Utilisation de micro-algues concentrées pour le conditionnement des géniteurs de l'huître à ailes noires *(Pteria penguin)*

Matthew Wassnig[1]

Introduction

Le nombre souvent insuffisant de nacres de *Pteria penguin* disponibles constitue un frein à la production de perles à partir de cette espèce, en particulier là où elle constitue une espèce exotique dont le recrutement dans le milieu naturel est incertain (Finau 2005 ; Southgate 2008). La reproduction de *P. penguin* en écloserie est désormais une nécessité dans des pays tels que les Tonga, où la collecte des huîtres à l'état sauvage est insuffisante pour garantir la viabilité de la production perlière commerciale (Teitelbaum and Ngaluafe 2008).

La production en écloserie repose sur l'émission contrôlée de gamètes par les géniteurs matures pendant la saison de ponte naturelle, qui, dans le cas de *P. penguin*, se réduit parfois à quelques mois par an (Milione and Southgate in press). La production annuelle de naissain en écloserie est donc limitée par la brièveté de la période de maturité des gonades des reproducteurs. Compte tenu de la sensibilité des embryons et des larves aux moindres variations de la qualité de l'eau et des paramètres environnementaux, la production en écloserie d'huîtres perlières est marquée par de forts taux de mortalité (Alagarswami et al. 1989 ; Rose et Baker 1994 ; Southgate et al. 2008). Les écloseries doivent donc pouvoir fonctionner le plus longtemps possible pendant l'année, afin de fournir un maximum de juvéniles au secteur perlicole.

La production de gamètes en dehors de la saison naturelle de la reproduction a donné de bons résultats pour certaines espèces de peignes (Monsalvo-Spencer et al. 1997 par exemple) et de clams (Ojea et al. 2008 par exemple) en ajustant la température de l'eau et en leur apportant un régime alimentaire adapté à base de micro-algues vivantes. A contrario le conditionnement artificiel de l'huître perlière est une entreprise notoirement difficile. Hayashi et Seko (1986) ont été les premiers à constater la maturation d'une espèce d'huître perlière (*Pinctada fucata*) en réponse à un régime de micro-algues de culture, même si le régime alimentaire monospécifique appliqué n'a pas débouché sur une pleine maturation des géniteurs. En mettant en œuvre des techniques de culture en aquarium, Saucedo et al. (2001) sont parvenus à stimuler le développement d'ovocytes mûrs et de spermatozoïdes actifs chez *Pinctada mazatlanica*, même si, là encore, le développement des gonades n'a pas atteint le stade de la ponte ou de l'éjaculation. Dans une étude récente (2011) Wassnig a constaté l'augmentation de l'efficacité de la filtration et de la digestion chez *P. penguin* en réponse à des modifications rapides de la disponibilité de la nourriture, et à l'augmentation de la température de l'eau, qui met en évidence l'intérêt potentiel de ces paramètres pour induire la production de gamètes par les reproducteurs tout au long de l'année.

Les huîtres perlières présentent en règle générale une capacité de filtration bien supérieure à celle d'autres bivalves d'intérêt commercial : le secteur est donc en forte demande de phytoplancton de culture (Yukihira et al. 1998a). L'alimentation des bivalves au moyen de substances nutritives en suspension étant optimisée par le maintien d'un apport constant de nutriments (Winter 1978), les systèmes de conditionnement des géniteurs imposent l'emploi de volumes importants de micro-algues marines. Or, rares sont les écloseries d'huîtres perlières qui disposent des installations et des capacités techniques adaptées (Southgate 2008). Avec l'apparition sur le marché de concentrés de micro-algues, l'élevage de bivalves dans des exploitations continentales peut être envisagé même en l'absence d'infrastructure de production de micro-algues vivantes. La présente étude évalue la viabilité des concentrés de micro-algues pour le conditionnement des géniteurs de *P. penguin* dans un système d'aquarium à circulation continue.

Matériel et méthodes

Le système utilisé dans le cadre de notre expérimentation est constitué de 5 aquariums identiques d'une capacité de 30 litres « à circulation continue » pouvant accueillir chacun 3 huîtres. De l'eau de mer filtrée (à 1 μm) a été pompée à partir d'un bac thermorégulé de 1 200 litres et transféré vers un bac général bénéficiant d'une forte aération, d'où elle a été acheminée vers les aquariums à circulation continue au débit de 60 ± 2 l aquarium^{-1} h^{-1} (figure. 1), ce qui permet un renouvellement complet de l'eau toutes les 30 minutes. Une pompe à membrane délivre en continu des algues concentrées dans l'eau de mer circulant entre le bac thermorégulé et le bac général (figure 1). L'eau de mer filtrée entre dans la partie inférieure de chaque aquarium, avant de suivre un mouvement ascendant autour des huîtres puis de s'écouler à partir de la partie supérieure du bac. Les aquariums individuels sont légèrement aérés pour garantir un taux d'oxygénation supérieur à 5,0 mg l^{-1} et une saturation de 75 pour cent. Les aquariums ont été vidés et nettoyés une fois par jour afin d'en éliminer les matières fécales.

