



Faculté des sciences de l'Université de Montpellier

Restaurer la Grande Nacre *Pinna nobilis* en Méditerranée : mythe ou réalité ?

Réalisé dans le cadre du Diplôme d'Université :
« Restauration écologique des petits fonds marins côtiers »
Année 2023

Eric PERRIER

Tutrice : Julie Deter

Rapporteur : Pierre Boissery

Remerciements :

Je souhaite remercier l'ensemble de l'équipe pédagogique du Diplôme Universitaire de l'Université de Montpellier, qui a pensé cette formation comme devant être accessible à tous, et qui nous permet d'imaginer et de construire, des pistes de restauration de notre maison Méditerranée.

Merci aux Universitaires et aux Professionnels de la filière de la restauration écologique en Méditerranée qui ont organisé le programme, une équipe composée de :

Philippe LENFANT, professeur à l'Université de Perpignan,
Pierre BOISSERY, chargé de l'expertise pour la mer et le littoral méditerranéen au sein de l'Agence de l'eau Rhône-Méditerranée-Corse,
Gilles LECAILLON, président fondateur d'Ecocean,
Gwenaëlle DELARUELLE, chargée de projets chez Andromède Océanologie,
Olivier BOCQUET, directeur de Lab ROUGERIE + TANGRAM.

Je remercie aussi ma tutrice éclairante Julie DETER, et Julie BORELL pour avoir été à l'initiative de cette formation passionnante et inspirante.

Enfin, merci à mes jeunes collègues de formation : « Quelle belle dynamique, surtout ne lâchez rien ! »

Pour citer ce document : Perrier E. 2023, « Réhabiliter la grande nacre *Pinna nobilis* en Méditerranée : mythe ou réalité ? », DU Restauration Ecologique des petits fonds marins côtiers, promotion 2023, Université de Montpellier, France.

Table des Figures

Figure 1 : Quelques espèces de <i>Pinna</i> , selon le site internet du WoRMS.....	5
Figure 2 : « Soie de mer » issue du byssus de <i>P. nobilis</i>	6
Figure 3 : Byssus tricoté.....	6
Figure 4 : Grande nacre entourée par des ancrages, baie de Cagnes sur Mer en 2007.....	7
Figure 5 : Formes caractéristiques : A sur matre et juvénile, B adulte et dans herbiers.....	8
Figure 6 : Cycle de vie des grandes nacres.....	11
Figure 7 : Photo en MEB d'un spore du parasite <i>Haplosporidium pinnae</i>	12
Figure 8 : MME : évolution de la mortalité entre printemps 2018 et 2021.....	13
Figure 9 : Présentation des catégories de l'UICN utilisées à une échelle nationale.....	14
Figure 10 : Cartes des sites étudiés, les abondances estimées respectives de grandes nacres ...	15
Figure 11 : Recensement Hippo-Thau 2022 : grandes nacres vivantes.....	16
Figure 12 : Population de grandes nacres, étang de Thau, mission Hippo-Thau.....	17
Figure 13 : Détail d'un collecteur (haut) et d'une ligne de collecteur (bas).....	19
Figure 14 : Détail d'une ligne de collecteurs en pleine eau.....	20
Figure 15 : Juvéniles de <i>P. nobilis</i> dans le collecteur.....	21
Figure 16 : Juvéniles de <i>P. nobilis</i> placées dans des cages métalliques individuelles.....	21
Figure 17 : Relation entre nombre d'ovocytes émis et taille de la nacre.....	22
Figure 18 : Juvéniles de 4-5 cm de <i>P. nobilis</i> (gauche) et de <i>P. rudis</i> (droite).....	26
Figure 19 : Détection de <i>H. pinnae</i> dans l'eau de différentes origines.....	30
Figure 20 : Phénotypes caractéristiques de <i>P. nobilis</i> (gauche) et de <i>P. rudis</i> (droite).....	32
Figure 21 : Mortalité en fonction de la salinité de Alfacs Bay et de Fangar Bay en Espagne.....	34
Figure 22 : Mortalité de <i>Pinna nobilis</i> en fonction de la salinité.....	35
Figure 23 : Salinité de 16 lagunes françaises.....	35
Figure 24 : Salinité Mer Méditerranée, Mer de Marmara et Mer Noire.....	36
Figure 25 : Température moyenne de surface de la Méditerranée entre 2003 et 2019.....	36
Figure 26 : Le risque d'extinction de <i>Pinna nobilis</i> est bien réel.....	41

Liste des tableaux

Tableau 1 : « Table de vie » (taille vs âge) de <i>Pinna nobilis</i>	9
Tableau 2 : Période de reproduction de <i>Pinna nobilis</i>	10
Tableau 3 : Chronologie de la formation et évolution de la taille des larves	23
Tableau 4 : Synthèse des transplantations décrites dans la littérature.....	24

Résumé

Le bassin méditerranéen est un « point chaud » de biodiversité. Les espèces endémiques peuvent être soumises à des stress anthropiques ou climatiques pouvant conduire à leur disparition. La grande nacre (*Pinna nobilis*) qui subissait une disparition progressive avec la destruction de son habitat privilégié à cause des ancrages dans l'herbier de posidonies a vu sa population croître à nouveau jusqu'en 2016. A partir de cette date, une parasitose venue probablement d'Espagne (eau de ballast ?) s'est étendue à une vitesse folle détruisant près de 100% de la population de *P. nobilis*. Les populations résiduelles sont désormais concentrées dans les eaux à faible salinité : lagunes, mer de Marmara... Il semblerait que le parasite responsable de ce Massive Mortal Event (MME) soit sensible à la salinité et soit moins virulent au froid.

Des solutions de restaurations se sont progressivement développées :

- transplantation de nacres jeunes ou adultes avec un très bon taux de réussite et des bonnes pratiques qui commencent à se dégager (Guide de transplantation disponible),
- récupération de naissains avec des méthodologies de collecte et de préservation en mer éprouvées (guide de l'UICN),
- récupération des ovocytes et fécondations in vitro : si la technique de fécondation fonctionne désormais bien, la qualité de la nourriture à utiliser pour nourrir et faire en sorte que les larves se développent n'est pas encore au point. Des recherches doivent être conduites afin de trouver des solutions réellement efficaces.

Néanmoins ces solutions ne sont pas viables car le parasite *Haplosporidium pinnae* est retrouvé en mer, dans tous les prélèvements effectués. Absent seulement des lagunes, ces dernières deviennent des sanctuaires à préserver.

Si la voie de la salinité et celle de la température ne peuvent pas être utilisées pour les actions de restauration, la voie des individus résistants/tolérants pourrait être envisageable. Existents-ils et combien sont-ils ? Leur descendance seront-elles résistantes/tolérantes également ? Ces individus sont-ils bien de l'espèce *P. nobilis* ou sont-ils des hybrides de *P. nobilis* et de *P. rudis* naturellement présents et résistants ?

Etudier les gènes et les fonctions biologiques qui confèrent à *P. rudis* (et à ses hybrides) cette résistance/tolérance pourrait permettre de mieux comprendre quels gènes *P. nobilis* devrait acquérir pour devenir tolérant/résistant. Se posera alors la question de fournir ces gènes à *P. nobilis* soit durablement (OGM) soit ponctuellement, ce qui devra faire l'objet de larges discussions éthiques.

Mots clés : grande nacre, *Pinna nobilis*, *P. rudis*, *Haplosporidium pinnae*, parasitose, transplantation, aquaculture, restauration écologique, limites, lagune, salinité, température, MME

Abstract

The Mediterranean Sea is a biodiversity « hot spot ». Endemic species could be submitted to anthropic or climatic stresses that may induce their disparition. Fan mussel (*Pinna nobilis*) which was previously suffering from the progressive regression or disparition of its privileged habitat because of boat anchoring into *Posidania oceanica*, have seen its population growing again untill 2016. From this date, a parasite coming form Spain (ballast water ?) has developped incredibly rapidly through the Mediterranean Sea, destroying close to 100% of the population of *P. nobilis*. Residual populations are now concentrated in low salinity water: lagoons all around the Mediterranean sea and Marmara Sea... This parasite, responsible of this Massive Mortal Event (MME) seems to be salinity sensitive and less virulent on low temperatures.

Restauration solutions have been progressively developped:

- transplantation of young and adult fan mussel, with a very high level of confidence and success, and best practices which have been published,
- spat collection with collectors developped on purpose and methodologies published by IUCN,
- oocytes recuperation and in vitro fecondation: the technic itself is now working very well and has been published and improved, but the food provided to the larvae is not optimal and an intensive research should be done to feed correctly the larvae.

Meanwhile, these restauration solutions are not viable, because the parasite *Haplosporidium pinnae* is still found in open sea, in all samples analysed. Not present in lagoons, they now become real sanctuaries that must be protected to protect this endangered specie.

If the salinity and the temperature ways are not able to be used for restauration purpose of the open sea, studying the resistant/tolerant isolated individuals could be important. Are they really existing and how many they are? Are descendants carrying the same resistance/tolerance? Are they from *P. nobilis* species or are they natural hybridization results of *P. nobilis* with *P. rubis* which is naturally resistant to *H. pinnae*?

Studying genes and biological functions that allow *P. rubis* (and its hybrides) to be resistant to the parasite may allow to better understand which genes *P. nobilis* should acquire to become tolerant/resistant. The next question will be then, to supply thoses genes to *P. nobilis* either definitively (GMO) or ponctually (mRNA vaccines for instance), which should be the subject of large ethical discussions.

Mots clés : fan mussel, *Pinna nobilis*, *Pinna rudis*, *Haplosporidium pinnae*, parasitose transplantation, aquaculture, ecological restauration, limits, lagoon, salinity, temperature, MME

Sommaire

1. Introduction.....	5
1.1. Contexte général.....	5
1.2. Situation générale des grandes nacres.....	6
1.3. Biologie et écologie des grandes nacres.....	7
1.3.1. Physiologie.....	9
1.3.2. Reproduction.....	10
1.4. Menaces sur les grandes nacres de Méditerranée.....	11
1.5. Espoirs pour les grandes nacres de Méditerranée.....	12
2. Objectifs.....	17
3. Expérimentations de restauration.....	18
3.1. Les techniques de restauration.....	18
3.1.1. La transplantation.....	18
3.1.2. Recrutement des post larves.....	19
3.1.3. La récupération de gamètes et la formation des larves.....	22
3.2. Quelles leçons tirons-nous des expérimentations passées et en cours ?.....	24
3.2.1. La transplantation.....	24
3.2.2. Recrutement des post larves.....	25
3.2.3. La récupération de gamètes et la formation des larves.....	27
4. Discussion.....	28
4.1. Limites des techniques.....	28
4.2. La parasitose.....	30
4.3. L’hypothèse de la résistance.....	31
4.4. L’hypothèse de la salinité.....	33
4.5. L’hypothèse de la température.....	36
4.6. Connectivité et diversité génétique.....	37
4.7. Quelles pistes de recherche pour le futur ?.....	39
5. Conclusion.....	41
I. Glossaire.....	42
II. Références bibliographiques.....	43
III. Annexe.....	50

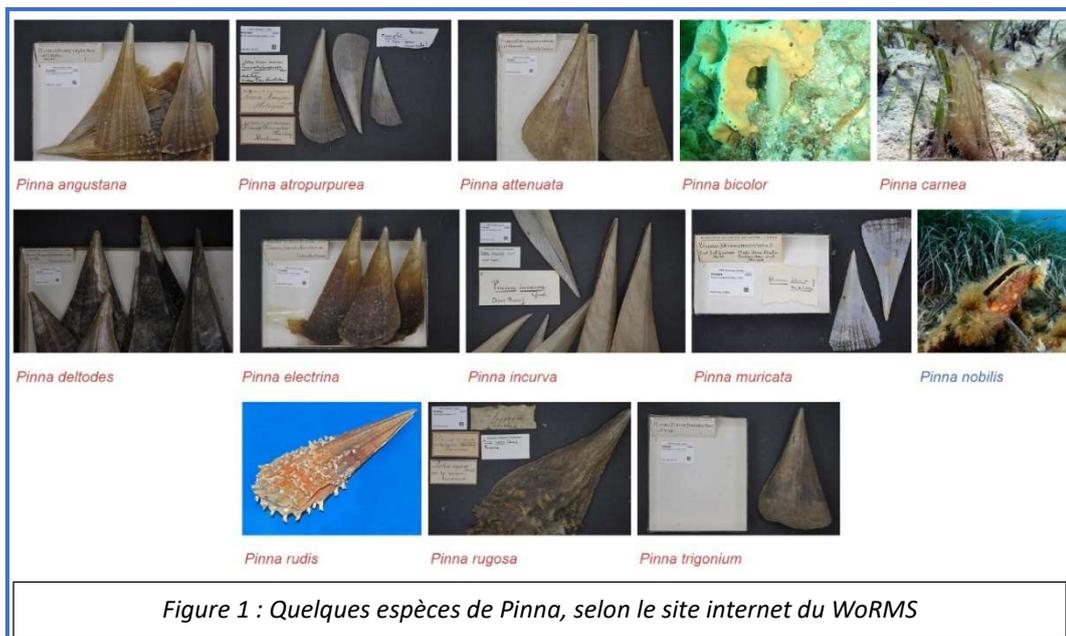
1. Introduction

1.1. Contexte général

Les grandes nacres (*Pinna nobilis*, Linnaeus 1758) sont des bivalves endémiques et emblématiques de la Méditerranée : de la même façon que l'herbier de posidonie, le corb ou le mérrou, elle fait partie des espèces dites « patrimoniales » de la vie marine méditerranéenne (Marin et al., 2020 ; Livret de la Mer 2021).

Les grandes nacres font partie de l'embranchement des mollusques, classe des bivalves, sous-classe des Ptéroiodes, famille des Pinnidae, genre des *Pinna*. Le Registre Mondial des Espèces marines (ou World Register of Marine Species, WoRMS) dénombre plus de 60 espèces différentes du genre *Pinna* (Figure 1), mais en Méditerranée, on connaît surtout :

- la plus abondante *Pinna nobilis* Linnaeus 1758 (ou grande nacre),
- *Pinna rudis* Linnaeus 1758 (anciennement nommée *P. pernula*) plus petite et présentant des épines écailleuses sur ses coquilles extérieures. Elle est présente en Méditerranée et très répandue en Atlantique,
- *Pinna pectinata* Linnaeus 1767 (anciennement nommée *Atrina fragilis* Pennant 1777), commune en Méditerranée en général et commune sur les côtes de Camargue.



La Grande Nacre (*Pinna nobilis*) est un des plus grands mollusques bivalves existant dans le monde avec une longueur parfois supérieure à 1,20m (pour des individus de 40 ans, Zavodnik et al.1991). Parmi les coquillages géants, seul le bénitier de la zone indo-Pacifique *Tridacna gigas* (Linnaeus 1758) peut atteindre une taille supérieure. Elle peut vivre plus de 45 ans (Rouanet et al. 2015) et on la retrouve de 0,5 à 60 mètres de profondeur.

Cette espèce a grossièrement la forme d'un triangle dont un tier environ est enfoncé dans le sédiment. Sa forme, sa taille, ses caractéristiques morphologiques ont généré son surnom de « jambonneau de mer ».

1.2. Situation générale des grandes nacres

Les anciens connaissaient bien la grande nacre. Aristote l'a décrit en détail et avait remarqué la présence d'un petit crabe, le pinnothère, qui ne peut vivre qu'entre ses valves. Selon une légende popularisée par l'historien Pline, ce petit crabe avait pour principale fonction d'alerter le mollusque : au moindre danger, il pinçait les branchies de la grande nacre qui fermait ses valves (Vicente 2020). La grande nacre a été exploitée depuis longtemps par les romains qui fabriquaient des boutons avec sa nacre qui tapisse l'intérieur de ses valves (d'où son nom commun de « grande nacre ») et qui tissaient des vêtements à l'aide de son byssus.

Chaque coquillage donne moins de deux grammes de fibres. Le byssus est lavé, éclairci par un procédé chimique, séché (voir figure 2) puis cardé avant d'être utilisé sur des métiers à tisser (Figure 3). On retrouve des textes du IX^{ème} siècle qui parlent de cette activité (Poisson 2008).

On utilisait notamment le byssus pour confectionner des gants, des bonnets, mais toujours des objets luxueux (voir Annexe I).

Différents objets tissés issus de cette utilisation (écharpe, chapeau, gants...) sont présentés dans des musées. Ainsi, une chasuble dite « de Saint-Yves », conservée dans la basilique de Saint-Yves à Louannec (Bretagne) date du XII^{ème} siècle : ce vêtement d'apparat est entièrement brodé avec du byssus et l'ouvrage semble provenir de Sardaigne.

Un bonnet de maille daté du XIV^{ème} siècle a été retrouvé à Saint Denis où il est conservé au Musée d'Art et d'Histoire de la ville. On peut admirer au Muséum for Naturkunde de



Figure 2 : « Soie de mer » issue du byssus de *P. nobilis*.
Photo crédit P. Stahli



Figure 3 : Byssus tricoté. Crédit photo J.M. Chartier

Berlin une paire de gants tissés en soie de mer offertes par l'évêque de Tarente au roi Frédéric Guillaume II lors de sa visite à Naples en 1822. Au Field Museum of Natural History de Chicago est exposé un manchon acquis à Tarente en 1893 pour l'exposition mondiale de Chicago (Sea silk project, 2023 voir Annexe I).

Selon la légende, la Toison d'Or de Jason aurait même été tissée à partir de ces byssus... Jules Verne dans son livre « 20 000 lieues sous les mers » (Verne, 1870) parle des vêtements du Dr Pierre Aronnax qui « étaient fabriqués avec les filaments lustrés et soyeux qui attachent aux rochers les jambonneaux, sorte de coquilles très abondantes sur les rivages de la Méditerranée. Autrefois on en faisait de belles étoffes, des bas, des gants car ils étaient à la fois très moelleux et très chauds ». La récolte de byssus a duré jusqu'au milieu du XX^{ème} siècle dans le golfe de Tarente et en Sardaigne. Sa dernière utilisation a été rapportée en mai 2016 en Sardaigne dans la ville de Sant'Antioco, pour une broderie confectionnée pour le Pape (Cirronis 2016).

A partir des années 1960 et la progressive popularisation de la plongée sous-marine, la grande nacre a été menacée par des prélèvements d'amateurs de souvenirs : décoration, appliques lumineuses (Marin et al., 2019) ; puis son habitat s'est vu réduit puis par la régression des herbiers de phanérogames marines, sous l'action conjuguée des ancres des bateaux (voir figure 4), du chalutage et de la pollution marine.

Protégée depuis 1992, l'espèce avait progressivement reconquis la Méditerranée. Depuis 2016 et en quelques années, sa disparition est devenue très inquiétante : une parasitose s'est propagée sur l'ensemble des sites méditerranéens qui a eu pour conséquence une mort massive de *Pinna nobilis*, avec des niveaux de mortalité relevés de plus de 95% (Vazques-Luis et al., 2017).

La survie de l'espèce serait-elle menacée ?

Que connaissons nous de la biologie de cet animal et des actions de restauration pourraient-elles être possibles ?

1.3. Biologie et écologie des grandes nacres

Un gros travail de suivi des populations de *Pinna nobilis* a été réalisé par l'Institut Océanique Paul Ricard entre 2006 et 2016 sur les côtes de Provence (Vicente et al., 2016). Les protocoles pour l'étude et le suivi des populations existantes, par exemple dans le cadre de la gestion des Aires Marines Protégées sont désormais publiés sous forme de guides et largement déployés (Garcia-March et Vicente, 2006).



