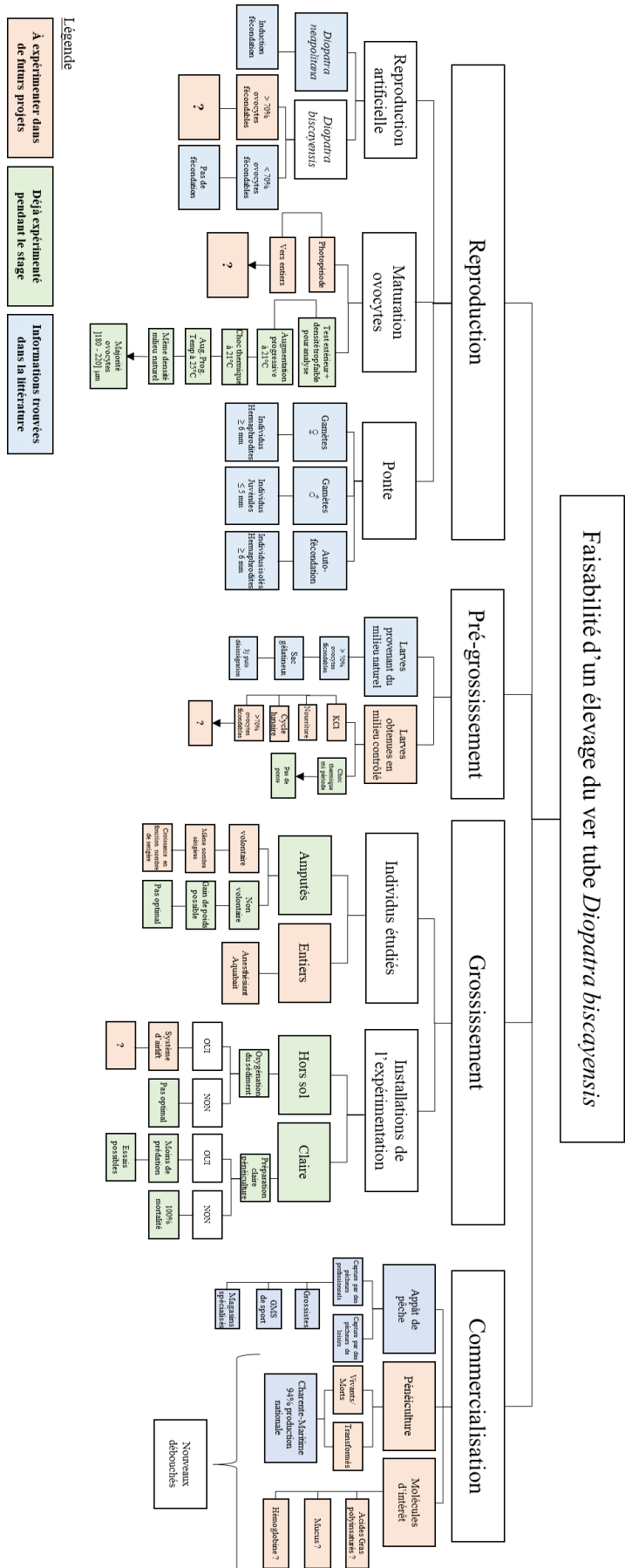


Annexe 16 : Résumé du test non paramétrique de Wilcoxon pour la comparaison des poids individuels des individus *D.biscayensis* deux à deux par temps de prélèvement pour l'expérimentation en claire ostréicole.

| <i>Temps</i> | <i>N</i> | <i>W</i> | <i>p-value</i> |
|--------------|----------|----------|------------------------------|
| T0/T1 | 166 | 1685 | 0,55 |
| T1/T2 | 55 | 453,5 | 0,2 |
| T2/T3 | 54 | 130,5 | 5,6 x 10 ⁻⁵ (***) |
| T3/T4 | 42 | 264,5 | 0,19 |

* (P<0,05), ** (P<0,01), *** (P<0,001)

Annexe 17 : Schéma récapitulatif des résultats/connaissances par axes développés lors de ce travail et ce qui reste à expérimenter. Le nom anglais de ce type de schéma est « Flowchart »



Résumé :

L'élevage de ver tube *Diopatra biscayensis* est un projet ambitieux en raison du peu d'informations disponibles sur sa biologie. Sa description en 2012 est récente, et la forte disparité des modes de reproduction du genre *Diopatra* complique la compréhension de son cycle de vie. Ce travail a pour objectif d'évaluer les premières solutions zootechniques pour développer l'aquaculture de l'espèce *Diopatra biscayensis*, en déterminant les conditions favorables à la reproduction et la croissance de cet organisme. La hausse progressive de la température de l'eau jusqu'à 21°C induit la maturation des gamètes. Une augmentation du diamètre ovocytaire moyen a été observé mais sans atteindre 70% d'ovocytes fécondables de diamètre compris entre 220 et 260 µm, nécessaires pour le déclenchement de la ponte. D'autre part, la croissance des vers tubes a été étudiée dans différentes conditions : élevage en hors sol, et en claires. Dans ces deux expérimentations une augmentation du poids moyen individuel a été observée. Le principal biais dans ce projet est l'utilisation de vers tubes coupés au moment du prélèvement dans le milieu naturel. D'après la littérature, dans ces circonstances, les vers monopoliseraient davantage leur énergie pour se reconstruire que pour la reproduction. Une des solutions pour palier à ce problème serait l'utilisation d'un anesthésiant (à mettre au point), similaire à celui utilisé dans l'élevage de l'entreprise australienne Aquabait, pour les récolter sans les blesser. Les résultats obtenus durant ce projet ouvrent des pistes de réflexion (cycle lunaire pour la reproduction, utilisation d'individus entiers, système d'airlift...) pour poursuivre le travail sur la maîtrise de l'élevage du ver tube *Diopatra biscayensis*.

Summary :

Rearing of the tube worm *Diopatra biscayensis* is an ambitious project due to limited information available on its biology. Its description in 2012 is recent, and the strong disparity in the modes of reproduction of the genus *Diopatra* complicates the understanding of its life cycle. This work aims to evaluate the first zootechnical solutions to develop aquaculture of the species *Diopatra biscayensis*, by determining the optimal conditions to achieve reproduction and growth of this organism. A gradual increase in the temperature of the water to 21° C induces maturation of the gametes. An increase in the average oocyte diameter was observed without reaching 70% of fertilizable oocytes, with a diameter between 220 and 260 µm, necessary for the initiation of spawning. On the other hand, growth of the tube worms has been studied under different conditions, rearing aboveground and in clear oyster. In these two experiments, an increase in the average individual weight was observed. The main bias in this project is the use of cut tube worms at the time of collection in the natural environment. According to the literature, under these circumstances, worms would monopolize their energy more for rebuilding than for reproduction. One solution to this problem would be to use an anesthetic (to be developed), similar to that used in the breeding of the Australian company Aquabait, to harvest them without harming them. The results obtained during this project open up avenues for reflection (lunar cycle for reproduction, use of whole individuals, airlift system) to pursue work on controlling the rearing of the tube worm *Diopatra biscayensis*.