La présente étude a été réalisée par l'unité MARFU (*Marine and Aquaculture Research Facilities Unit*) de l'Université James Cook, dans le nord de l'État du Queensland (Australie) sur des *Pteria penguin* prélevées dans le milieu naturel au sein d'une population de l'île voisine d'Orpheus (18°36'24 S and 146°29'10 E). L'expérience a été menée sur une période de 40 jours, entre la fin août et le début du mois d'octobre, afin de déterminer la possibilité d'utiliser les techniques d'élevage en aquarium pour stimuler la production de gamètes avant la saison de ponte naturelle qui s'étale de décembre à mars (Milione

[1] Pearl Oyster Research Group, School of Marine and Tropical Biology, James Cook University, Townsville, Queensland 4811, Australie. Courriel : matthew.wassnig@jcu.edu.au

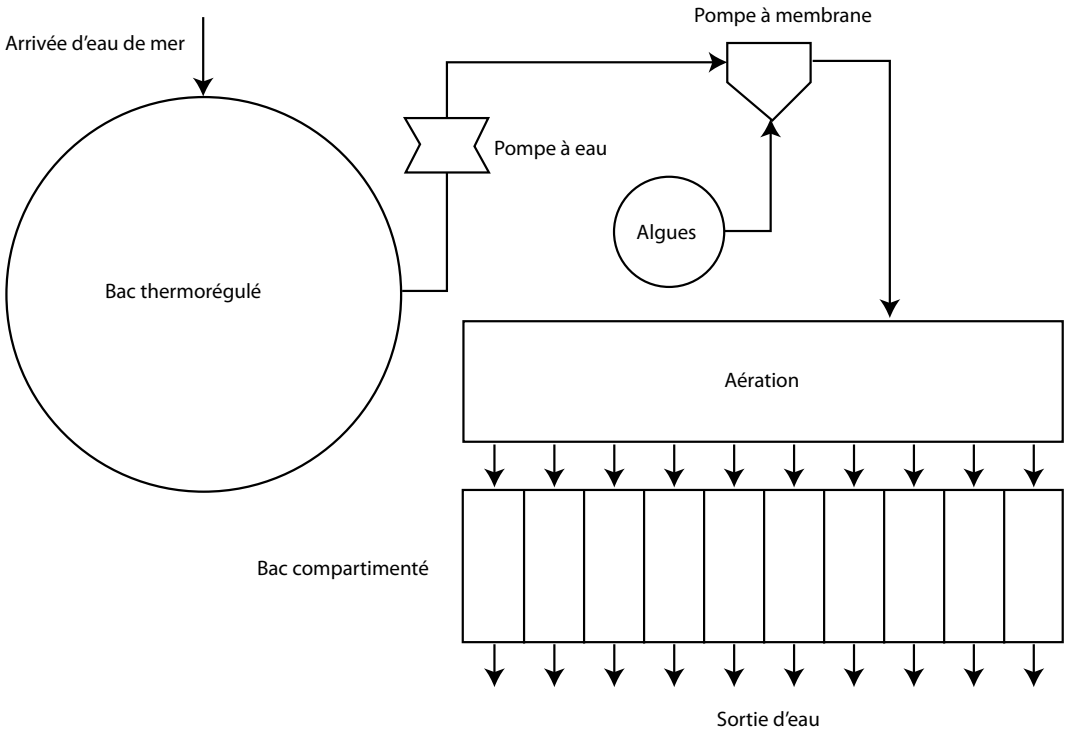

Figure 1. Schéma du système d'aquariums contenant les géniteurs de *Pteria penguin*.
Les flèches indiquent le sens de circulation de l'eau de mer filtrée entre l'arrivée et la sortie.

and Southgate in press). Quinze *Pteria penguin* adultes ont été réparties entre les 5 aquariums (par groupes de 3), la hauteur moyenne des coquilles placées dans les différents aquariums ne présentant pas de différence significative (α = 0,05) (hauteur moyenne de la coquille = 204 mm).