Figure 4 : Grande nacre entourée par des ancrages, baie de Cagnes sur Mer en 2007.

La grande nacre est plantée verticalement dans son habitat avec sa coquille enfoncée par la pointe sur le tiers de sa longueur. Elle se fixe à son environnement sableux par de très nombreux et denses filaments de byssus qui peuvent mesurer jusqu'à 20 cm. Elle est enfoncée d'environ 1/3 de sa longueur dans le sol et orientée vers le courant afin de faciliter son alimentation (Addis et al., 2009; Coppa et al., 2019). Lorsque le courant est fort, elle s'enfonce un peu plus et s'incline vers le courant afin de mieux capter les particules en suspension (Coppa et al., 2013).

Son habitat naturel est l'herbier de phanérogames tels que posidonies (*Posidonia oceanica*), cymodocées (*Cymodocea nodosa*) et zoostères (*Zostera marina*, *Zostera noltii*) (Prado et al., 2014) mais on les retrouve également dans des fonds sableux ou vaso-sableux (Katsanevakis, 2006) et dans les estuaires (Addis et al., 2009). Du fait de cette association avec les herbiers, l'espèce colonise généralement la zone subtidale, entre quelques mètres et jusqu'à 60 mètres de profondeur car au-delà, le développement de l'herbier est limité par la faible intensité lumineuse et la transparence de l'eau. Les jeunes individus se camouflent à l'abri des herbiers et leurs parties supérieures sont garnies d'épines (voir figure 5) (Combelles et al., 1986).



Figure 5 : Formes caractéristiques : A sur matrice et juvénile, B adulte et dans herbiers (Combelles et al., 1986)

Du fait de cette association, sa répartition est généralement discontinue et agrégative. Cette association n'est cependant pas obligatoire et des populations denses ont été observées sur des substrats vaseux dépourvus de végétation (Katsanevakis 2006), dans des lagunes par exemple, ou dans des habitats de mode calme plus dégradés tels que les ports.

Par ailleurs, la grande coquille des nacres est colonisée par une multitude d'organismes épibiontes car elle apporte un substrat dur dans des habitats majoritairement constitué de substrat meuble, ce qui contribue à augmenter localement, la complexité de l'habitat et la biodiversité (Giacobbe, 2002 ; Rabaoui et al., 2009).

La commensalité entre *P. nobilis* et les petits crabes pinnothères (*Nepinnotheres pinnotheres*) avait été décrite depuis Aristote mais le fait que la grande nacre héberge aussi régulièrement une petite crevette dont le mâle a l'allure d'un petit homard transparent (*Pontonia pinnophylax*) est moins connu. La nature de la relation entre *P. nobilis* et ces crevettes n'est pas bien documentée mais la progressive disparition des grandes nacres met également en danger ces populations des commensaux avec de très fortes mortalités relevées ces dernières années (Noël, 2020).

1.3.1. Physiologie

Sans signes de danger, *P. nobilis* s'observe avec les deux valves bien ouvertes sur leurs parties supérieures. Comme la moule sa cousine, elle filtre l'eau qui lui permet de récupérer l'oxygène via ses branchies, et des particules vivantes (plancton) et mortes (matière organique) en suspension qui constituent l'essentiel de sa nourriture (Moreteau et Vicente, 1982).

Les branchies sont impliquées dans la respiration et la nutrition. Les filaments extérieurs des branchies sont riches en cellules excrétrices qui produisent du mucus recouvrant les branchies ; cela constitue un piège à particules. Les nombreux vaisseaux sanguins et leur tension confèrent de la rigidité aux filaments branchiaux. Les particules nutritives captées dans le courant d'eau, sont englobées de mucus, et transportées le long de la gouttière ciliée. Les plus fines particules sont directement transportées vers la bouche (on observe un maximum de filtration pour les particules de taille comprise entre 6 et 10 µm) et les autres sont rejetées (Moreteau et Vicente, 1982).

La matière organique permet à *P. nobilis* de produire le carbonate de calcium nécessaire au dépôt de nouveaux matériaux sur les valves (stries de déposition observables) lui permettant de croître en taille. Le modèle retenu pour décrire la croissance de *P. nobilis* est celui de Von Bertalanffy (1938). La structure, la composition et les modèles de croissance de *P. nobilis* ont été largement étudiés et décrits dans des ouvrages qui font référence sur le sujet (Vicente, 1982, 2020). Ils permettent d'établir des « table de vie »

(voir tableau 1) qui lient l'âge de

P. nobilis en fonction de la taille ; néanmoins, ces modèles ne représentent pas des valeurs absolues et doivent être ajustées en fonction des biotopes étudiés (effet des courants en particulier) (Moreteau et Vicente 1982 ; Vicente 1984).

En tant qu'organisme suspensivore, *P. nobilis* joue un rôle écologique important en filtrant de grandes quantités de détritiques et de matière organique en suspension (Davenport et al., 2011 ; Trigos et al., 2014), participant ainsi au recyclage de la matière organique et au maintien de la clarté de l'eau. Les travaux de Srajer et al. permettent d'estimer que certaines populations de bivalves sont capables de filtrer chaque jour la totalité de la

Tableau 1 : « Table de vie » (taille vs âge) de *Pinna nobilis* (Moreteau et Vicente 1982)

Taille en cm	Age minimum	Age maximum
10	9 mois	9,5 mois
20	1 an 8e mois	1 an 9 mois
30	2 ans 9 mois	2 ans 11 mois
40	4 ans	4 ans 4 mois
50	5 ans 7 mois	6 ans 1 mois
60	7 ans 8 mois	8 ans 6 mois
70	10 ans 8 mois	12 ans 2 mois
80	16 ans 1 mois	20 ans 7 mois

Age	Taille min.	Taille max.
1 an	12 cm	13 cm
2	22	23
3	30	32
4	38	40
5	44	46
8	58	61
10	65	68
12	70	73
15	75	79
18	78	82
20	80	84

colonne d'eau (Sraayer et al., 1999), ce qui signifie qu'une population dense de nacres peut contribuer à maintenir une bonne qualité de l'eau dans le milieu (Vicente, 2020).

Les filaments de byssus fixés dans les grains de sable, et le pied permettent à *Pinna nobilis* d'effectuer des déplacements plus ou moins importants. Couchée dans le sable, la nacre est capable de se redresser et de se replanter ; ces déplacements sont possible jusqu'à une taille de 30 cm et l'animal met 20 jours pour se replanter et se redresser (De Gaulejac et Vicente, 1990).

1.3.2. Reproduction

Les grandes nacres sont des organismes hermaphrodites successifs à maturation asynchrone. Cela signifie que les gonades mâles et femelles sont présentes chez un même individu, mais avec des stades de développement décalés, évitant ainsi l'autofécondation. La gamétogenèse a lieu de mars à juin et est suivie d'une succession d'émissions de gamètes et de gamétogenèses rapides de juin à août (De Gaulejac, 1995a et 1995b).

Les périodes de reproduction de *P. nobilis* dans différentes régions sont présentées dans la table suivante. Les études histologiques montrent que la période reproductive est liée à la température du milieu et les différences observées dans le tableau 2 ci-dessous sont probablement induites par la profondeur, la position de la thermocline, la latitude et d'autres phénomènes régionaux (courants...) (Acarli, 2021).

Tableau 2 : Période de reproduction de *Pinna nobilis* (d'après Acarli, 2021)

Localisation	Période d'émissions de gamètes	Référence Bibliographique
France	Juin-Aout (26°C)	De Gaulejac, 1995
Lagune Le Brusca, Var, France	Mai-Aout (20-26°C)	Deudero et al., 2017
Lac Vouliagmeni, Golfe de Korinthiakos, Grèce	Mai-Septembre 24-26°C)	Acarli et al., 2018

Il est généralement admis que les grandes nacres ont un mode de reproduction avec une fécondation externe. Cependant leur cycle de reproduction reste mal connu et certains auteurs ont observé des événements de fécondations internes avec les femelles qui maintenaient les œufs dans leur cavité palléale (Trigos et al., 2018). Après la fécondation, les œufs se transforment en larves trochophores puis en larves véligères pélagiques (voir figure 6).

Chez *P. nobilis* le stade larvaire pourrait durer de 5 à 10 jours au cours desquels, les larves sont dispersées au gré des courants (Butler et al., 1993). Cependant, peu de choses sont connues sur leur véritable capacité de dispersion. Ainsi, une étude récente a montré que la phase larvaire pélagique pourrait durer plus de 20 jours (Trigos et al., 2018).

À la fin de la phase larvaire, la larve subit une métamorphose puis s'ancre dans le sol pour continuer sa croissance jusqu'à la phase adulte.

Les taux de recrutement sont très variables dans le temps et dans l'espace comme chez la plupart des mollusques bivalves, avec l'existence d'années exceptionnelles qui jouent un rôle clé dans les évolutions

des populations de l'espèce (Beukema et al., 2001 ; Miyawaki et Sekiguchi, 2000).

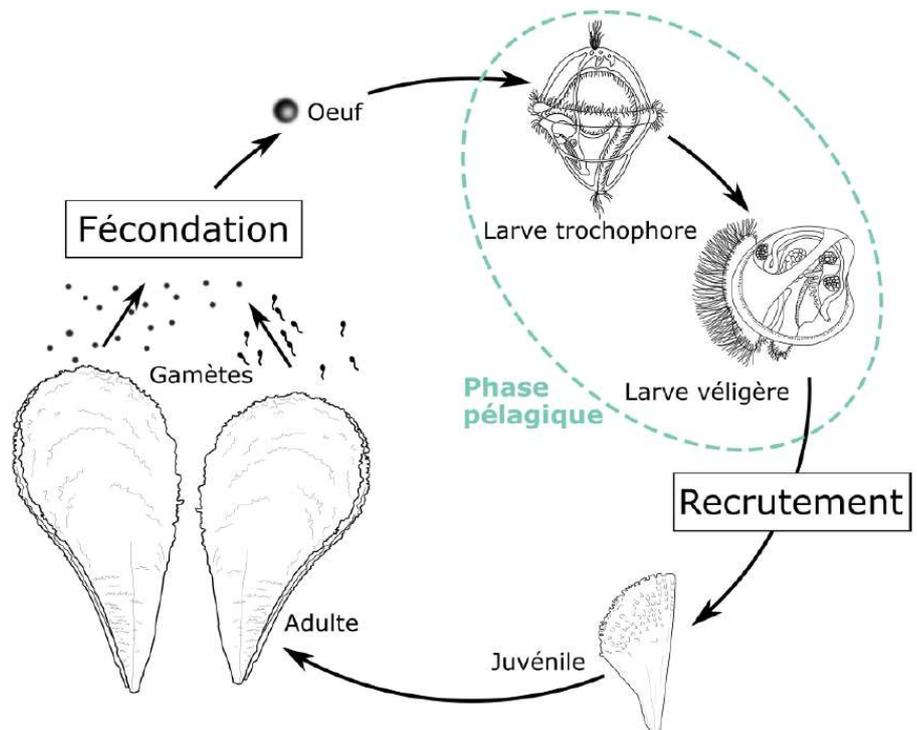


Figure 6 : Cycle de vie des grandes nacres. Au moment de la reproduction, la fécondation est externe et donne un œuf qui se transforme en larve trochophore puis en larve véligère. Cette phase larvaire est pélagique et dure jusqu'au recrutement quand l'individu s'installe dans un habitat où il va se sédentariser et grandir jusqu'à devenir adulte (Peyran, 2021)

1.4. Menaces sur les grandes nacres de Méditerranée

La réglementation :

Suite au déclin de sa population sous les pressions anthropiques, *P. nobilis* a fait l'objet d'une mesure de protection en France par deux arrêtés :

- depuis le 26 novembre 1992 (publié au JORF le 19 janvier 1993), sa pêche - et son prélèvement - sont totalement interdits.
- Depuis le 20 décembre 2004 (publié au JORF le 7 janvier 2005) les contraintes sont plus fortes encore au niveau des interdictions.

Au niveau international, elle est également protégée par :

- l'Annexe II « Liste des espèces en danger ou menacées » du protocole dit « de Barcelone » relatif aux Aires spécialement protégées et à la diversité biologique en Méditerranée (Convention de Barcelone signée le 10 juin 1995 et adoptée à Marrakech le 5 nov. 2009)
- l'annexe IV (en page 59) de la directive européenne habitat Faune-Flore 92/43/CEE depuis le 21 mai 1992, qui définit *P. nobilis* comme espace animal d'intérêt communautaire nécessitant une protection stricte.

Par ailleurs, *P. nobilis* bénéficie également indirectement des textes qui cherchent à protéger les zones des herbiers de posidonies : en protégeant leur milieu de prédilection, la pression anthropique peut être réduite. Citons comme textes pour la protection des herbiers de posidonies, la loi du 10 juillet 1976 pour la protection de la nature, l'arrêté du 19 juillet 1988 relatif à la liste des espèces marines protégées, le décret du 20 septembre 1989 du Code de l'Urbanisme (dispositions particulières au littoral), l'annexe I de la directive européenne habitat Faune-Flore 92/43/CEE qui définit *Posidonia oceanica* comme un milieu d'intérêt à protéger.

Ces mesures de protection se sont révélées efficaces puisqu'au cours des dernières décennies, l'espèce a pu se développer alors qu'elle était en net déclin. Par ailleurs, de nouvelles populations denses ont également émergé dans des habitats parfois très anthropisés, comme les ports ou les lagunes, et se sont développées de façon surprenante alors que l'espèce est considérée comme un bio indicateur de la qualité des eaux côtières, donc sensible aux perturbations (Vicente et al., 2016).

Un déclin violent :

Malheureusement, la grande nacre fait aujourd'hui face à une crise majeure qui menace sa survie car, depuis octobre 2016, des mortalités de masse ont été signalées sur ces populations (Vazques-Luis et al., 2017). Dénommés MME - pour Mass Mortality Events - ces phénomènes sont désormais attribués à un protozoaire parasite rapidement identifié (Catanese et al., 2018), *Haplosporidium pinnae* (voir figure 7). Lors de sa reproduction, le parasite s'installe dans la glande digestive de la nacre, où il produit des milliers de spores. Ces dernières bloquent le fonctionnement de la glande digestive. Ne pouvant plus se nourrir, la nacre meurt de faim en quelques semaines. Toutes les nacres atteintes restent ouvertes, ne se ferment pas au toucher et sont ainsi facilement repérables (Catanese et al., 2018).

L'origine de ce parasite est inconnue mais il est probable qu'il s'agisse d'une espèce introduite accidentellement en méditerranée peut-être par l'eau de ballast. Cette espèce est probablement arrivée récemment en Méditerranée (démonstré par une faible variété génétique de son ADN ribosomique) ce qui est cohérent avec les événements de mortalité de masse sans précédent observé depuis 2016 (Catanese et al., 2018).

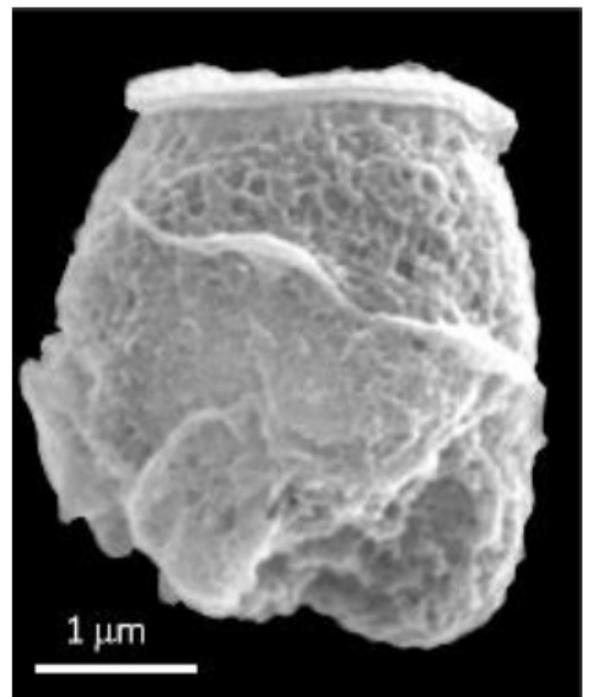


Figure 7 : Photo en microscopie électronique à balayage d'un spore du parasite *Haplosporidium pinnae* (Catanese et al., 2018)

L'implication de ce parasite n'est pas remise en question mais certains auteurs pensent que cette contamination massive est multifactorielle, avec une co-contamination par une bactérie du type *Mycobactérium* observée en Italie (Carella et al., 2019) en Grèce (Lattos et al., 2020) ou en Croatie (Cizmek et al., 2020).

Les premiers signes de mortalité ont été observés au sud-est de l'Espagne (Vasquez-Luis et al., 2017) et l'épidémie s'est ensuite propagée à travers toute la Méditerranée, probablement via les courants décimées (figure 8) avec des taux de mortalité particulièrement élevés. Le suivi de ces mortalités a fait l'objet d'études participatives sans précédent, mobilisant les bénévoles plongeurs d'un grand nombre de pays, ce qui a permis aux scientifiques d'alerter très rapidement sur la situation grave que traversait l'espèce *P. nobilis*. (Cabanellas-Reboredo, et al., 2019). Il s'agit d'une situation sans précédent, que ce soit par le taux de mortalité ou la vitesse de propagation, qui pourrait conduire à l'extinction de l'espèce.

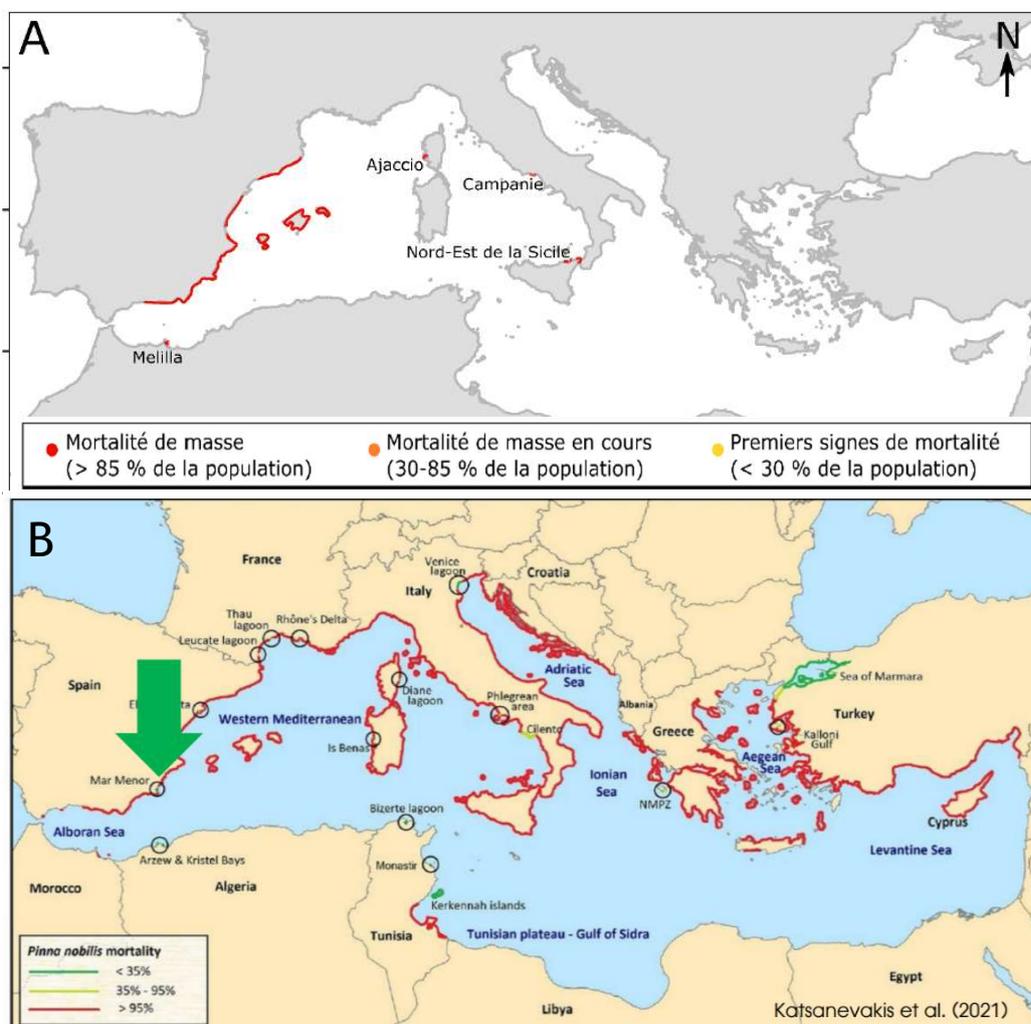


Figure 8 : MME : évolution de la mortalité causée par le parasite *H. pinnae* sur les populations de grandes nacrées en Méditerranée au printemps 2018 (A, données UICN) et en 2021 (B, Katsanevakis et al., 2021). Seule la Mer de Marmara en vert, et les lagunes (présentées sous forme de cercles), dont la lagune de Mar Menor (flèche verte), semblent présenter des populations de *P. nobilis* qui semblent être bien portantes.