Pendant toute la durée de l'étude, les géniteurs ont été alimentés en continu avec un mélange de micro-algues concentrées de la gamme *Instant Algae® (Instant Algae®, Reed Mariculture Incorporated*, Campbell, CA, USA 95008), dont la composition était la suivante, en nombre de cellules par ml : *Isochrysis* sp. (Haptophyceae) 50 % – *Pavlova* sp. (Haptophyceae) 25 %, *Thalassiosira weissflogii* sp. (Bacillariophyceae) 15 % et *Tetraselmis* sp. (Chlorophycophyceae) 10 % ; 1 mg de mélange (poids sec) par litre correspond à environ 10 000 cellules par ml.

Les géniteurs ont bénéficié d'un apport continu d'algues concentrées en suspension, dont la densité s'élevait à 10 x 10^3 cellules par ml au début de l'étude, ce qui correspond au double de la densité moyenne de phytoplancton rencontrée par les huîtres perlières dans leur habitat naturel sur la Grande barrière de corail (Yukihira et al. 1998a). À partir du 11e jour, la densité nutritive a été augmentée de 10 x 10^3 cellules par ml tous les dix jours. L'eau a été maintenue à une température ambiante de 23,5 °C pendant les dix premiers jours, avant d'être réchauffée de 1,5 °C tous les dix jours à compter du 11^e jour. Ce protocole s'appuyait sur les résultats des travaux de Wassnig (2011) ayant montré une augmentation de l'absorption énergétique de *P. penguin* pour une densité nutritive et une température de l'eau allant jusqu'à 40 x 10^3 cellules par ml et 28 °C respectivement.

Le taux de filtration (CR) (l h^{-1}), qui correspond au taux d'élimination des cellules d'algues dans l'eau, a été mesuré dans chaque aquarium tous les trois jours à partir du 4^e jour. CR a été estimé au moyen de l'équation de Hildreth et Crisp (1976) : CR (l h^{-1}) = F (C1 – C2), dans laquelle :

- F = débit de l'eau pénétrant dans chaque aquarium (l h^{-1}),
- C0 = densité des algues autour de chaque huître (cellules par ml),
- C1 = densité des algues dans l'eau entrant dans l'aquarium à l'arrivée d'eau
- C2 = densité des algues dans l'eau s'écoulant de chaque aquarium.

En raison du volume et du débit importants de l'eau dans les aquariums contenant plusieurs géniteurs, il n'a pas été possible de mesurer CR avec précision pour chaque huître. Cependant, l'évolution du comportement trophique a été suivie dans le temps en traçant la courbe des taux de filtration relatifs, qui correspondent aux pourcentages attribués à chaque valeur mesurée en fonction de la valeur mesurée la plus élevée (équivalant à 100 pour cent).

Les matières fécales déposées dans chaque aquarium ont été prélevées tous les 3 jours afin d'observer l'efficacité d'absorption (AE), qui correspond au pourcentage de

matières organiques disponibles absorbées pendant la digestion. Le calcul de AE a été effectué au moyen de l'équation de Conover (1966):

$$AE\ (\%) = 100 \times (a - f)/(1 - f)$$, dans laquelle:

f = fraction des matières fécales sèches perdues au cours du processus de calcination, et

a = fraction des algues sèches perdues au cours du processus de calcination.

L'absorption d'énergie (EA) (J h^{-1}) par aquarium a été estimée en multipliant les éléments suivants: teneur énergétique de la source nutritive (J mg^{-1}), densité d'algues (mg l^{-1}), taux de filtration relatif (l h^{-1}) et efficacité d'absorption (%) (d'après Widdows 1985). Les taux relatifs d'absorption d'énergie ont été déterminés en attribuant à chaque valeur mesurée un pourcentage calculé en fonction de la valeur mesurée la plus élevée (équivalant à 100 pour cent).