Pour faire face à cette situation, le statut de l'espèce a été évalué par l'UICN qui la considère désormais comme « en danger critique d'extinction », ce qui correspond au plus haut niveau de menace (voir figure 9) sur la liste rouge de l'UICN (Kersting et al., 2019).

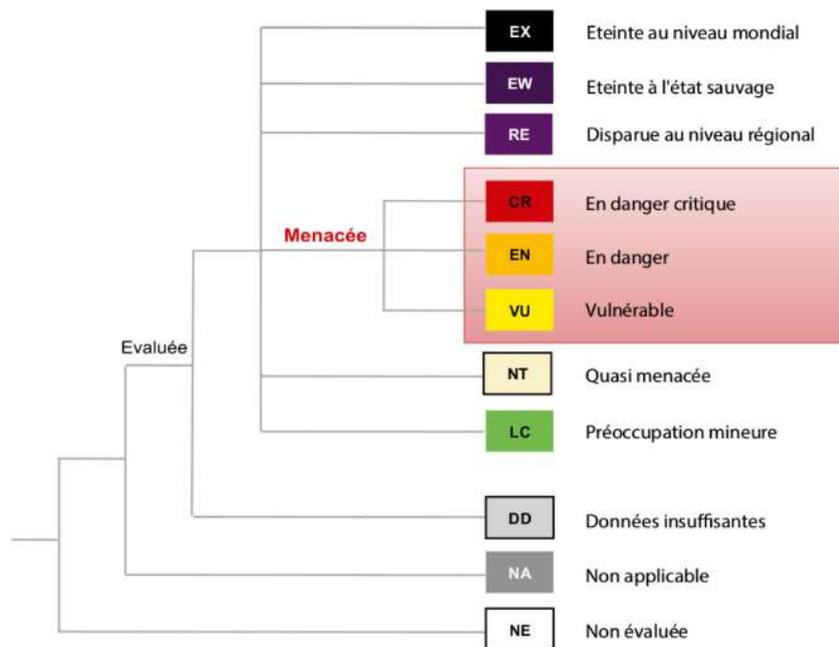


Figure 9 : Présentation des catégories de l'UICN utilisées à une échelle nationale (d'après le Guide Régional 2012 de l'UICN ; Kersting et al., 2019)

1.5. Espoirs pour les grandes nacres de Méditerranée

Malgré ce bilan extrêmement préoccupant, un espoir reste possible pour l'espèce grâce d'une part à la protection plus efficace des zones à herbier de posidonies (avec la création de zones interdites à l'ancrage et à la pêche en particulier) et d'autre part parce que quelques populations semblent survivre et ne sont manifestement pas ou peu affectées par le parasite. Il s'agit notamment :

- de la Mer de Marmara en Turquie ;
- des habitats lagunaires, en particulier en Espagne dans la baie des Alfacs et à Mar Menor (Cabanelas-Reboreto et al., 2019 ; Catanese et al., 2018), en France (en particulier dans les lagunes de Thau et de Leucate), et dans toutes les lagunes présentées sur la figure 8 sous forme de cercle ;
- il semblerait qu'elles soient également détectées en Camargue (information Julie Deter, la Parc Régional de Camargue a été contacté et cette information est non confirmée à la date de l'impression de ce rapport).

Une récente étude sur la côte occitane Française a permis de confirmer l'exception des lagunes de Thau et de Salses-Leucate (figure 10), qui deviennent des zones refuge privilégiées et abriteraient désormais plus de 87% de la totalité du stock des grandes naces de la côte Méditerranéenne (de la frontière espagnole au delta du Rhône) (Peyran et al., 2021a). Lors de cette étude sur la totalité du littoral occitan, la plus forte densité de *P. nobilis* a été identifiée au niveau du Lido de Port-Leucate avec 60 individus/100 m². Il s'agit d'une des plus fortes densités enregistrées dans la littérature, la plus forte densité pour une population de grandes nacre ayant été observée dans la lagune de Venise en 2012 avec 1200 individus/100 m² (Russo, 2012) mais les valeurs les plus communes sont généralement autour de 1-2 individus/100 m² (Basso et al., 2015 ; Rabaoui et

al., 2010 ; Trigos et Vicente, 2018 ; Tsatiris et al., 2018).

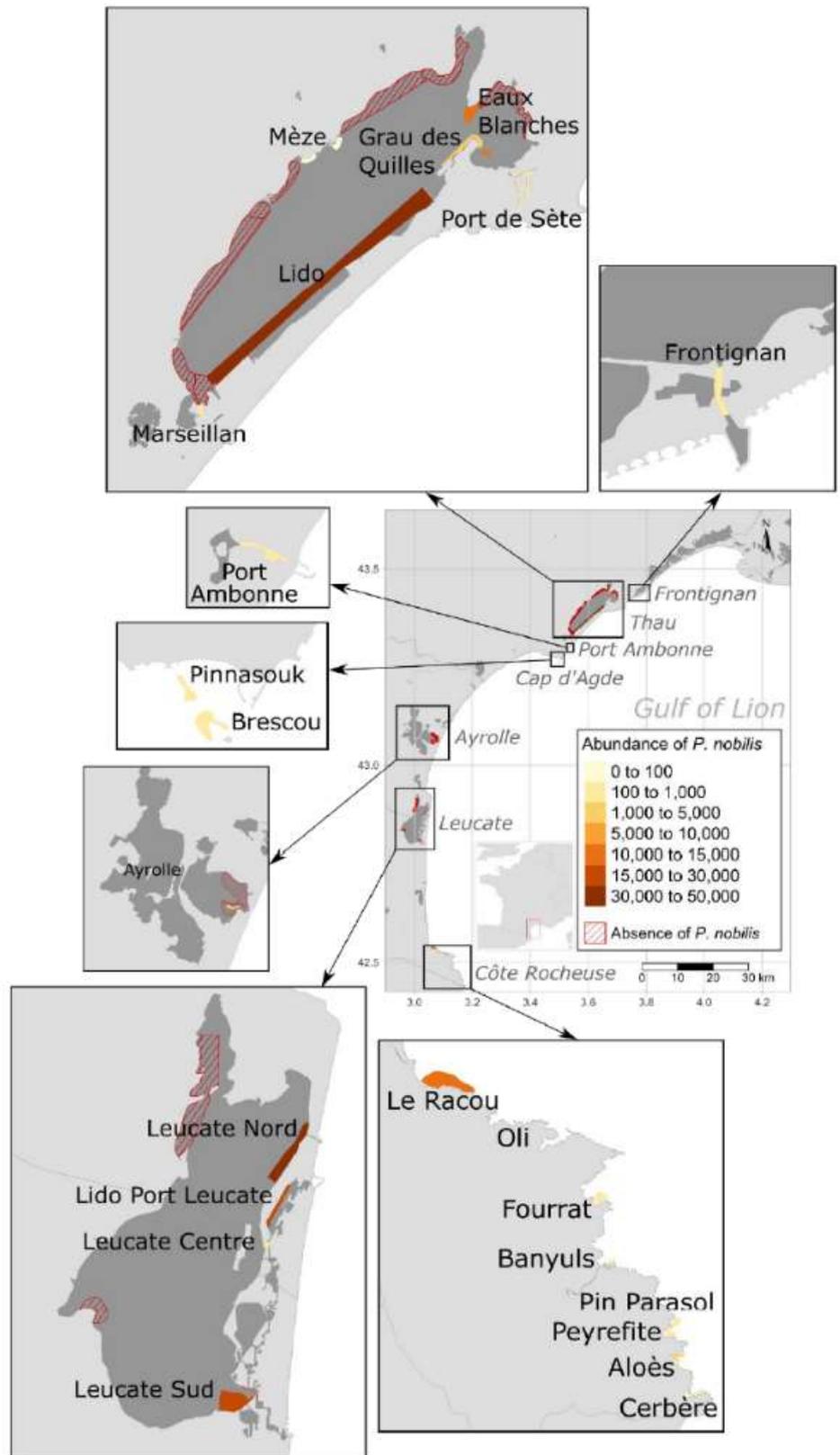


Figure 10 : Cartes des sites étudiés, les abondances estimées respectives de grandes naces et les zones où cette espèce était absente (Peyran et al., 2021a)

A noter que l'ensemble des sites prospectés sur la côte rocheuse étaient colonisés par une majorité d'individus juvéniles et peu d'individus de grande taille ce qui pourrait également indiquer une faible survie des nacres dans ses habitats.

Plus récemment encore, une étude participative « Hippo-Thau » pilotée en 2021-2022 par P. Louisy (Association Peau Bleue) et P. Girard (FFESSM Occitanie) a permis de dresser une carte très précise de la densité de *P. nobilis* dans l'étang de Thau (Louisy et Girard, 2022). J'ai eu l'occasion de participer à cette étude et nous avons pu reporter des densités parfois spectaculaires (voir figures 11 et 12). La présence de nacres dans l'étang de Thau était connue, mais s'est révélée beaucoup plus importante qu'imaginé : d'une part en termes de répartition (des nacres ont été observées lors de 106 des 122 plongées réalisées), d'autre part en termes d'abondance. Sur l'ensemble de la campagne de recensement, plus de 12 000 nacres ont été observées, vivantes à 92,5 %. Sur la carte ci-dessous (figure 11) sont indiqués les nombres moyens de nacres observées par heure et par plongeur, en prenant en compte l'ensemble des plongées faites dans chaque secteur.

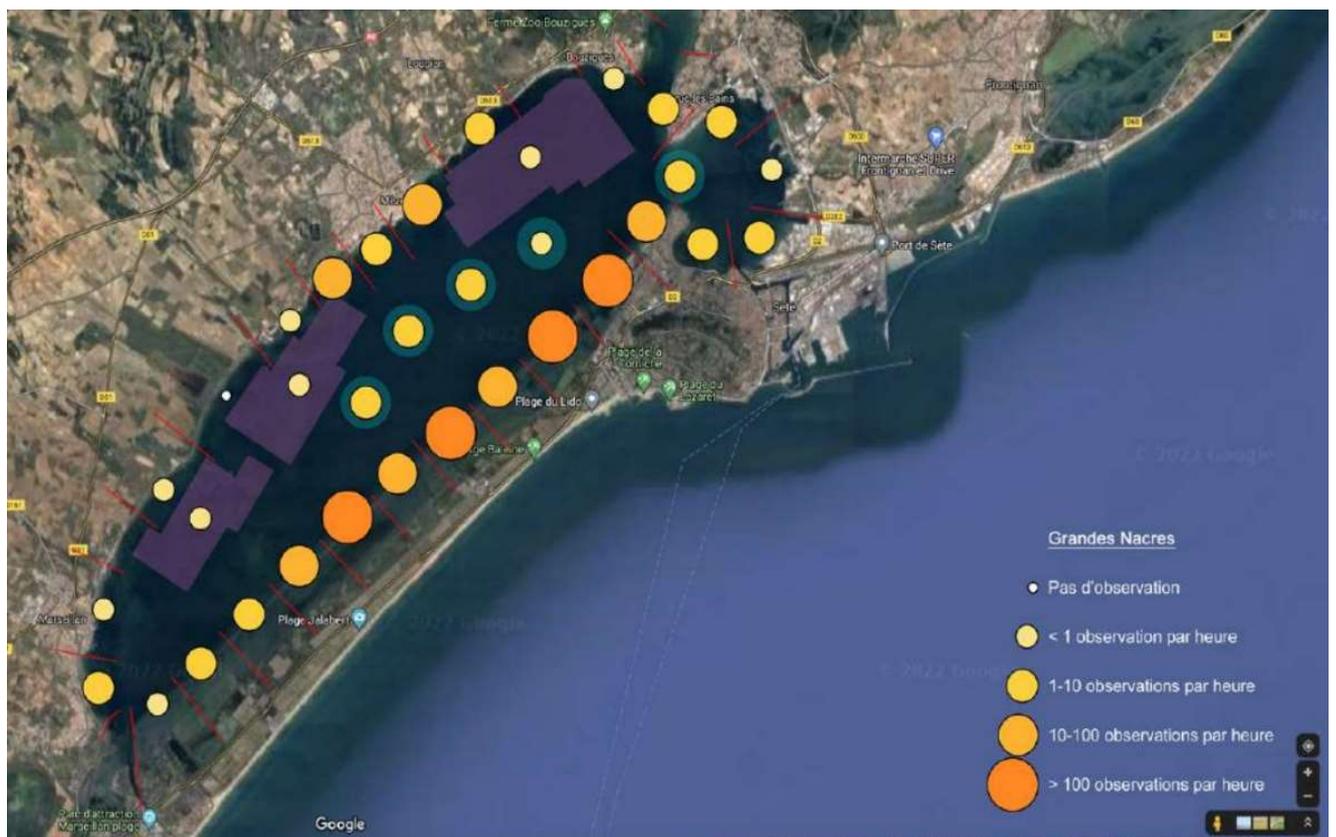


Figure 11 : Recensement Hippo-Thau 2022 : grandes nacres vivantes, 467 h d'observations cumulées sur 34 secteurs, 11 202 observations de *Pinna nobilis* au total (Louisy et Girard, 2022).



Figure 12 : Population de grandes nacres, étang de Thau, mission Hippo-Thau. Crédit photo E. Perrier

Même si les raisons de la persistance de ces populations qui semblent être résistantes sont mal connues, elles pourraient être liées aux conditions de salinité dans ces milieux (le point de la salinité sera abordé au chapitre 4). Si cela s'avérait exact, ces milieux pourraient donc représenter des habitats refuges pour les grandes nacres et il est nécessaire d'acquérir plus d'informations sur leur distribution et les environnements qui leur sont le plus favorables, afin d'envisager des stratégies de conservation adaptées.

2. Objectifs

En 2023, le constat est le suivant :

- presque 100 % de la population de *Pinna nobilis* ont été décimés dans les zones de mer « ouverte »
- il n'existe que quelques individus isolés semblant phénotypiquement résister à la parasitose dans ces zones ouvertes,
- les populations les plus importantes restantes sont isolées dans des lagunes et en Mer de Marmara.

Des expériences de restauration passive et active semblent nécessaires face à ce constat très alarmant.

Le but principal de ce rapport est de faire une synthèse des techniques de restauration des grandes nacres utilisées jusqu'ici dans différents projets, d'identifier les points clefs des méthodes utilisées et de mettre en avant les forces et faiblesses de chaque technique. Enfin nous discuterons des résultats présentés, des limites techniques et nous proposerons des recommandations.

3. Expérimentations de restauration

3.1. Les techniques de restauration

Trois techniques sont utilisées : les techniques de transplantation (qui ont été largement pratiquées), la récupération des naissains suivie de transplantation, et la récupération des gamètes pour la fécondation *in vitro*, suivie de culture et de transplantation.

3.1.1. La transplantation

Les premières expérimentations de transplantation de *Pinna nobilis* semblent avoir été réalisées en Mer Adriatique par Mihailinovic en 1955. L'objectif était alors de cultiver ce bivalve pour sa coquille, sa chair et son byssus. Puis des individus de taille supérieure à 60 cm ont été replantés avec succès par Vicente et al. en 1980 au Parc National de Port-Cros. Hignette en 1983 a transplanté un groupe de 16 bivalves dans la réserve Marine de Monaco et a suivi leur croissance pendant 3 ans. Plus tard De Gaulejac et Vicente (1990, 1995) ont étudié la survie des individus adultes et juvéniles après transplantation en concluant que les spécimens de taille supérieure à 20 cm avaient de sérieux problèmes pour se replanter d'eux-mêmes s'ils étaient maintenus à plat. En 2007 Caronni et al. ont réalisé des essais de réimplantation de la grande nacre dans une Aire Marine Protégée de Sardaigne. Toutes ces études ont montré une survie limitée des individus transplantés (75% après un an au mieux). La connaissance de l'écologie de *Pinna nobilis* a considérablement progressé depuis, et des transplantations de nacres de diverses tailles ont été effectuées depuis de nombreuses années à des fins expérimentales. Le protocole à utiliser semble être désormais consensuel (Trigos et Vicente 2016) et est décrit ci-dessous.

Technique de prélèvement :

Les grandes nacres doivent être extraites du réseau dans lequel elles se situent, en creusant autour de la pointe de la nacre (région antérieure) avec un couteau ou une pelle, et en continuant avec les mains (gantées) afin de sentir le byssus qui doit être conservé dans son intégrité car la nacre met plus de 6 mois pour le reconstituer s'il a été endommagé. Le transport de trois ou quatre nacres adultes dans un récipient adapté est possible à la condition d'aérer d'oxygéner l'eau du contenant avec un aérateur à pile et à protéger les nacres de la lumière dans un sac noir. Ainsi transportées,

les nacres (juvéniles ou adultes) peuvent être amenés dans des bacs expérimentaux et conservées en aquarium durant une année avant réimplantation, mais seront de préférence transplantées le plus rapidement possible.

Technique de réimplantation :

Les nacres peuvent être réimplantées dans un milieu différent de celui d'origine, sans que leur comportement ne soit modifié, et ce quel que soit la saison en période de reproduction, de repos, ou au cours de la croissance. Seul l'enfoncement varie en fonction du substrat. Elles doivent être orientées vers le courant pour assurer l'apport de particules nutritives. Par contre, il est très important de creuser un trou assez profond afin d'enterrer la nacre au moins jusqu'au milieu de la coquille. Elle se positionnera ensuite elle-même. Des étiquettes plastifiées maintenues autour des nacres par un cordon de nylon ou un Serflex peuvent être utilisés pour le marquage. En appliquant ce protocole, les auteurs soulignent n'avoir jamais constaté de mortalité dans les mois qui ont suivi les transplantations d'individus de diverses tailles. Les fonctions physiologiques de la nacre ne semblent pas perturbées (Trigos et Vicente 2016).

3.1.2. Collecte de naissains

Le suivi du recrutement des larves de *P. nobilis* semble avoir débuté dans les années 90 lorsque Vicente et ses équipes ont commencé à évaluer l'intensité de recrutement dans des sacs de collecte sur les îles des Embiez près de Toulon. En 2003, une autre étude était initiée à Columbretes (Espagne) afin d'étudier le recrutement, la croissance, les caractéristiques et la mortalité des larves de *P. nobilis*, expérience qui s'est poursuivie jusqu'en 2011. En 2008 une série de recrutements de larves a été

initialisée à Majorque (Espagne) sur plusieurs sites, dont deux sont toujours en action aujourd'hui. Après le MME, l'intérêt d'étudier le recrutement de *P. nobilis* a été réactivé et un réseau pan-Européen de collecteurs de larves a été mis en place afin d'établir et de suivre la dynamique des populations de larves sur 37 sites incluant le nord de l'Afrique et la mer Adriatique. Cette initiative a été prolongée par le projet Européen LIFE PINNARCA (2,2M€, oct 2021 à dec 2024) « Protection et restauration des populations de *P. nobilis* en réponse à la pandémie catastrophique de 2016 », qui a pour objectif affiché de « prévenir l'extinction de la grande nacre méditerranéenne à court ou moyen terme ».



Figure 13 : Détail d'un collecteur (haut) et d'une ligne de collecteur (bas) tels que proposés par l'UICN (Kersting et Hendricks 2019).

Techniques de collecte :

Pour la fabrication de collecteurs de larves, plusieurs techniques ont été expérimentées basées sur la collecte de larves d'autres bivalves. La solution qui est désormais mise en avant est celle qui a fait l'objet d'une publication par l'UICN intitulée « Short Guidance for the construction, installation and removal of *Pinna nobilis* larval collector » (Kersting et Hendricks 2019). Brièvement, des sacs à oignons (ou équivalents), constitués d'enchevêtrements de filaments résistants à l'eau de mer sur lesquels vont venir s'accrocher les larves, sont placés dans des sacs en maillage à base de polyéthylène qui permettent la protection de l'attaque de prédateurs (voir figures 13 et 14). Ces sacs sont attachés à un bout lui-même fixé au sol (par un bloc de ciment ou tout autre fixation permettant de résister aux courants et aux vagues) et à une bouée immergée placée à une profondeur minimale de 3 m qui permet de garder le bout sous tension. Les sacs peuvent être attachés tous les 1,5 m environ, entre 5m et 15 m de profondeur, ces deux profondeurs ayant démontré des efficacités similaires (figure 14).



Figure 14 : Détail d'une ligne de collecteurs en pleine eau telle que proposée par l'UICN (Kersting et Hendricks 2019).

Les collecteurs doivent être placés dans des lieux ouverts, où le courant circule puisque les larves de *P. nobilis* sont transportées par le courant, mais aussi dans les lagunes si la collecte est recherchée dans ces zones très particulières. La présence d'adultes dans l'environnement proche n'est pas obligatoire, les larves pouvant parcourir de grandes distances avec le courant (voir chapitre 4.7. Connectivité page 37). Ces collecteurs peuvent aussi être installés dans des lieux où *P. nobilis* était présente avant le phénomène de MME mais où elle a disparu depuis (lieux favorables par rapport aux courants).

En Méditerranée de l'Ouest, les collecteurs peuvent être installés en Juin et retirés en Octobre-Novembre puisque la période de reproduction est de Mai à Aout et que celle de l'installation est de Juillet à Septembre. Ces dates peuvent varier selon les températures et la localisation en Méditerranée mais il est nécessaire de bien vérifier que les larves aient assez d'espace pour croître entre les mailles des filets utilisés.

Technique de récupération et de culture :

Les collecteurs doivent être retirés avec précaution, de façon à éviter l'écrasement des sacs. Les sacs sont préférentiellement maintenus sous l'eau jusqu'au retrait des juvéniles. À la fin de la période d'installation, la taille (longueur) des juvéniles peut varier entre 0,5 et 9 cm. Identifié

visuellement dans les fibres du sac des sacs, ils doivent être retirés avec précaution de façon à ne pas casser les valves très fragiles et être placés ensuite immédiatement dans de l'eau de mer pour leur conservation (voir figure 15).

Après leur récupération, les juvéniles doivent être protégés avant d'être replantés. En effet, jusqu'à une taille de 10 cm de long, les valves sont fragiles et plus facilement détruites par les prédateurs (Velasco et Borrero 2004). Par ailleurs, des juvéniles de moins de 3 cm replantés directement dans le sable peuvent facilement être éliminés par le courant ou détruits par les prédateurs (Leal-Soto et al., 2011).



Figure 15 : Juvéniles de *P. nobilis* dans le collecteur, à retirer avec précaution car les valves transparentes sont très fragiles (Kersting et Hendricks 2019).

Une combinaison de culture protégée (pour atteindre des tailles au moins supérieures à 10 cm) et de transplantation semble donc la meilleure technique décrite à ce jour. Pour cela, les juvéniles récupérés dans les collecteurs, peuvent être placés dans des cages de protection permettant de lutter contre la pression des prédateurs (Kersting et Garcia-March, 2017) :

- sur le lieu des futures réimplantations, où ils vont continuer à grandir pendant 1 à 3 ans (voir figure 16). Lorsqu'ils auront atteint une certaine taille, il sera possible de les transplanter dans les bons substrats.



Figure 16 : Juvéniles de *P. nobilis* récupérées et placées dans des cages métalliques individuelles (à gauche), après 3 mois (à droite) (Kersting et Hendricks, 2019). A noter que la grille de protection du dessus a été retiré pour prendre la photo.

- Suspendues à quelques mètres du sol, à l'abri des prédateurs qui généralement fouillent le fond (poulpe, crabes, muricidés, gastéropodes, daurades ...). Il semblerait que les croissances des bivalves soient plus rapides en suspension (Kozul et al., 2011) et que la pression des prédateurs soit réduite par rapport à une culture au sol (taux de survie plus élevé dans certaines études). Ces montages sont plus couteux à l'exploitation et nécessitent néanmoins plus de main d'œuvre.

3.1.3. La récupération de gamètes en vue de fécondations *in vitro*

Technique de collecte :

Des individus adultes et sexuellement matures (de hauteur supérieure à 35 cm) sont prélevés dans le milieu (Trigos et al. 2018). La figure 17 montre un lien direct entre la quantité d'ovocytes produits et la taille des grande nacres donc le choix des individus prélevés est fondamental. Après nettoyage des épibiontes (qui peuvent perturber la fécondation), les individus sont placés dans des réservoirs d'eau de mer filtrée (1 µm) et passée aux UV. Dans le cas de *Pinna nobilis* un choc thermique de 10°C environ est nécessaire pour induire une libération de gamètes. Afin de réaliser ce choc thermique, les individus sont passés pendant 50 min dans un réservoir chauffé à 25°C (Trigos et al. 2015) avant de revenir dans le réservoir placé à 15°C.

Cette induction est répétée 6 fois au maximum ; si aucune réponse n'est observée, les individus sont introduits dans un réservoir de 2600 l contenant une eau constamment renouvelée et aérée et le process est répété les jours suivants. Les ovocytes et les spermatozoïdes sont récupérés séparément dans des réservoirs individuels en utilisant une micropipette de 60 ml, filtrés (filtre de 30 microns de façon à éliminer les déchets pouvant être attachés aux ovocytes) ; ovocytes et spermatozoïdes issus d'individus différents sont ensuite mis en contact dans un petit réservoir de 15 l à 21°C, afin de favoriser la fécondation. Les spermatozoïdes peuvent être conservés à 4°C pendant 3 jours au maximum (Trigos et al., 2018).

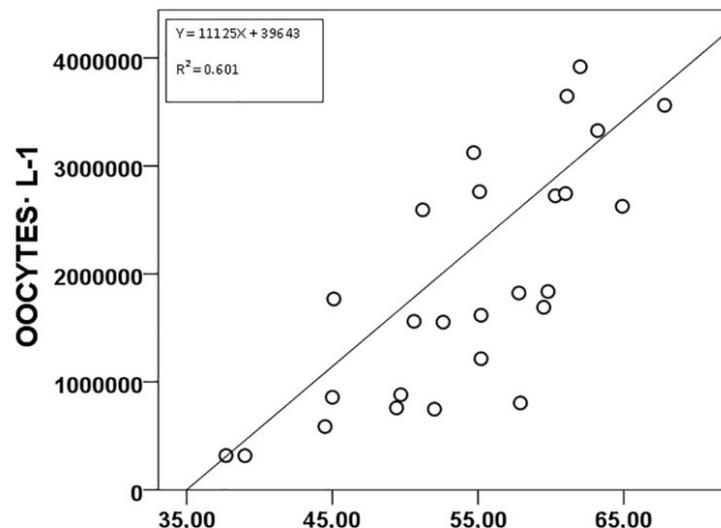


Figure 17 : Relation entre nombre d'ovocytes émis et taille (hauteur) de la nacre (Trigos et al. 2018)

Culture des larves (Trigos et al., 2018).:

Les ovocytes sont sphériques avec un diamètre moyen de 55 ± 1 µm alors que les spermatozoïdes mesurent environ 1 µm. Le développement embryonnaire de *P. nobilis* débute rapidement après la fertilisation des ovocytes (21°C ; pH 8,5 ; 6,5 mgO₂.l⁻¹ ; salinité 38 ups) : après 15-30 min, on

observe la formation d'une membrane péri vitelline qui

confirme la fertilisation.

Quarante minutes après, une inclusion est observée et une augmentation rapide du nombre de blastomères est observée jusqu'à obtenir une blastula ciliée 5 h plus tard. La phase de mobilité de la larve commence alors et dure pendant 24 h jusqu'à ce que la larve trocophore d'une taille

Tableau 3 : Chronologie de la formation et évolution de la taille des larves de *P. nobilis* (Trigos et al., 2018)

Stage	Cumulated time (h:min)	Size (µm)
Spawning	0:00	50
Sperm attachment	0:00	50
1st polar body	0:15	50
Double membrane	0:30	50
1st inclusion	0:40	55
Blastule	5:00	55
Gastrule	8:00	55
Early trocophore	22:00	65
Late trocophore	30:00	70
Early veliger	48:00	85
Late veliger	72:00	90
Early umbonade	144:00	100
Pediveliger	168:00	110

moyenne de 65 ± 5 µm soit observée. L'activité frénétique de la larve qui suit cette étape peut atteindre des vitesses de 0,5 à 1 cm.s⁻¹ et présente une nage hélicoïdale identique à celle observée avec d'autres bivalves. Cette vitesse est considérablement réduite après les premières 48 h, lorsque la larve commence à fabriquer sa propre coquille et devient une larve D ou larve véligère (85 µm).

Un peu plus tard la coquille de carbonate qui protège les viscères de la larve devient plus importante, ce qui transforme les mouvements ciliés en une rotation intermittente.

Progressivement la larve secrète plus de carbonate de calcium ce qui cause l'épaississement des valves et la formation d'un premier anneau de croissance. La larve arrête alors de nager totalement et devrait s'installer mais peu d'individus développent le pied qui leur permettra de se fixer.

À partir de l'émission des gamètes jusqu'à l'étape pediveligère (voir tableau 3 décrivant la chronologie des différentes étapes), la croissance moyenne des larves est estimée à 8,57 µm par jour.

L'étape de métamorphose conduit à la formation de juvéniles qui se présentent sous la forme de valves transparentes et d'organes visibles à l'œil nu ; on parle alors de naissain. Traumatique et générant de grands bouleversements dans l'organogénèse, cette étape est toujours une étape complexe en aquaculture. Dans le cas de *Pinna nobilis*, cette étape conduit à un taux de mortalité en culture de 100% après 22 j, dans les meilleures conditions (Trigos et al., 2018).

3.2. Quelles leçons tirons-nous des expérimentations passées et en cours ?

3.2.1. La transplantation

Diverses études de transplantation de *P. nobilis* ont été réalisées et les résultats sont synthétisés dans le tableau 4 ci-dessous.

Tableau 4 : Synthèse des transplantations décrites dans la littérature

Localisation	Taux de survie (%)	Nombre d'individus	Profondeur (m)	Référence Bibliographique
Cote NE de la Sardaigne, Italie	75	18		Caronni et al (2007)
Lagune Le Brusco, Var, France	100	16		Trigos & Vicente (2016)
Lac Vouliagmeni, Golfe de Korinthiakos, Grèce	95,6	45 (11-16cm)	12	Katsanevakis (2016)
Lagune Faro, Cap Peloro, Italie	83	53	2	Bottari et al. (2017)
Canakkale Bridge, Turquie	99	1040	4-4,5	Acarli (2021)

Les trois études les plus récentes et réalisées sur les plus grands nombres d'individus apportent des informations importantes pour de futures actions :

La survie est la plus forte pour des jeunes adultes de taille faible (largeur de 5,5 à 10 cm, correspondant à des individus de 6 à 18 mois) qui semblent moins souffrir du stress de la transplantation et de la pression des prédateurs, que les individus plus jeunes ou plus âgés (Bottari et al., 2017). Ce résultat a été obtenu après un suivi de la croissance et de la mortalité pendant 12 mois de 53 grandes nacres sur une surface de transplantation de 100m² avec une densité maximale de 5 individus par m². L'aire protégée de la lagune du Cap Peloro en Sicile (Italie) utilisée pour cette étude est largement utilisée pour la culture des huitres et des moules. Elle a accueilli 53 grandes nacres du canal Faro (qui connecte la lagune Faro à la mer) vouées à être détruites en raison du dragage du canal. Une population existante proche a été utilisée comme témoin.

Une autre expérience réalisée dans le « lac marin » Vouliagmeni en Grèce, montre que, 5 ans après la transplantation, la survie reste très élevée (95,6%) à la condition de bien sélectionner le lieu de la transplantation (Katsanevakis, 2016).

La très récente revue de Acarli (2021) permet de dégager les grandes règles importantes pour une transplantation réussie de *Pinna nobilis* :

- planter de préférence dans des AMP ou des zones équivalentes où la pression anthropique est la plus faible possible,
- planter dans des zones où la pression des prédateurs est la plus faible possible, ou utiliser des cages métalliques pour réduire leurs effets,

- planter à une profondeur entre 10 et 20m permet d'éviter les températures trop élevées en été et permet d'avoir une bonne qualité de l'eau et bonne qualité de la structure du sédiment,
- ne pas casser, arracher, couper le byssus (qui va mettre environ 6 mois à se reformer correctement), et garder l'environnement autour de la nacre lors d'une transplantation d'un endroit à un autre (sans secouer la nacre en pleine eau pour nettoyer son byssus),
- planter la nacre le plus droit possible, sur la moitié de sa longueur,
- orienter par rapport aux courants afin de permettre l'accès au phytoplancton, ou dans des zones où elle est/était présente ; si présence d'une population existant, cela permettra de favoriser les fécondations et la formation de naissains.

3.2.2. Collecte de naissains

La longue étude de Kersting et Garcia-March (2017) réalisée entre 2004 et 2011 dans les îles Colombretes (Espagne), a permis de recruter sur 7 sites, jusqu'à 164 (2003) ou 160 (2011) post-larves qui ont été mises en culture puis transplantées. Conduite sur plusieurs années, cette étude nous permet de comprendre que, pendant les années de cette étude :

- le recrutement était indépendant de la profondeur, du site, et de la présence ou non de population d'adulte,
- le recrutement était significativement lié aux années (2 larves recrutées en 2005 et 25 en 2006, pour les mêmes installations),
- une corrélation existe entre le nombre de larves recrutées et la température moyenne de l'eau en juin à 25m de profondeur, mais il n'y a pas de corrélation entre les pics ou les moyennes de température de l'eau de surface ou de l'eau à 40m,
- le recrutement a été observé entre juillet et janvier avec un maximum sur le mois de septembre,
- les larves recrutées mesuraient $0,95 \pm 0,49$ cm de juin à août et $4,15 \pm 1,73$ cm dans la période septembre-novembre.
- pas de lien entre le nombre de larves recrutées et la taille des larves,

Dans cette même étude de suivi long terme, la croissance et la mortalité des juvéniles placés dans des cages sur le sol ont été suivies. Les survies dépendent principalement des attaques des prédateurs (qui sont parfois retrouvés dans la cage de protection) et des tempêtes (qui déplacent les cages placées au fond de l'eau). Au total, la mortalité des juvéniles est élevée la première année ($61,25 \% \pm 19,60$) mais diminue dès la seconde année ($32,32\% \pm 31,00$) ce qui permet de bien comprendre l'importance de la protection des juvéniles pendant leur phase de croissance et de consolidation de leurs valves protectrices.

Alors que la récolte de post-larves et de juvéniles sur des collecteurs avait déjà été largement décrite et utilisée (Port-Cros, Espagne, Italie, Croatie, Grèce....), le projet LIFE PINNARCA a rendu son premier rapport fin 2022 (Life Pinnarca, 2022) : sur 100 sites de collecte mis en place (chaque

site ayant une ou plusieurs lignes et chaque ligne étant constituée de plusieurs sacs), 78 ont été collectés réellement. Cinq sites contenaient des espèces du genre *Pinna*, deux sites ont été confirmés comme contenant *P. nobilis*. Entre 0,5 et 1,5 individus ont été trouvés par sac collecteur, une valeur basse par rapport à celles obtenues avant le MME. En 2017 par exemple, une collecte record avait été obtenue dans le Parc marin des îles de Columbretes (187 pour 6 sacs collecteurs), dans des lieux rééchantillonnés plus pauvrement en 2018 (5) et en 2019 (2) et négativement en 2020 (0), sans que des éléments extérieurs puissent l'expliquer (Kersting et al., 2020). Plus spectaculaire encore, Acarli et al. décrivent en 2011 un collecteur de larves placé proche des îles Karantina en Turquie, qui a permis en un mois, la collecte de 122 larves de *P. nobilis* sur une surface de collecteur de 0,4m².

Il semble donc que la quantité de larves de *P. nobilis* recrutées soit en très forte décroissance depuis le MME, ce qui vient également confirmer des observations similaires réalisées par les équipes d'Ecocean lors des nettoyages des Biohuts dans les ports (communication personnelle G. Lecaillon Ecocean, avril 2023).



Figure 18 : Juvéniles de 4-5 cm de *P. nobilis* (gauche) et de *P. rudis* (droite). Assez clairement différents sur la photo, les juvéniles ne sont pas toujours aussi facilement identifiables (Kersting et Hendricks, 2019).

Par ailleurs, il est extrêmement difficile d'identifier les bivalves au stade larvaire sans les détruire et même au stade au stade juvénile, elles sont difficiles à identifier. Il est en particulier extrêmement difficile de distinguer *P. nobilis* de *P. rudis* (figure 18) qui se retrouve de plus en plus fréquemment dans les collecteurs alors qu'elle n'était pas présente avant le MME. Il est possible que cette espèce, non sensible au pathogène *H. pinnae*, bénéficie de la disparition de *P. nobilis* en

conséquence d'une compétition interspécifique. La population de *P. rudis* pourrait donc croître dans les prochaines années, dans les sites auparavant conquis par *P. nobilis*.

De façon surprenante, alors que les expérimentations de collecte effectuées dans les lagunes de Mar Menor ou de Diana n'ont pas permis de collecter de larves en 2022 (bien que des expulsions de gamètes aient été observées), des records de recrutement ont été observés dans la lagune de Thau. Depuis 2018, les ostréiculteurs observent de plus en plus de recrutement de *P. nobilis* dans leurs filets installés au-sein des tables. Une collaboration avec les ostréiculteurs est en cours (IOPR) avec le partenariat administratif du Syndicat Mixte du bassin de Thau (SMBT), du comité régional de conchyliculture de méditerranée (CRCM) et du centre d'études pour la promotion des activités lagunaires et maritimes (Cépralmar). L'objectif de cette étude consiste à récolter un maximum de juvéniles, de les faire croître dans des filets et sur des tables expérimentales à huîtres, et de réimplanter les juvéniles ou les sub-adultes dans un environnement naturel dans la lagune ou en pleine mer afin de tester leur résistance.

3.2.3. La récupération de gamètes en vue de fécondations *in vitro*

L'étude présentée par Trigos et al. en 2018 dans Aquaculture fait référence sur le sujet : sur 40 individus sexuellement matures, 31 individus ont libéré des gamètes pendant des durées de 40 min, 16% étaient strictement mâles, 45% étaient strictement femelles et 39% généraient les deux types de gamètes. La libération de gamètes femelles a été évaluée à 1,9 millions d'ovocytes par litre environ. Il existe un lien significatif entre la taille des individus utilisés et le nombre d'ovocytes émis, les nacres de 65cm de haut générant par exemple 4 fois plus d'ovocytes que les nacres de 35cm.

Deux jours après la fécondation, les larves véligères sont formées. Le plus fort taux de mortalité observé est enregistré principalement les trois premiers jours. Les larves ont été maintenues en vie pour un maximum de 22 jours et les meilleurs taux de survie sont obtenus dans des réservoirs de 16 l, exposés à la lumière, avec une densité de larves initiale de 2 larves par ml.

Des mortalités supérieures à 80% ont été observés les 9 premiers jours. Cette mortalité présente des symptômes typiques d'infection bactérienne. Les pathologies liées à des contaminations bactérienne affectent principalement les larves qui sont beaucoup plus sensibles que les adultes (Lambert et Nicolas 1998). En particulier les espèces *vibrio* sont des pathogènes principaux dans les cultures de bivalves (Gomez-Léon et al. 2008 ; Elston et al. 2008) avec des nouvelles espèces décrites ces dernières années. L'action principale des *vibrio* consiste en la nécrose des tissus mous et des structures ciliées ce qui empêche la filtration et les mécanismes d'alimentation qui causent la mort des larves. Par ailleurs la photopériode d'illumination des larves et la dose de nourriture mise à disposition (type et concentrations de phytoplancton) génère des facteurs limitants pour le développement des larves de *P. nobilis*, générant un stress considérable et une plus grande susceptibilité aux infections.

Ce travail présente pour la première fois des informations détaillées sur le cycle biologique de *P. nobilis* et fournit des informations importantes concernant les facteurs qui influencent la mortalité des larves et le succès du recrutement tels que les conditions d'illumination, la dose de nourriture, etc... ce qui établit des bases pour mieux connaître les conditions de culture de *P. nobilis* en captivité. A l'issue de ce travail, les infections bactériennes doivent être considérées comme un des points les plus sérieux à traiter pour cultiver les larves de *P. nobilis* et permettre le développement de cette espèce jusqu'au stade juvénile.

4. Discussion

Chacune des 3 méthodes présentées dans ce rapport a ses avantages et ses inconvénients. Que pourrait être un protocole de restauration adapté pour *P. nobilis* dans le futur ?

4.1. Limites des techniques

Transplantation :

Cette méthode présente l'avantage d'être mature, et les protocoles recommandés pour la réalisation de ces transplantations semblent solides.

Simple à réaliser, ne nécessitant pas d'outils complexe, cette technique peut être particulièrement adaptée pour le déplacement d'individus de *P. nobilis* qui seraient condamnés sinon à être détruits (chenal, modifications d'ouvrages portuaires, etc...).

En l'absence du protozoaire *Haplosporidium* dans les eaux, il pourrait également être intéressant de transplanter des individus adultes, par exemple une partie de ceux identifiés dans les lagunes :

- dans des zones de type AMP ou des zones du même type interdisant l'ancrage des navires. De cette façon, la pression anthropique est levée, et des actions de restauration peuvent être réalisées. Ainsi, pour cette transplantation, nous pourrions également utiliser les zones déjà mobilisées pour la restauration de l'herber de posidonies par exemple.
- provenant de grandes distances afin d'augmenter les chances de brassage de gènes, bien que les populations de *P. nobilis* présentent déjà une très grande diversité génétique, y compris dans les lagunes où il serait possible d'imaginer l'inverse (Peyran et al., 2021b)

Collecte de naissains:

Cette technique est en voie de standardisation. Les matériaux, périodes d'installation et de retrait, sont désormais connus et le guide de l'UICN peut permettre de progressivement être transformé en Guide des bonnes pratiques de la collecte de larves de *P. nobilis*.

Les larves voyagent loin puisque les collectes de naissains se font indépendamment des zones de présence des adultes. Du coup, les collectes peuvent être bonnes ou mauvaises, en fonction des

années (et des courants) et l'anticipation des collectes est impossible. Les mauvais résultats des collectes effectuées en 2022 dans le cadre du projet européen LIFE PINARCA (Life Pinnarca, 2022) mettent en évidence cette variation très dépendante de facteurs extérieurs non maîtrisés.

Des collectes généralisées et systématiques pourraient peut-être fournir suffisamment de naissains pour permettre une réhabilitation (par exemple dans tous les ports présentant des Biohuts, autour des digues, dans des zones présentant auparavant des densités de *Pina nobilis* importantes...). Un réseau devrait alors être mis en place afin de centraliser ces naissains et de réaliser des réimplantations dans des lieux sans pression anthropique.

Néanmoins, une fois ces collectes réalisées, la mise en culture de ces naissains en laboratoire ou dans leur milieu d'origine montre de très grandes faiblesses : la présence du protozoaire *Haplosporidium pinnae*, y compris dans l'eau de mer qui n'est pas assez bien filtrée dans les aquariums, induit très vite une forte mortalité des juvéniles qui présentent les caractéristiques de la parasitose : rétraction du manteau, absence de réponse aux stimuli, absence de croissance... En moins de 7 mois, la plupart des individus juvéniles meurent, en aquarium ou en mer (Garcia-March et al., 2020).

La récupération de gamètes en vue de fécondations in vitro

Cette technique semble être la moins mature. Si la formation des larves est possible, leur culture jusqu'au stade juvénile semblent nécessiter des études complémentaires. Le rôle de la nourriture semble être un point crucial dans la culture des larves. La composition de l'alimentation est généralement considérée comme étant une limite principale pour la culture des bivalves en captivité (« Manuel Pratique de l'écloserie de bivalves » édité par la FAO : Helm et al., 2006). En effet, une composition en phytoplancton aussi variée que ce qui est retrouvé à l'état sauvage peut renforcer l'efficacité du système immunitaire dans les cultures et augmenter la résistance à des maladies (Prado et al. 2020). Par ailleurs la composition de la nourriture de *P. nobilis* pourrait être encore plus complexe puisque cette espèce peut utiliser des ressources autres que le phytoplancton (zooplanton, particules organiques en suspension).

L'étude récente de Prado et al. 2021a étudie l'influence de cinq régimes alimentaires différents sur la croissance de juvéniles de *Pinna nobilis*. En se basant sur l'analyse des isotopes ¹³C et ¹⁵N, ces auteurs concluent que le gel de phytoplancton généralement utilisé pour l'alimentation des bivalves est totalement inadapté pour les grandes nacres et que des travaux complémentaires sont nécessaires afin de trouver des espèces de phytoplancton et/ou zooplancton qui pourraient être mieux assimilées par la grande nacre. Aucune des cinq compositions évaluées ne permet de générer une croissance de *P. nobilis* correcte et l'analyse des isotopes révèle des déficiences nutritionnelles majeures des nacres en captivité par rapport aux nacres sauvages.

L'alimentation des larves au cours de leur croissance jusqu'au stade juvénile, doit faire l'objet d'intenses programmes de recherche afin de permettre des taux de survie acceptables et de pouvoir imaginer l'utilisation de techniques d'aquaculture pour le repeuplement de la Méditerranée à grande échelle, par exemple avec des variants résistants au parasite *H. pinnae*.

4.2. La parasitose

S'il est possible de lever totalement la pression anthropique (en utilisant les ZNP des AMP par exemple) ou la pression des prédateurs (cages de protection), il sera par contre impossible de lutter contre le parasite *H. pinnae* responsable de la disparition de *P. nobilis* s'il est encore présent en Méditerranée. Toutes les techniques présentées dans ce rapport se heurtent au problème principal de son existence dans les zones où il pourrait être souhaitable de réimplanter *Pinna nobilis*.

Ce pathogène présent dans l'eau s'est étendu avec les courants de surface en effectuant des déplacements spectaculaires de plusieurs milliers de kilomètres (Vasquez-Luis et al., 2017 ; Cabanellas-Reboredo et al., 2019). L'existence à la fois de cellules uni- et multinucléées infectieuses et de spores résistantes, confère à *H. pinnae* de très fortes capacités d'infection et de transmission, ainsi qu'une forte résilience au changement des conditions environnementales (Catanese et al., 2018). Pour ces raisons, il doit être classé dans les parasites cryptogéniques (Essl et al., 2018). Le parasite peut rester vivant dans certains réservoirs comme des hôtes inconnus ou du sédiment et peut infecter de nouvelles nacres récemment installées, raison pour laquelle il n'y a pas eu d'installation de juvéniles dans les aires affectées alors que le recrutement en 2017 et 2018 était très fort dans les collecteurs.

Deux techniques très récentes éclairent désormais notre compréhension et peuvent être utilisées pour identifier la présence de ce parasite sur les sites d'intérêt :

- 1) la détection de *H. pinnae* dans des échantillons d'eau par analyse de l'ADN environnemental (eDNA) (Moro-Martinez et al., 2023). Brièvement, l'analyse des unités ribosomiques de *H. pinnae* (séquençage complet de ses

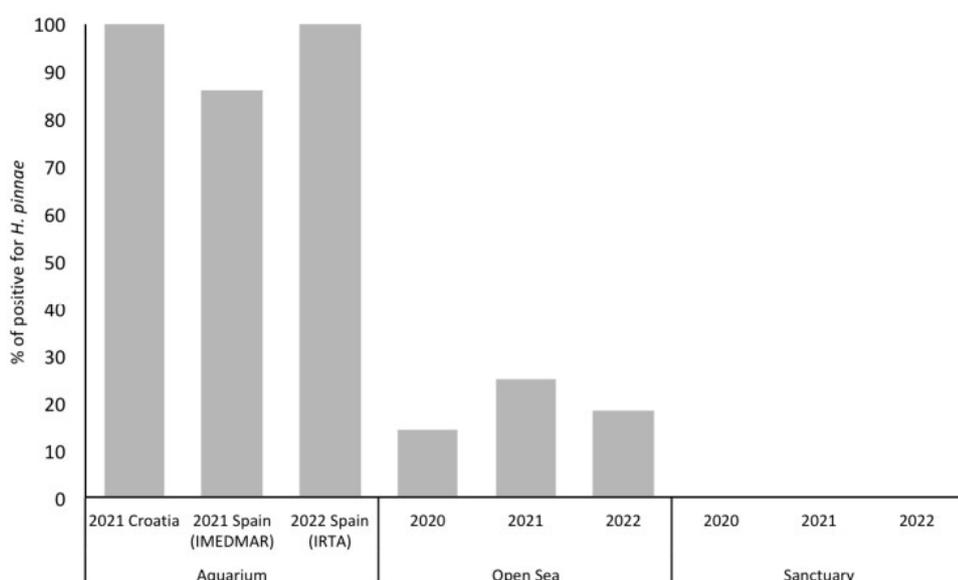


Figure 19 : Détection de *H. pinnae* dans l'eau de différentes origines (Moro-Martinez et al, 2023)

unités ADNr) permet de détecter la présence ou l'absence de ce parasite dans différents prélèvements d'eau. Sur les 56 échantillons d'eau analysés, tous les échantillons d'eau issus des aquariums et de sites espagnols en pleine mer étaient contaminés (figure 19). Seuls les échantillons d'eau issus des lagunes espagnoles, « sanctuaires » de *P. nobilis* présentaient une absence d'agent infectieux (Delta Ebro : 3 échantillons ; lagune Mar Menor : 8 échantillons).

La présence de *H. pinnae* sur des sites où *P. nobilis* a totalement disparu depuis 2016 montre aussi que des hôtes intermédiaires jouent un rôle important dans la préservation de ce pathogène dans l'environnement.

- 2) La détection de *H. pinnae* dans les déjections de *P. nobilis* : cette méthode rapide et non-invasive permet d'identifier la présence de ce pathogène au tout début de la contamination (Manfrin et al., 2023). Brièvement 18 échantillons de déjections de *P. nobilis* ont été collectés en Italie, l'ADN a été isolé dans tous les échantillons et la présence de *H. pinnae* a été testée en amplifiant un court fragment d'ADNr 18S marqueur de sa présence. Tous les échantillons analysés ont été positifs à ce pathogène au printemps alors que les individus adultes ne semblaient pas contaminés l'été suivant. Cette méthode est particulièrement intéressante car non invasive et elle pourrait permettre soit de détecter la présence de parasite sur des individus atteints mais non phénotypiquement malades, soit d'identifier et d'isoler les individus de *P. nobilis* potentiellement résistants au parasite.

4.3. L'hypothèse de la résistance

Les spécimens résistants

Dans toutes les études publiées à ce jour, on note la description de spécimens de grande taille toujours vivants et phénotypiquement non malades ; la forte diversité génétique mise en évidence dans l'ensemble des études sur les grandes nacres laisse envisager l'opportunité de voir émerger un génotype résistant (Vazques-Luis et al., 2021). En effet, une forte diversité génétique offre un éventail plus large de réponses possible en cas de perturbation du milieu. Elle détermine la pérennité et la résilience d'une population car elle augmente la probabilité qu'un génotype résistant à la perturbation soit présent chez certains individus (Oliver et al., 2015). Il a également été démontré qu'une diversité génétique élevée augmentait la résistance aux maladies et réduisait la propagation des parasites dans les populations d'hôtes (King et Lively, 2012). Les populations de nacres dans les lagunes laissent donc envisager la possibilité de voir l'émergence d'un génotype résistant aux parasites. Elles représentent également une ressource génétique particulièrement importante qui sera utile pour la mise en place de plans de sauvegarde et de repeuplement (Peyran 2021).

Une étude récente (Salis et al., 2022) a tenté de déterminer les mécanismes sous-jacents impliqués dans la résistance des grandes macres à *H. pinnae*. Pour cela, cette équipe a comparé les voies biologiques des nacres résistantes à *H. pinnae* des nacres normales et a constaté l'activation de deux récepteurs de l'immunité innée TLR4 et LEG 9. Comme les mollusques n'ont pas d'immunité adaptative, seule leur immunité innée est impliquée dans la reconnaissance et la lutte contre les parasites et ces observations sont donc très importantes (observées chez trois individus exposés aux parasites). Ces auteurs concluent en disant que l'architecture cellulaire et en particulier celle des épithélium (peau et muqueuses) pourrait être impliquée dans la résistance de *P. nobilis* à *H. pinnae*.

Néanmoins, l'homogénéité génétique mise en évidence sur toute la côte (Peyran et al. 2021b) suggère que toutes les populations partagent la même susceptibilité au parasite et que le nombre d'individus résistants sera faible. La survie de l'espèce pourrait donc ne dépendre que d'un petit nombre d'individus et même si la diversité génétique est élevée, elle est susceptible d'être considérablement réduite si seuls les individus ayant un génotype résistant aux parasites survivent. Les tailles de population seront drastiquement réduites ce qui s'accompagnera de l'isolement de certaines d'entre elles, d'effets fondateurs et donc probablement d'une forte dépression de consanguinité. La relation entre dépressions de consanguinité et risque d'extinction a largement été décrite chez de nombreuses espèces (Frankham et Ralls, 1998 ; Hedrick et Kalinowski, 2000) et limiter la consanguinité est désormais un des principaux enjeux de la biologie de conservation (Frankham, 2003).

Pinna rudis : la voie des hybrides

Pinna rudis est résistante au parasite (Catanese et al., 2018) mais nous connaissons très peu de choses sur cette espèce. Une étude récente a montré que des hybrides se forment naturellement et qu'ils sont également résistants à *H. pinnae* (Vazques-Luis et al., 2021). Cette étude a permis (sur 3 individus hybrides) de vérifier l'hybridation en biologie moléculaire (11 marqueurs). Bien que cette étude soit limitée géographiquement (Cabrera National

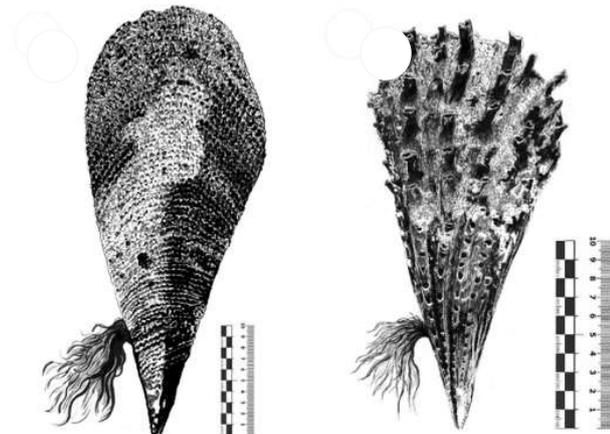


Figure 20 : Phénotypes caractéristiques de *P. nobilis* (gauche) et de *P. rubis* (droite). Vazques-Luis et al., 2021

Park) et numériquement, elle met en évidence i) que les phénomènes de gamétogénèses sont au moins partiellement concomitants entre les deux espèces, ii) que la reproduction est possible entre les deux espèces iii) que les phénotypes des hybrides sont impossible à reconnaître et que seules des analyses génétiques le permettent iv) que les hybrides plus marqués *rudis* ou plus marqué

nobilis (partageant plus d'ADN avec l'une ou l'autre des espèces parentes) sont tous résistants à *H. pinnae*.

La fertilité de ces hybrides et leur capacité de générer une descendance elle aussi résistante ne sont pas connues. Ces aspects doivent être étudiés et les plans de conservation pourraient étudier la possibilité d'hybrider les deux espèces en faisant en sorte qu'elles puissent se reproduire ensuite, même si cela signifie à terme la perte d'une espèce.

Retrouver les deux espèces à de fortes concentrations n'est pas quelque chose de courant ce qui pourrait rendre l'hybridation relativement rare. Des études complémentaires sont nécessaires pour savoir si la fréquence de rencontres de ces hybrides est un phénomène isolé ou un processus courant. Néanmoins au vu de la situation actuelle de *Pinna nobilis*, cette étude est une grande utilité pour la conservation des espèces.

Par ailleurs, il est désormais important de considérer les individus dits résistants comme étant potentiellement des hybrides de *P. nobilis* et *P. rudis* : ne pas réaliser une analyse génétique systématique de ces individus résistants générerait des erreurs très importantes au regard de la conservation de *P. nobilis*.

Dans le contexte de la pandémie actuelle, le point important à tenir en compte est que ces hybrides semblent être résistants. Ainsi, la solution génétique pour la résistance à *H. pinnae* existe et devrait faire l'objet de programmes de recherche afin d'identifier le ou les gènes impliqués. L'insertion de ces gènes de résistance dans *P. nobilis* (conduisant à la formation d'OGM) ou de séquences d'ARNm (type « vaccins » à ARN) serait alors à imaginer pour sauver l'espèce. Ces solutions impliquent néanmoins, des indispensables discussions éthiques préalables.

4.4. L'hypothèse de la salinité

Les lagunes et les ports concentrent un grand nombre d'activités anthropiques générant une forte pression sur l'environnement qui peut conduire à la dégradation de l'habitat. Les lagunes sont des milieux de transition entre terre et mer et sont soumises à de très fortes variations physiques (température, salinité, turbidité) et écologiques (phénomènes de « malaïgues » conduisant à l'asphyxie de la lagune). La présence de grandes nacres dans ces habitats témoigne donc d'une tolérance très forte de ce bivalve aux variations de son environnement, tolérance étudiée par ailleurs (Lagana et al., 2014 ; Cappello et al., 2019). *Pinna nobilis* supporte ainsi des grandes différences de température (de 7 à 28°C) avec un optimum de salinité de 34 à 40 (Butler et al. 1993). Loin de cet optimum, on retrouve les grandes nacres dans la lagune de Mar Menor (Espagne) qui voit sa salinité varier de 42 à 47 (Fernández-Torquemada and Sánchez-Lizaso, 2011), ou dans celle de Ghar El Melh (N-E Tunisie) qui peut varier entre 36 to 51 (Zakhama-Sraieb et al., 2011). A l'autre extrémité, on les retrouve aussi à Fangar Bay (delta de l'Ebro) où elles sont régulièrement

exposées à des salinités de 20 à 35, associées à des échanges d'eau douce issues de la riziculture (Carrasco et al., 2008).

Actuellement (figure 21), une seule population de grande nacre localisée à Fangar bay reste exempte de pathogène. Quelques kilomètres plus au sud, la population à Alfacs bay a été infectée en 2018 (Garcia-March et al. 2020), pour sa partie la plus externe localisée proche de la pleine mer et sujette à de plus hautes salinités. En septembre 2019, un phénomène météorologique appelé DANA a causé des pluies très importantes en Espagne induisant une chute de salinité à 39 générant la présence positive de *H. pinnae* dans le lagon de Mar Menor. Cet épisode suggère l'importance de préserver des conditions de salinité idéale pour protéger les dernières populations de grandes nacre de Méditerranée.

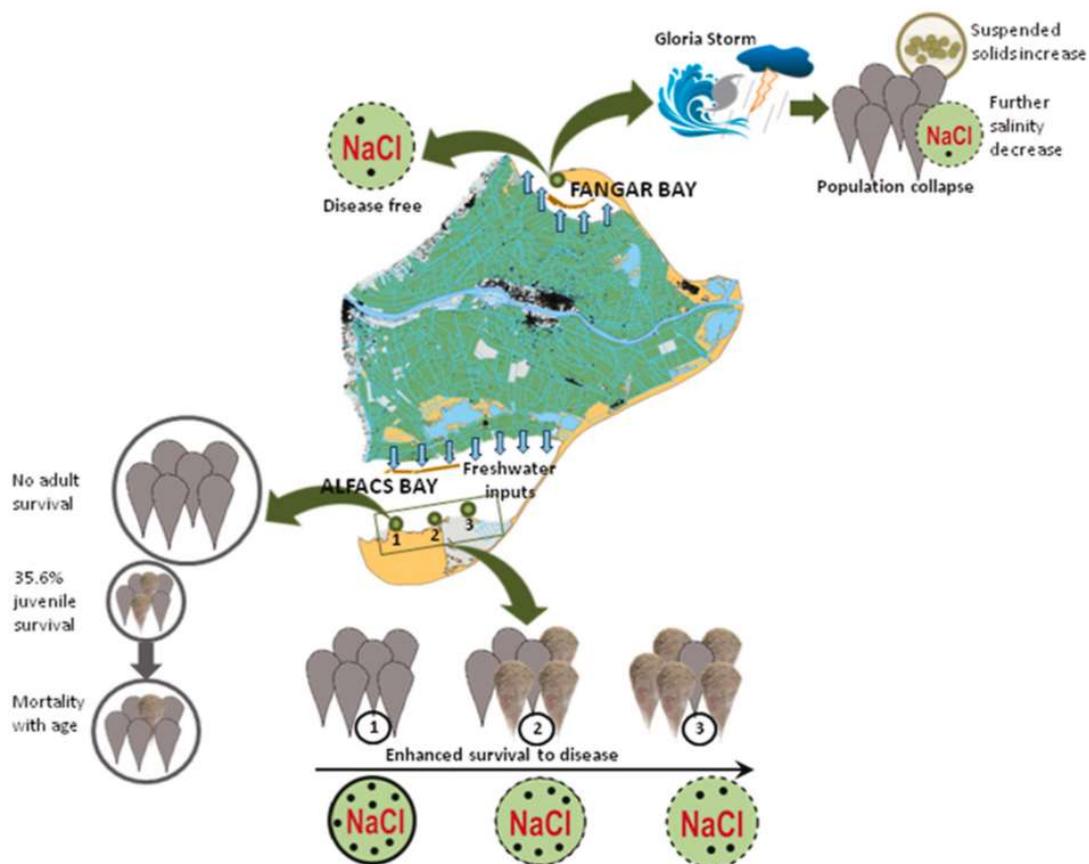


Figure 21 : Mortalité en fonction de la salinité de Alfacs Bay et de Fangar Bay en Espagne (Prado et al., 2021b)

Or si la quasi-totalité des populations de grandes macres situées en mer a été décimée par la pandémie, les populations lagunaires semblent à ce jour encore peu affectées par le parasite. En outre, les parasites du genre *Haplosporidium* ont généralement des dynamiques d'infestation saisonnière et dépendante des paramètres environnementaux. Par exemple *Haplosporidium nelsoni* responsable de la mortalité massive chez l'huître creuse de Virginie (*Crassostrea virginica*) est capable de supporter un intervalle de salinité relativement réduit entre 20 et 30 en dehors duquel il est peu virulent ou meurt (Arzul et Carnegie, 2015).

De la même façon, *H. pinnae* semble ne pas tolérer les valeurs de salinité extrêmes. Entre ces deux extrêmes, *H. pinnae* montre une virulence qui augmente avec la salinité (voir la figure 22), pour des valeurs comprises entre 35 et 39 (Prado et al., 2021b).

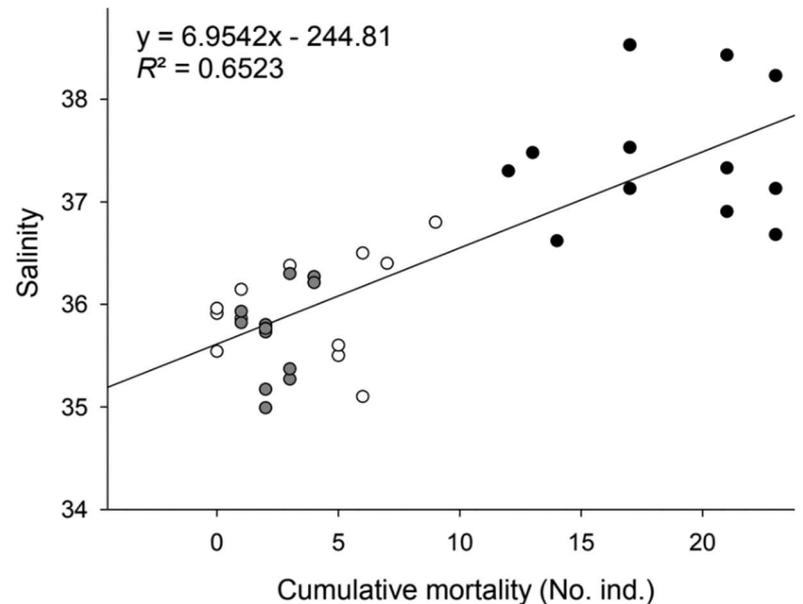


Figure 22 : Mortalité de *Pinna nobilis* en fonction de la salinité (Prado et al., 2021b)

Or, les lagunes Méditerranéennes dont les lagunes Françaises (voir figure 23), mais aussi la Mer de Marmara (voir figure 24), avec leurs niveaux de salinité très bas (mais aussi immensément variables), permettent donc d'imaginer un effet « habitat refuge » très intéressant pour cette espèce en danger critique d'extinction.

Plus que des valeurs absolues de salinité, notre attention devrait se porter sur leurs variations qui oscillent fortement d'un jour à l'autre, car ce sont peut-être ces oscillations qui empêchent *H. pinnae* de survivre (plus que les valeurs moyennes de salinité qui sont proches de l'optimale de virulence pour Thau et Leucate par exemple alors que

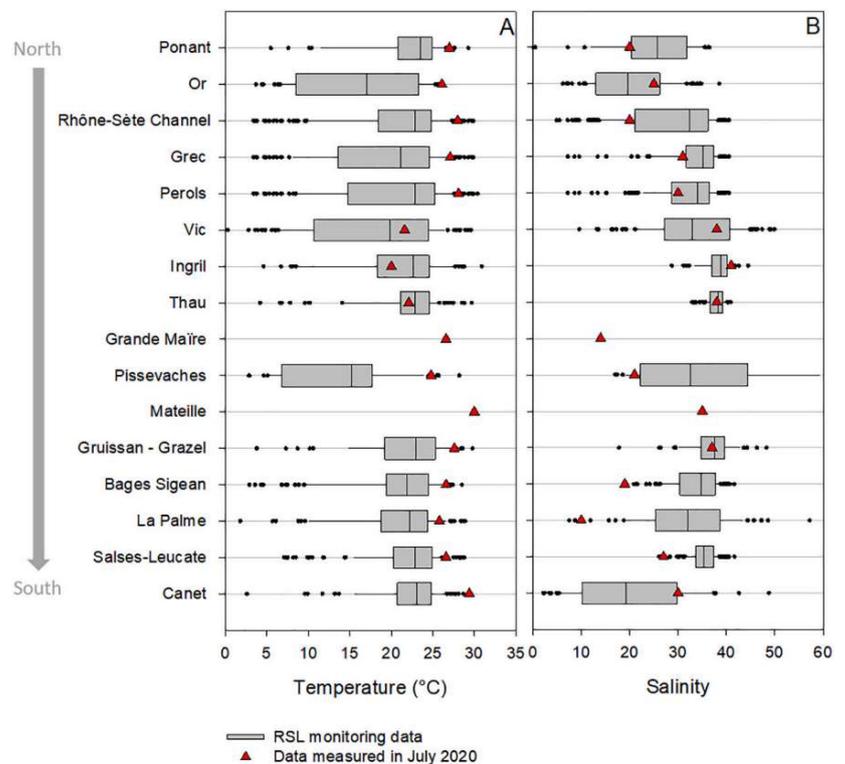


Figure 23 : Salinité de 16 lagunes françaises ; valeurs moyennes, individuelles et mesurées en Juillet 2020 (triangle rouge) (Marchessaux et Belloni, 2021)

ce sont les lagunes qui préservent le plus grand nombre de grandes nacres intactes actuellement). A noter que les lagunes Françaises font l'objet d'études poussées afin de comprendre leur caractéristiques physico-chimiques, biologiques et leurs fragilités (Habitats des lagunes méditerranéennes françaises classées au titre de la Directive Cadre sur Eau, créée le 9 sept 2019 ; Rapport CHAMILA, Menu et al., 2019).

Ces réserves mettent aussi en évidence la très grande fragilité de ces habitats instables, refuges de *Pinna nobilis*, qui peuvent subir des attaques climatiques et/ou anthropiques qui pourraient avoir des effets irréversibles sur la grande nacre (Pardo et al. 2021b).

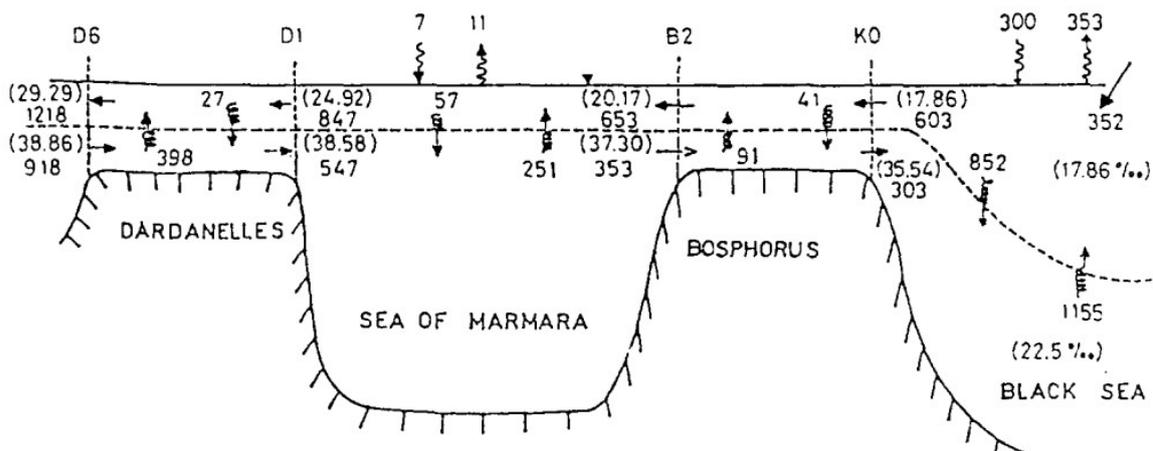


Figure 24 : Salinité (chiffres entre parenthèses en g/l) et flux (en km³.y⁻¹ sachant que 1 km³.y⁻¹ = 31,7 m³s⁻¹) entre Mer Méditerranée à gauche, Mer de Marmara au centre et Mer Noire à droite. La Mer de Marmara subit un flux d'entrée d'eau salée en profondeur et un flux de sortie d'eau douce de la mer Noire en surface ce qui induit des oscillations très fortes (Besiktepe et al., 1994)

4.5. L'hypothèse de la température

Les phénomènes de réchauffement de la mer ou de l'eau des lagunes conduisent à des épisodes d'explosion de prolifération de bactéries, de parasites, de plancton, souvent le cauchemar des ostréiculteurs et des conchyliculteurs. Une des hypothèses en cours de test par les équipes de

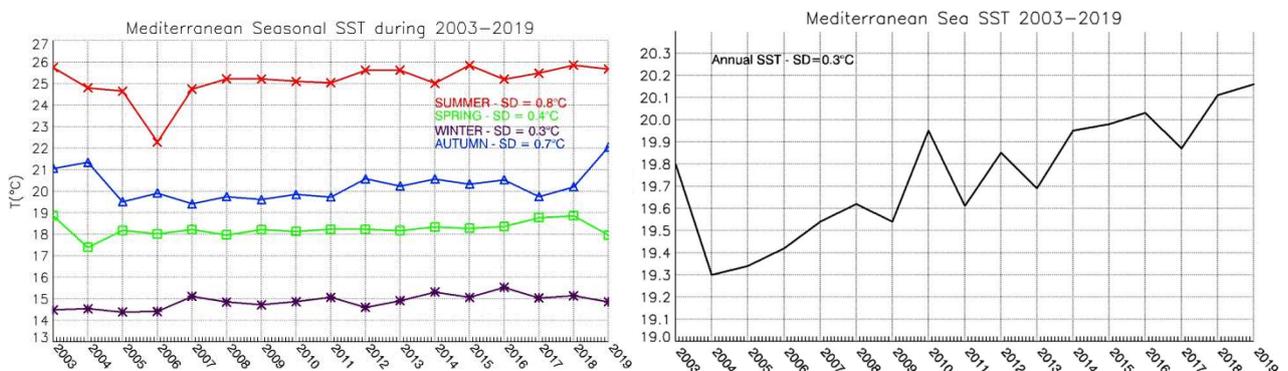


Figure 25 : Température moyenne de surface de la Méditerranée entre 2003 et 2019 (annuelle à droite et par saison à gauche) mesurée par satellites. A noter la tendance à l'augmentation observée en moins de 20 ans (Garcia-Monteiro et al., 2022)

L'Institut Océanographique Paul Ricard est que *H. pinnae* puisse être moins virulent (réduction de la croissance et de la multiplication) si la température est plus basse (en particulier inférieure à 13,5°C). Pour tester cette hypothèse, Vicente et al. effectuent des opérations de transplantation des individus vivants dans des profondeurs plus importantes, sous la thermocline d'été (Iles des Embiez, Corse, Port Cros)(Vicente 2020).

A noter cependant que cette solution pourrait n'être que temporaire, car les variations de température sont très importantes au cours de l'année (oscillations) et que la température moyenne augmente inexorablement année après année (voir figure 25), conduisant à l'abaissement de la profondeur de la thermocline en été en particulier.

Par ailleurs, même si on retrouve des nacres jusqu'à 60 mètres de profondeur, ce n'est pas leur habitat le plus favorable à leur physiologie, leur croissance (Moreteau et Vicente, 1982) et donc leur survie. Par ailleurs, replanter sous la thermocline permanente ne permet pas d'avoir les 10°C d'écart nécessaires à la gamétogenèse et à la fertilité des adultes ...

Cette solution doit donc être considérée comme une solution temporaire, qui peut permettre de gagner du temps en maintenant des individus vivants.

4.6. Connectivité et diversité génétique

Deux études de connectivité ont été réalisées avant la pandémie entre les populations des îles Baléares et la côte espagnole (Gonzalez-Wanguemert et al., 2019) et entre les îles Baléares et Banyuls (Wesselmann et al., 2018), en couplant des analyses génétiques et des modélisations de l'hydrodynamisme. Ces études montrent une forte connectivité entre les sites pourtant distants de milliers de kilomètres, influencée par les courants marins, avec des populations « sources » qui exportent beaucoup de larves et des populations « puits » qui sont maintenues essentiellement grâce aux apports de larves des populations voisines. Wesselmann et al. identifient la baie des Alfacs en Espagne comme un site clé car les grandes nacres y sont particulièrement abondantes (près de 90.000 individus comptabilisés avant la pandémie) et exporteraient un nombre important de larves, contribuant ainsi au maintien de plusieurs populations des îles Baléares. Ainsi, le repeuplement des populations alentour pourrait dépendre de la survie de cette population.

De la même façon, les lagunes du littoral occitan (Leucate et Thau en particulier) abritent en France probablement les dernières populations denses de grandes nacres saines qui sont également peu affectées par le parasite et pourraient donc contribuer au repeuplement des populations alentour. L'étude en 2021 de Peyran et al. (2021b) démontre par ailleurs que la population des grandes nacres du Golfe du Lion est une population génétiquement très homogène avec une grande diversité génétique.

Cette diversité génétique implique probablement un large nombre d'émetteurs de gamètes et une population d'un grand nombre d'individus. Maintenir ce haut niveau de diversité génétique dans les populations est un élément fondamental de la conservation génétique car cela préserve la capacité des espèces à s'adapter aux changements environnementaux et augmente la résilience (Franckham, 1999). Cette étude démontre que préserver *Pinna nobilis* dans une seule lagune de l'Occitanie par exemple, pourrait permettre de préserver l'ensemble de la variabilité génétique des grandes nacres du Golfe de Lyon. Dans le contexte du développement d'un plan de secours pour l'espèce, conserver un petit nombre d'individus en aquarium, sous des conditions contrôlées afin de les protéger et d'éviter qu'ils ne soient infestés par le parasite pourrait être suffisant pour fournir un backup de presque la totalité de la diversité génétique de l'espèce.

4.7. Quelles pistes de recherche pour le futur ?

Si seules les lagunes subsistent en tant que sanctuaires de *P. nobilis*, il pourrait y avoir une extinction totale dans le cas d'erreurs humaines (pollution), ou de phénomènes d'eutrophisation massif (« malaïgues ») qui arrivent régulièrement.

Il est donc nécessaire de réaliser un certain nombre de programmes de recherche afin de tenter de sortir de l'impasse dans laquelle nous nous dirigeons.

a) La recherche d'individus résistants ou tolérants

Une campagne à l'échelle Européenne pourrait être réalisée afin de :

- géolocaliser les individus de grande taille sexuellement adultes, qui semblent encore vivants et qui ne présentent pas le phénotype de la parasitose, relever profondeur et température en été, (ou poser une sonde de température au voisinage),
- effectuer des prélèvements d'eau de mer afin de vérifier la présence de *H. pinnae*,
- effectuer des prélèvements de déjections de chaque individu ainsi identifié afin de vérifier la présence/absence de *H. pinnae* pour confirmer la tolérance/résistance,
- vérifier si l'individu est génétiquement *P. nobilis* ou s'il est un hybride avec *P. rudis*.

Le programme European Life Pinnarca semble avoir été imaginé pour aller dans ce sens mais les données publiques ne permettent pas de savoir quelles sont les expérimentations réellement en cours.

b) Aquaculture

La récupération des émissions de gamètes des individus ainsi isolés en a) et leurs croisements sont inutiles tant que l'alimentation des larves et des nacres juvéniles n'est pas améliorée.

Un programme de recherche dédié à la recherche de la nourriture idéale (phyto/zoo planctons, particules organiques...) et mobilisant les spécialistes Méditerranéens en aquaculture des bivalves, devrait être initié, afin de permettre aux nacres de survivre en captivité sans déficit majeur (comme reporté actuellement avec une mortalité de 100%).

c) L'étude de *Haplosporidium pinnae*

Il est frappant de voir le peu de connaissance que nous avons de ce parasite. Il est nécessaire de lancer des études de recherche permettant d'identifier les conditions optimales de croissance et les sensibilités de ce parasite aux conditions du milieu (salinité, pH, température, substances stimulants et inhibants sa croissance, sa prolifération, sa virulence, etc...).

d) La recherche des gènes induisant la tolérance

Les hybrides entre *P. rudis* et *P. nobilis* d'une part et *P. rudis* d'autre part semblent insensibles (ou tolérants) à la parasitose.

- Les études qui ont été commencées devraient être poursuivies afin d'identifier le ou les gènes véritablement indispensables à la résistance des nacres. Avec l'identification de ces gènes, il serait possible d'imaginer l'insertion de ces gènes dans l'ADN des grandes nacres selon différents procédés. OGM, vaccins à ARN, pourrions nous éviter cela ou devons-nous les promouvoir dans ce cas ? Ces questions éthiques devront être débattues...
- Ces gènes devraient être recherchés dans les prélèvements cités ci-dessus (point a)) afin de déterminer si cette solution est identique à celle mis en place par le brassage génétique et la sélection naturelle
- Rechercher et étudier les hybrides : sont-ils reproducteurs ? Leurs descendance portent-elles la résistance ? Bien entendu, il n'est pas possible de baser toutes les recherches sur les hybrides car cela signifie que l'espèce *P. nobilis* est « perdue », mais cela peut constituer un « plan B » à la sauvegarde d'une forme proche des grandes nacres en Méditerranée, au cas où nous irions vers une extinction.

e) La protection des populations des lagunes

Au regard de la situation, les populations de *Pinna nobilis* dans les lagunes doivent être protégées à tout prix. Entrée des eaux douces, pollutions chimiques et microbiennes, le risque est grand de voir les populations lagunaires de grandes nacres s'effondrer suite à un phénomène climatique violent ou anthropique inattendu.

Un suivi de ces populations est donc indispensable, comme celui effectué par le programme Hippo-Thau en 2021-2022 pour la lagune de Thau.

La communication et les actions de prévention sont très importantes pour la gestion de ces lagunes mais risquent d'être insuffisantes. Des réglementations (interdiction d'ancrage dans les zones peuplées de *P. nobilis* en particulier) et des grands travaux (réalisation de bassins de rétention « tampons » ?) pourraient peut-être être imaginés...

La protection des juvéniles dans les lagunes pourrait faire l'objet d'un programme participatif : plus particulièrement sensibles aux prédateurs les 18 premiers mois, leur engagement dans des conditions contrôlées permettrait d'augmenter le nombre d'adultes reproducteurs et le nombre de naissains obtenus ; ce réensemencement de la mer est indispensable pour que le brassage génétique puisse enfin un jour permettre à certains individus d'acquérir les gènes de tolérance/résistance à *H. pinnae*.

5. Conclusion

Il est probable que les individus lagunaires auront un rôle important à jouer dans la survie de l'espèce et potentiellement dans le repeuplement des populations en mer, via l'exportation vers les habitats côtiers, de larves produites dans les lagunes.

Il est peu probable que la réhabilitation passive (via l'émergence d'individus tolérants/résistants en pleine mer), soit suffisante pour permettre la survie de *Pinna nobilis* en pleine mer, et il est donc important de lancer des programmes de recherche permettant d'envisager des actions de réhabilitation active.

Néanmoins à ce jour, avec la présence confirmée du parasite dans l'ensemble du bassin Méditerranéen, ni la voie de la profondeur, ni celle de la salinité, ne sont des solutions qui permettent une véritable réhabilitation en pleine mer.

Des programmes de protection des grandes nacres dans les lagunes, ces zones qui deviennent pour elles des « sanctuaires » sont indispensables mais la fragilité et la sensibilité de ces écosystèmes ne rendent pas les actions simples à réaliser. Une première solution afin de réduire la pression anthropique dans ces sanctuaires est réglementaire : interdire l'ancrage dans les lagunes dans les zones où *P. nobilis* est présente.

La situation est compliquée pour *P. nobilis* et une extinction reste probable à ce jour (figure 26) ! Des pistes peuvent être explorées mais nécessitent des programmes de recherche concertés et collaboratifs de toutes les équipes de recherche du bassin Méditerranéen, mais aussi de l'acharnement, du temps et de l'argent !



I - Glossaire

AMP : Aire Marine Protégée

CEPRALMAR : Centre d'Etudes pour la PRomotion des Activités Lagunaires et Maritimes

CHAMILA : Cartographie des habitats en milieu lagunaire méditerranéen (Menu et al., 2019). Projet piloté par Ifremer/Agence de l'Eau Rhône Méditerranée Corse

CRCM : Comité Régional de Conchyliculture de Méditerranée

FAO : Food and Agriculture Organization de de l'Organisation des Nations Unies (ONU)

FFESSM : Fédération Française d'Etudes et de Sports Sous-Marins

IOPR : Institut Océanique Paul Ricard

MME : Massive Mortal Event, phénomène de mort massive observé chez *Pinna nobilis* à partir de 2016, suite à l'infection de *H. pinnae*.

LIFE PINNARCA : Projet Européen dédié à la protection et à la restauration de la grande nacre *Pinna nobilis*, en mer Méditerranée (www.lifepinnarca.com). (1 oct 2021-31 septembre 2024)

OGM : Organisme Génétiquement Modifié

SMBT : Syndicat Mixte du bassin de Thau

UICN : Union Internationale pour la Conservation de la Nature. Organisation intergouvernementale fondée en France en 1948.

ups : unité de mesure de la salinité de l'eau ; Unité Pratique de Salinité ou nombre de grammes de sel par litre d'eau

WoRMS : World Register of Marine Species (<https://www.marinespecies.org>)

ZNP : Zone de Non Prélèvement (pêche interdite)

II - Bibliographie

- Acarli S. **2021**. Population, aquaculture and transplanted applications of critically endangered species *Pinna nobilis* (Linnaeus 1758) in the Mediterranean sea. *Mar. Sci. Tech. Bull.* 10(4) 350-369.
- Acarli S., Lok A., Acarli D. **2011**. Preliminary spat settlement of fan mussel *Pinna nobilis* Linnaeus 1758 on a mesh bag collector in Karantina Island (Eastern Aegean Sea, Turkey). *Fres. Env. Bull.(FEB)*, 20(10), 2501-2507.
- Addis P., Secci M., Brundu G., Manunza A., Corrias S., Cau A. **2009**. Density, size structure, shell orientation and epibiotic colonization of the fan mussel *Pinna nobilis* L. 1758 (Mollusca: Bivalvia) in three contrasting habitats in an estuarine area of Sardinia (Western Mediterranean). *Sci. Mar.* 73(1), 143-152.
- Arzul I., Carnegie R.B. **2015**. New perspective on the haplosporidian parasites of molluscs. *J. invertebr. Pathol.* 131, 32-42.
- Bach P. **1985**. La pêche dans l'étang de Thau. Application de quelques notions d'écologie théorique aux communautés de poisson et à leur exploitation. Stratégie de quelques populations ichtyologiques capturées. *Université des Sciences et Technique de Languedoc, Montpellier*. 316 pages. Thèse Doctorat 3ème cycle.
- Basso L, Vázquez-Luis M, García-March JR, Deudero S, Alvarez E, Vicente N et al. **2015**. The pen shell, *Pinna nobilis*: A review of population status and recommended research priorities in the Mediterranean sea. *Adv.Mar. Biol.* 71:109-160.
- Beukema J., Dekker R., Essink K., Michaelis H. **2001**. Synchronized reproductive success of the main bivalve species in the Wadden sea: causes and consequences. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 211, 143-155.
- Besiktepe S., Sur H., Ozsoy E., Latif A., Oguz T, Unluata U. **1994**. The circulation and hydrography of the Marmara Sea. *Prog. Oceanog.* 34, 285-334.
- Bottari T., Spinelli A., Busalacchi B., Rinelli P., Giacobbe S. **2017**. Transplant trials of the fan mussel *Pinna nobilis* inside the coastal lagoon of Capo Peloro (Central Mediterranean, Italy). *J. Shellfish Research*, 36(1), 3-8.
- Butler, A. J., N. Vicente & B. De Gaulejac. **1993**. Ecology of the pteroid bivalves *Pinna bicolor* Gmelin and *Pinna nobilis* L. *Mar. Life (Marseille)* 3, 37-45.
- Cabanellas-Reboredo, M., Vasquez-Luis M., Moure B. et al. **2019**. Tracking a mass mortality outbreak of pen shell *Pinna nobilis* populations : a collaborative effort of scientists and citizens. *Nature Sci. Rep.* 9, 13355, 1-11.
- Cappello T., Maisano M., Giannetto A., Natalotto A., Parrino V., Mauceri A., Spano N. **2019**. Pen shell *Pinna nobilis* L. (Mollusca: Bivalvia) from different peculiar environments: adaptive mechanisms of osmoregulation and neurotransmission. *Eur. Zool. J.* 86, 333-342.
- Carrasco A.R., Plomaritis T., Reyns J., Ferreira O., Roelvink D. **2008**. Tide circulation pattern in a coastal lagoon under sea level rise. *Ocean Dynamics* 68, 1121-1139.
- Carella F., Aceto S., Pollaro F., Miccio A. Laria C., Carrasco N., Prado P., De Vico G. **2019**. A mycobacterial disease is associated with the silent mass mortality of the pen shell *Pinna nobilis* along the Tyrrhenian coastline of Italy. *Nature Sci. Rep.* 9, 2725, 1-12.
- Caronni S., Cristo B., Torelli A. **2007**. Tentativi di reimpianto del mollusco bivalve *Pinna nobilis* (L.) in una AMP della Sardegna. *Biol. Mar. Medit.* 14(2) 98-99.

- Catanese G., Grau A., Valencia J.M., Garcia-March J.R. et al. **2018**. *Haplosporidium pinnae* sp. Nv., a haplosporidan parasite associated with mass mortalities of the fan mussel, *Pinna nobilis*, in the Western Mediterranean sea. *J. Invert. Pathol.* 157, 9-24.
- Cirronis G. **2016**. Due tessitrici di Sant'Antioco hanno realizzato, in bissi marino, un arazzo per il Papa ed una tovaglia per la Basilica. 5 mai 2016. Journal « *La Provincia del Sulcis Iglesiente* » (consulté le 14 mai 2023).
- Cizmek H., Colic B., Grau A., Catanese G. **2020**. An emergency situation for pen shells in the Mediterranean : the Adriatic Sea, one of the last *Pinna nobilis* shelters, is now affected by a mass mortality event. *J. Invert. Pathol.* 173, 107388.
- Combelles S., Moreteau J.C., Vicente N. **1986**. Contribution à la connaissance de l'écologie de *Pinna nobilis* L. (Mollusque eulamellibranche), *Sci. Rep. Port-Cros Natl. Park*, 12, p.29-43.
- Davenport J., Ezgeta-Balic D., Peharda M., Skejic S., Nincevic-Gladan Z., Matijevic S. **2011**. Size-differential feeding in *Pinna nobilis* L. (Mollusca: Bivalvia): exploitation of detritus, phytoplankton and zooplankton. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 92:246-254.
- Coppa S., de Lucia G. A., Magni P., Domenici P., Antognarelli F., Satta A., Cucco A. **2013**. The effect of hydrodynamics on shell orientation and population density of *Pinna nobilis* in the Gulf of Oristano (Sardinia, Italy). *J. Sea Res.* 76, 201-210.
- De Gaulejac B., Vicente N. **1997**. *Pinna nobilis* : captage de naissain, première estimation de la population de l'herbier du Parc national de Port-Cros. *Parc National de Port-Cros*, 11p. [Rapport dans le cadre du contrat n°96-020-83400 PC].
- De Gaulejac B., Vicente N. **1995**. La réimplantation de la grande nacre de Méditerranée *Pinna nobilis* (L.). In 55 ans au service de la Nature. *Assoc. Monégasque Protec. Nat.* 11-114.
- De Gaulejac B., Vicente N. **1990**. Ecologie de *Pinna nobilis* (L.) mollusque bivalve sur les côtes de Corse. Essais de transplantation et expériences en milieu contrôlé. *Grand Forum de la Malacologie et Symposium int. d'écophysiologie des mollusques. Société Française de Malacologie. Ile des Embiez, Haliotis* 20, p.83.
- De Gaulejac B., Henry M., Vicente N. **1995a**. An Ultrastructural study of gametogenesis of the marine bivalve *Pinna nobilis* (Linnaeus 1758). I. Oogenesis. *J. Mollusc.Stud.* 61, 375-392.
- De Gaulejac B., Henry M., Vicente N. **1995b**. An Ultrastructural study of gametogenesis of the marine bivalve *Pinna nobilis* (Linnaeus 1758). II. Spermatogenesis. *J. Mollusc.Stud.* 61, 393-403.
- Essl F., Bacher S., Genovesi P., Hulme P., Jeschke J., Katsanevakis S et al., **2018**. Harmonizing the definitions of native vs alien taxa: principles, applications and uncertainties. *BioScience* 68, 496-509.
- Fernandez-Torquemada Y., Sanchez-Lizaso J.L. **2011**, Response of two Mediterranean seagrasses to experimental change in salinity. *Hydrobiologia* 669, 21-33.
- Frankham R. **2003**. Genetics and conservation biology. *C.R. Biol.* 326, 22-29.
- Frankham R. **1999**. Quantitative genetics in conservation biology. *Genet. Res.* 74, 237-244.
- Frankham R., Ralls K. **1998**. Inbreeding leads to extinction. *Nature* 392, 441-442.
- Garcia-March J.R., Tena J., Henandis S., Vazques-Luis M. et al. **2020**. Can we save a marine species affected by a highly infective, highly lethal, waterborne disease from extinction ? *Biol. Conserv.* 243, 108498, 1-11.
- Garcia-March J., Vicente N. **2006**. Protocol to study and monitor *Pinna nobilis* populations within the marine protected area. *MedPAN-Tnterreg IIIC-project (MEPA)*. 62pp.

- Garcia-Monteiro S., Sobrino J.A., Julien Y., Soria G., Skokovic D. **2022**. Surface temperature trends in the Mediterranean sea from MODIS data during years 2003-2019. *Reg. Stud. Mar. Sci.* 49, 1, 102086.
- Giacobbe S. **2002**. Epibiontic mollusc communities on *Pinna nobilis* L. (Bivalvia, Mollusca). *J. Nat. Hist.* 36(12)1385-1396.
- Gonzalez-Wanguemert M., Basso L., Balau A., Costa J., Renault L., Serrao E.A., Duarte C.M., Hendriks I.E. **2019**. Gene pool and connectivity patterns of *Pinna nobilis* in the Balearic Islands (Spain, Western Mediterranean sea) : implications for its conservation through restocking. *Aquat. Conserv. Mar. Freshw. Ecosyst.* 29, 175-188.
- Hedrick P.W., Kalinowski S.T. **2000**. Inbreeding depression in conservation biology. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 31, 139-162.
- Helm M., Bourne N., Lovatelli A. **2006**. Ecloserie de bivalves. Un manuel pratique. *FAO Document technique sur les pêches*. No. 471. Rome, FAO. 184pp.
- Hignette M. **1983**. Croissance de *Pinna nobilis* L (Mollusque eulamelibranche) après implantation dans la Réserve Marine de Monaco. *Rapp. Comm. Int. Expl. Sci. Mer Medit.* 28(3), 237-238.
- Katsanevakis S., Tsirintanis K., Tsaparis D., Doukas D., Sini M. et al. **2019**. The cryptogenic parasite *Haplosporidium pinnae* invades the Aegean Sea and causes the collapse of *Pinna nobilis* populations. *Aquat. Invas.* 14 (2), 150-164.
- Katsanevakis S. **2016**. Transplantation as a conservation action to protect the Mediterranean fan mussel *Pinna nobilis*. *Marine Ecology Progress Series* 546, 113-122.
- Katsanevakis, S. **2006**. Population ecology of the endangered fan mussel *Pinna nobilis* in a marine lake. *Endanger. Species Res.* 1, 51-59.
- Kersting D., Bennabdi M., Izek C., Grau A., Jimenez C., Katsanevakis S., Ozturk B., Tuncer S., Tunesi L., Vazques-uis M, Vicente N., Otero-Villanueva M. **2019**. *Pinna nobilis*. The IUCN Red List of threatened species 2019 ed.
- Kersting D., Hendriks I.E. **2019**. Short Guidance for the construction, installation and removal of *Pinna nobilis* larval collector. IUCN 6pp.
- Kersting D., Garcia-March J.R. **2017**. Long-term assesment of recruitment, early stages and population dynamics of the endangered Mediterranean fan mussel *Pinna nobilis* in the Columbretes Islands. *Mar. Environ. Res.* 130, 282-292.
- Kersting D., Vazques-Luis M., Mourre B., Belkhamssa F. et al. **2020**. Recruitment disruption and the role of unaffected populations for potential recovery after the *Pinna nobilis* mass mortality event. *Front.Mar. Sci.* 7.
- King K.C., Lively C.M. **2012**. Does genetic diversity limit disease spread in nature host population ? *Heredity (Edinb)*. 109, 199-203.
- Kozul V., Glavic N., Bolotin J., Antolovic N. **2011**. The experimental rearing of fan mussel *Pinna nobilis* (Linnaeus 1758). *46th Croatian and 6th International Symposium on Agriculture*, Opatija, Croatia, 14-17 February 2011, *Proceedings* pp 803-806.
- Lagana G., Barreca D., Giacobbe S., Bellocco E. **2014**. Anaerobiosis and metabolic plasticity of *Pinna nobilis*: biochemical and ecological features. *Biochem. Syst. Ecol.* 56, 138-143.

Leal-Soto S., Barraza-Guardado R., Castro-Longoria R., Chavez-Villalba J., Hoyos-Chairez F. 2011. Cultivation of pen shells: an example with *Atrina maura* in Northwestern Mexico. *World Aquacult. Soc.* 42(6), 789-800.

Lattos A., Giantsis I., Karagiannis D., Michaelidis B. 2020. First detection of the invasive Haplosporidian and mycobacteria parasites hosting the endangered bivalve *Pinna nobilis* in Thermaikos gulf, north Greece. *Mar. Environ. Res.* 155, 104889.

Life Pinnarca. 2022. Reports of recruited fan mussels in 2022. *Deliverable DC1.1.*, 33pp. https://www.lifepinnarca.com/_files/ugd/6e6b38_f00c0faec07c4ee5979292c6bd90e47a.pdf.

Livret de la Mer, Nature de Provence. 2021. Departement13.fr. Direction de l'Environnement, des grands projets et de la recherche. 13256 Marseille Cedex 20.

Louisy P. & Girard P. 2022. Recensement des hippocampes, syngnathes et grandes nacres de l'étang de Thau. Bilan 2021-2022. Association Peau-Bleue, FFESSM Occ., *CPIE Bassin de Thau Nov.*, 14pp.

Mihailinovic M. 1955. Lostura. *Morsko Ribarstvo.*7(5), 113-114.

Marchessaux G., Belloni B. 2021. Expansion of *Mnemiopsis leidyi* in the French Mediterranean lagoons along the Gulf of Lion *J. Sci. Res.* 168, 101995.

Manfrin C., Ciriaco S., Segarich M., Aiello A., Florian F., Avian M. et al. 2023. *Haplosporidium pinnae* detection from the faeces of *Pinna nobilis*: a quick and noninvasive tool to monitor the presence of pathogen in early stage or during fan mussel mass mortality. *Diversity*, 15, 477, 1-9.

Marin F., Jackson D., Pasche D., Harrington M.J., Perrin J, et al. 2019. Il faut sauver le soldat Pinna ! La Grande nacre de Méditerranée, bivalve patrimonial, est en grave danger d'extinction. *16èmes Rencontres Bourgogne-Franche-Comté Nature*, Oct 2019, Saint-Brisson, France. pp.233-242.

Martinez-Alvarez V., Gallego-Elvira B., Maestre-Valero J.F., Tanguy M. 2011. Simultaneous solution for water, heat and salt balances in a Mediterranean coastal lagoon (Mar Menor, Spain). *Estuarine Coast. Shelf Sci.* 91, 250-261.

Menu Marion, Vaz Sandrine, Bajjouk Touria, Derolez Valerie, Fiandrino Annie, Giraud Anais, Grillas Patrick, Ouisse Vincent (2019). *Rapport final du projet CHAMILA (Cartographie des habitats en milieu lagunaire méditerranéen)*. R.ODE/UL/LER/LR/19.34.

Moro-Martinez I., Vazques-Luis M., Garcia-March J.R., Prado P., Micic M., Catanese G. 2023. *Haplosporidium pinnae* parasite detection in seawater samples. *Microorgansims* 11, 1146, 1-13.

Moreteau J.C., Vicente N. 1982. Evolution d'une population de *Pinna nobilis* L. (Mollusca, Bivalvia). *Malacologia* 22, 341-345.

Miyawaki D., Sekiguchi H. 2020. Long term observation of larval recruitment processes of bivalve assemblage on temperate tidal flats. *Bethos Res.* 55(1), 1-16.

Noel P. 2020. La crevette commensale de la grande nacre (*Pontonia pinnophylax*) aussi menacée ? in *Méditerranée mer vivante 20ème édition 2019-2020*, pp 61-66

Oliver T.H., Heard M.S. Isaac N.J., Roy D.B. et al. 2015. Biodiversity and resilience of ecosystem functions. *Trends Ecol. Evol.* 30, 673-684.

Peyran C. 2021. Etude génétique des populations de grandes nacres, *Pinna nobilis*, en Occitanie : identification de priorités de conservation dans un contexte de pandémie. Biodiversité. Sorbonne Université, Français. NTT : 2021SORUS454.

Peyran C., Morage T., Nebot-Colomer E., Iwankow G., Planes S. **2021a**. On the brink to extinction : unexpected residual habitats raise hope for the survival of the fan mussel, *Pinna nobilis*, along the Occitan coast (north-western Mediterranean)

Peyran C., Boissin E., Morage T., Nebot-Colomer E., Iwankow G., Planes S. **2021b**. Genetic homogeneity of the critically endangered fan mussel, *Pinna nobilis*, throughout lagoons of the Gulf of Lion (North-Western Mediterranean sea). *Sci. Reports* 11, 7805.

Poisson J.M. **2008**. La Sardaigne productrice de matières précieuses au Moyen Âge : état des questions et projets d'enquêtes. *Mélanges de l'école française de Rome*, 120-1, pp. 159-171.

Prado P., Cabanes P., Hernandis S., Garcia-March R., Tenal J. **2021a**. Stable isotope analyses reveal major nutritional deficiencies in captive vs field juvenile individuals of *Pinna nobilis*. *Marine Environ. Res.* 168, 1-10.

Prado P., Grau A., Catanese G., Cabane P., Carella F., Fernandez-Tejedor M., Andree K., Anon T., Hernandis S, Tena J., Garcia-March R. **2021b**. *Pinna nobilis* in suboptimal environments are more tolerant to disease but more vulnerable to severe weather phenomena. *Mar. Environ. Res.* 163 (1) 105220.

Prado P., Andree K.B., Trigós S., Carrasco N., Caiola N., Garcia-March J.R., Tena J., Fernandez-Tejedor M., Carella F. **2020**. Breeding, planktonic and settlement factor shape recruitment patterns of one of the last remaining major population of *Pinna nobilis* within Spanish waters. *Hydrobiologia* 847, 771-786.

Prado P., Caiola N., Ibanez C. **2014**. Habitat use by a large population of *Pinna nobilis* in shallow water. *Scientia Marina* 78, 555-565.

Rabaoui L., Zouari S., Katsanevakis S., Ben Hassine O. **2010**. Modeling population density of *Pinna nobilis* (Bivalvia) on the eastern and southeastern coast of Tunisia. *J. Molluscan. Stud.* 76, 340-347.

Rabaoui L., Tlig-Zouari S., Cosentino A., Kalthoum O., Hassine O. **2009**. Associated fauna of the fan shell *Pinna nobilis* (Mollusca: Bivalvia) in the northern and eastern Tunisian coasts. *Sci. Mar.* 73:129-141.

Rouanet E., Trigós S., Vicente N. **2015**. From youth to death of old age: the 50-year story of a *Pinna nobilis* fan mussel population at Port-Cros Island (Port-Cros National Park, Provence, Mediterranean Sea). *Sci. Rep. Port-Cros Natl. Park* 29, 209-222.

Russo P. **2012**. Segnalazione di una grande colonia di *Pinna nobilis* (Linnaeus 1758) nella Laguna di Venezia. *Contrib.Not. SIM* 31, 31-34.

Salis P., Peyran C., Morage T., de Bernard S., Nourikyan J., Coupé S., Bunet R., Planes S. **2022**. RNA-Seq comparative study reveals molecular effectors linked to the resistance of *Pinna nobilis* to *Haplosporidium pinnae* parasite. *Nature Portfolio, Scientific Report* 12, 21229.

Sea Silk Project, Basel Natural History Museum, Augustinstrasse 2, CH-Basel, Switzerland, Felicitas Maeder (felicitas.maeder@muschelseide.ch). <https://muschelseide.ch/en/news/>

Srayer D.L., Caraco N.F., Cole J.J., Findlay S., Pace M.L. **1999**. Transformation of freshwater ecosystems by bivalves. *Bioscience* 49, 19.

Trigós S., Vicente N., Prado P., Espinós F.J. **2018**. Adult spawning and early larval development of the endangered bivalve *Pinna nobilis*. *Aquaculture* 483:102-110.

Trigós S., Vicente N. **2016**. Protocole pour la transplantation des nacres *Pinna nobilis* dans divers substrats. *Mar. Life* 18, 55-61.

- Trigos S., Vicente N., Garcia-March J.R., Torres J., Tena J. **2015**. Embryological Development of *Pinna nobilis* in controlled conditions. In *Marine Productivity : perturbation and resilience of eco-systems*. pp 369-371.
- Trigos S., García-March J.R., Vicente N., Tena J., Torres J. **2014**. Utilization of muddy detritus as organic matter source by the fan mussel *Pinna nobilis*. *Med. Mar. Sci.* 13, 667-674.
- Tsatiris A., Papadopoulos V., Makri D., Topouzelis K., Manoutsoglou E., Hasiotis T., Katsanevakis S. **2018**. Spatial distribution, abundance and habitat use of the endemic Mediterranean fan mussel *Pinna nobilis* in Gera gulf, Lesvos (Greece) : comparison of design-based and model-based approach. *Med. Mar. Sci.* 19(3), 642-655.
- Vargas-Yanez M., Garcia-Martinez M.C., Moya F., Baldin R., Lopez-Jurado J.L., Serra M., Zunino P., Pascual J., Salat J. **2017**, Updating temperature and salinity mean values and trends in the Western Mediterranean : the RADMED project. *Progress Oceanography* 157, 27-46.
- Vazques-Luis M., Nebot-Colomer E., Deudero S., Planes S., Boissin E. **2021**. Natural hybridization between pen shell species: *Pina rudis* and the critically endangered *Pinna nobilis* may explain parasite resistance in *P. nobilis*. *Mol. Biol. Rep.* 48, 997, 1004.
- Vazques-Luis M., Alvarez E., Barrajon A., Garcia-March J.R., Grau A., Hendriks I.E. et al. **2017**. S.O.S. *Pinna nobilis*: A Mass Mortality Event in Western Mediterranean Sea. *Frontiers in Marine Science* 4:220.
- Velasco L.A., Borrero F.J. **2004**. Seed collection and experimental culture of the pen shell *Pinna carnea* (Gmelin, 1791) (bivalvia : pinnidae) in the Tayrona National Natural Park, Colombian Caribbean. *Rev. Intertropica* 1, 75-83.
- Verne J., 1870. Vingt mille lieues sous les mers. Edit. Pierre-Jules Hetzel.
- Vicente N. **2020**. La grande nacre de Méditerranée *Pinna nobilis*, un coquillage bivalve plein de noblesse. Editions PUF.
- Vicente N. **1984**. Grand coquillage plein de distinction. La grande nacre de Méditerranée *Pinna nobilis*. *Revue de la fondation océanographique Ricard*, 7, 30-34.
- Vicente N., De Vaugelas J. **2020**. Péril sur la grande nacre (*Pinna nobilis*) de Méditerranée. in *Méditerranée mer vivante 20eme édition 2019-2020*, pp 58-60.
- Vicente N., Kirchofer D., Trigos S. **2016**. Etat des populations du mollusque bivalve *Pinna nobilis*, la grande nacre de Méditerranée sur les côtes de Provence de 2006 à 2016. *Institut Océanique Paul Ricard*, 62pp.
- Vicente N., Moreteau J.C., Escoubet P. **1980**. Etude de l'évolution d'une population de *Pinna nobilis* L. (Mollusque Eulamellibranche) au large de l'anse de La Palud (Parc National sous-marin de Port-Cros), *Trav. Sci., Parc natl. Port-Cros*, 6, 39-68.
- Wesselmann M., Gonzales-Wanguemert M., Serrao E.A., Engelen A.H., Renault L., Garcia-March J.R., Duarte C.M., Hendriks I.E. **2018**. Genetic and oceanographic tools reveal high population connectivity and diversity in the endangered pen shell *Pinna nobilis*. *Sci. Rep.* 8, 4770.
- Wilke M. **1999**. Spatio-temporal dynamics of the physico-chemical and chemical factors in the water of a heavily transformed Mediterranean coastal lagoon, the etang de Salses Leucate France. *Vie et Milieu* 49(2-3), 177-191.

Zakhama-Sraieb R., Sghaier Y.R., Omrane A., Charfi-Cheikhrouha E. **2011**. Density and population structure of *Pinna nobilis* (Mollusca Bivalvia) in the Ghar El Melh lagoon (N-E Tunisia). *Bull. Inst. Natn. Scien. Tech. Mer Salammbô* 38, 65-71.

Zavodnik D., Brenko M., Legac M. **1991**. Synopsis on the fan shell *Pinna nobilis* L. in the eastern Adriatic Sea. In: Boudouresque CF, Avon M, Gravez V (eds) *Les Espèces Marines à Protéger en Méditerranée. GIS Posidonie publications. Marseille*, pp 169-178.

III - Annexe

Sea Silk Project : Muchelseide

Collection d'objets fabriqués à partir de byssus de grande nacre rassemblés par le Musée de Bale, en vue de la réalisation d'une exposition dédiée à la Soie de Mer.

Sea Silk Project, Basel Natural History Museum, Augustinstrasse 2, CH-Basel, Switzerland, Felicitas Maeder (felicitas.maeder@muschelseide.ch). <https://muschelseide.ch/en/news/>



Cap a pelliccia (toque), 20th c.

Cap a pelliccia (toque), MC-Monaco



Pair of gauntlets, 18th c.

Pair of gauntlets, F-Strasbourg



Agraffe with fibre beard, 19th c.

Agraffe with fibre beard, I-Padova



Tie, 20th c.

Tie, I-Sant'Antioco CA



Single lady's glove

Single lady's glove, UK-London



Short single man's glove, 19th c.
Short single man's glove, USA-Chicago



Tie, 19th c.
Tie, UK-Edinburgh



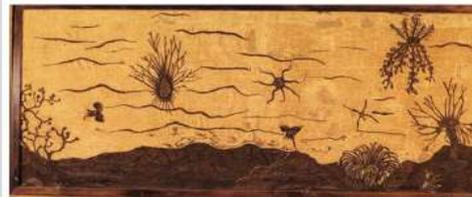
Children's cap 1, 20th c.
Children's cap 1, I-Sant'Antioco, Sardinia



Fibre beards, glued together, 19th c.
Fibre beards, glued together, UK-Edinburgh



Single long lady's glove
Single long lady's glove, D-Munich



Tapestry 'Mare', 20th c.
Tapestry 'Mare', I-Taranto



Children's jacket 2, 20th c.
Children's jacket 2, Private property



Cord end, 20th c.
Cord end, MC-Monaco



Woven textile pattern, 18th c.
Woven textile pattern, D-Monschau



Tie, 20th c.
Tie, Private property



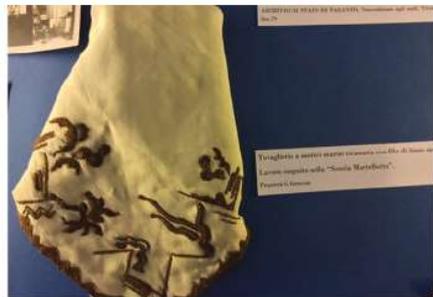
Stockings
Stockings, D-Braunschweig



Fragment of textile, 20th c.
Fragment of textile, Private property



Pair of short man's gloves, pair, 19th c.
Pair of short man's gloves, F-Rouen



Napkin with sea silk embroidery, 20th c.
Napkin with sea silk embroidery, Private property



Knitted belt, 19th c.
Knitted belt, GB-Oxford



Tapestry Leo XIII. 19th c.
Tapestry Leo XIII. Private property



Fibre beards and sea silk
Fibre beards and sea silk, GB-Oxford



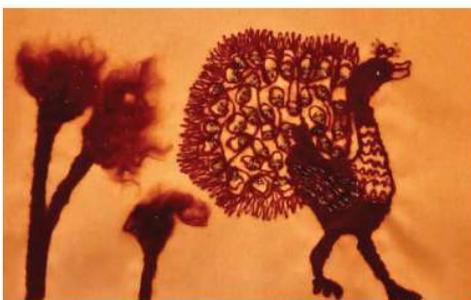
Embroidery Dragon 3, 21st c.
Embroidery Dragon 3, Private property



Little bag, 21st c.
Little bag, Private property



Embroidery Flowers 3, 21st c.
Embroidery Flowers 3, Private property



Embroidery Peacock 3, 21st c.
Embroidery Peacock 5, Private property



Pair of short gloves
Pair of short gloves, D-Berlin



Embroidery Bird, 21st c.
Embroidery Bird, Private property



Lady's purse a pelliccia, 20th c.
Lady's purse a pelliccia, MC-Monaco



Single lady's glove, 18th c.
Single lady's glove, CH-Neuchâtel



Pair of man's gloves
Pair of man's gloves, GB-London



Knitted cap, 14th c.
Knitted cap, F-Saint Denis



Woven fragment
Woven fragment, UK-London



Muff a pelliccia, 19th c.
Muff a pelliccia, USA-Chicago



Pair of short man's gloves, 19th c.
Pair of short man's gloves, UK-Edinburgh



Children's jacket 1, 20th c.
Children's jacket 1, I-Sant'Antioco, Sardinia



Short single man's glove, 19th c.
Short single man's glove, USA-Washington



Woven shawl, 20th c.
Woven shawl, Private property



Tapestry 'Gesù Buon Pastore', 20th c.
Tapestry 'Gesù Buon Pastore', I-Taranto



Single long lady's glove
Single long lady's glove, D-Jena



Fur fragment
Fur fragment, UK-London



Two ties, 19th c.
Two ties, I-Firenze



Pair of short man's gloves, 19th c.
Pair of short man's gloves, I-Siena



Pair of short gloves
Pair of short gloves, CH-Bern



Elbow long single lady's glove
Elbow long single lady's glove, F- Paris



Four fibre beards and cleaned sea silk, 19th c.
Four fibre beards and cleaned sea silk, GB-Oxford



Venus of Botticelli, 20th c.
Venus of Botticelli, Private property



Tapestry 'Vita di mare' 1, 20th c.
Tapestry 'Vita di mare' 1, Private property



Knitted cap, turban, 20th c.
Knitted cap (turban), Private property



Bracelet 1, 21st c.
Bracelet 1, Private property



Embroidery Flowers 1, 21st c.
Embroidery Flowers 1, Private property



Embroidery Dragon 1, 21st c.
Embroidery Dragon 1, Private property



Embroidery Peacock 1, 21st c.
Embroidery Peacock 1, Private property



Two passementeries, 20th c.

Two passementeries, Private property



Pair of short gloves, 19th c.

Pair of short gloves, F-Paris



Sleeveless jumper, 20th c.

Sleeveless jumper, Private property



Single short glove left, 19th c.

Single short glove left, GB-Oxford



Tapestry 'Vita di mare' 2, 20th c.

Tapestry 'Vita di mare' 2, Private property



Stockings, 17th/18th c.

Stockings, D-München



Tapestry 'Vita di mare' 3, 20th c.

Tapestry 'Vita di mare' 3, Private property



Bracelet 2, 21th c.

Bracelet 2, Private property



Embroidery Dragon 2, 21st c.
Embroidery Dragon 2, Private property



Embroidery Peacock 2, 21st c.
Embroidery Peacock 2, Private property



Embroidery Flowers 2, 21st c.
Embroidery Flowers 2, Private property



Embroidery Pinna with fishes, 21st c.
Embroidery Pinna with fishes, Private property