Évaluation de l'état de maturité sexuelle

Au bout de 40 jours d'expérimentation, on a procédé à la dissection des 15 *P. penguin* afin de conserver leurs tissus gonadiques dans une solution de fixation à base de formaldéhyde FAAC (formaldéhyde 4 %, acide acétique 5 %, chlorure de calcium 1,3 %). Des échantillons de tissu gonadique prélevés sur chaque huître ont fait l'objet d'une analyse histologique suivant les méthodes décrites par Milione et Southgate (sous presse). Des fragments de tissu ont été prélevés sur les gonades concentrées, enrobés dans de la paraffine puis découpés en tranches fines pour obtenir des coupes transversales pouvant être montées sur des lames de verre et colorées aux fins d'observation au microscope optique à très fort grossissement. À partir d'images obtenues avec un grossissement de 100 x, on a procédé au classement des sujets en fonction des cinq stades de développement de la gonade de l'huître perlière décrits par Tranter (1958): 1) inactivité (absence de gamètes), 2) croissance (follicules en partie remplis), 3) maturité (follicules matures et pleins), 4) émission gamétique (follicules en partie vidés) et 5) déplétion (follicules vides). Afin de réaliser une comparaison avec les états reproductifs d'huîtres de la même population vivant en milieu naturel, on a également procédé à une analyse histologique d'échantillons de gonades prélevés sur 15 *P. penguin* de taille analogue (hauteur de coquille moyenne = 201 mm) prélevées sur l'île d'Orpheus 3 jours après la fin de l'expérience.

Résultats

Les analyses de régression ($\alpha = 0,05$) ont mis en évidence une évolution significative du taux de filtration (CR) au fil du temps ($F = 18,041$, $df = 1,94$, $p < 0,001$). CR a accusé une baisse d'environ 10 pour cent suite à la première augmentation de la densité nutritionnelle et de la température de l'eau, avant de rebondir de 20 pour cent, puis de rester relativement stable pour des densités supérieures à 30 x 10^3 cellules par ml et des températures de l'eau supérieures à 26,5 °C (figure 2A).

Au fil des jours, AE a accusé une baisse significative ($F = 58,586$, $df = 1,58$, $p < 0,001$) et quasi linéaire, selon l'équation suivante $y = -2,61x + 93,98$ ($R^2 = 0,92$), passant de 89 pour cent le 4e jour à 62 pour cent le 37e jour. En dépit de la diminution graduelle de AE, la progression de CR et de l'apport alimentaire ont entraîné une hausse considérable de plus de 350 pour cent ($F = 481,119$, $df = 1,94$, $p < 0,001$) de EA (J h^{-1}) entre le 4e et le 37e jour. L'augmentation la plus spectaculaire de EA a été enregistrée au moment où la concentration de l'alimentation est passée de 20 x 10^3 cellules par ml à 30 x 10^3 cellules par ml le 21e jour (figure 2B).

Les gonades des huîtres présentaient des états allant de l'inactivité (absence de gamètes) à la maturité (follicules mûrs) (tableau 1). Trois des sujets étudiés possédaient des gonades inactives, ce qui indique que les animaux n'ont pas tous reçu un apport énergétique suffisant pour le développement des gamètes; cependant, les gonades de toutes les huîtres restantes se situaient aux derniers stades de croissance ou étaient déjà mûres. Les *P. penguin* prélevées dans le milieu naturel à l'issue de l'expérience se répartissaient également entre les stades de croissance et de maturité, même si elles étaient moins nombreuses à avoir atteint le stade de maturité que les sujets de l'expérience (tableau 1). Des images de coupes histologiques de gonades en développement et matures des deux sexes sont présentées à la figure 3.

Tableau 1: Stades du cycle de reproduction des *Pteria penguin* mâles (M) et femelles (F) issus du groupe expérimental et du milieu naturel déterminés par un examen histologique d'échantillons de gonades (voir figure 3).

Groupe	Nbre	Inactivité	Croissance	Maturité	Émission gamétique	Déplétion
Expérimental	15	3	2 (M), 3 (F)	5 (M), 2 (F)	0	0
Milieu naturel	15	0	6 (M), 5 (F)	3 (M), 1 (F)	0	0

Discussion

On a enregistré un bond de CR quand la densité alimentaire a dépassé 30 x 10^3 cellules par ml et que la température de l'eau à atteint 26,5 °C, ces deux variables ayant vraisemblablement joué. Les travaux de Wassnig (2011) montrent que le taux de filtration de *P. penguin* peut augmenter en réaction à une augmentation de la densité nutritionnelle, une réaction qui a également été signalée chez d'autres espèces de bivalves, et dont on pense qu'elle est une conséquence de la capacité à détecter et à exploiter une augmentation des substances nutritives disponibles (voir Willows 1992 par exemple). L'influence positive sur l'ingestion du réchauffement de la température de l'eau est un phénomène connu chez l'huître perlière (Numaguchi 1994; Yukihira et al. 2000). On pense que l'élévation de la température de l'eau favorise une augmentation de l'ingestion en améliorant la respiration, et partant, le rythme métabolique (Kobayashi and Tobata 1949; Lucas 2008).

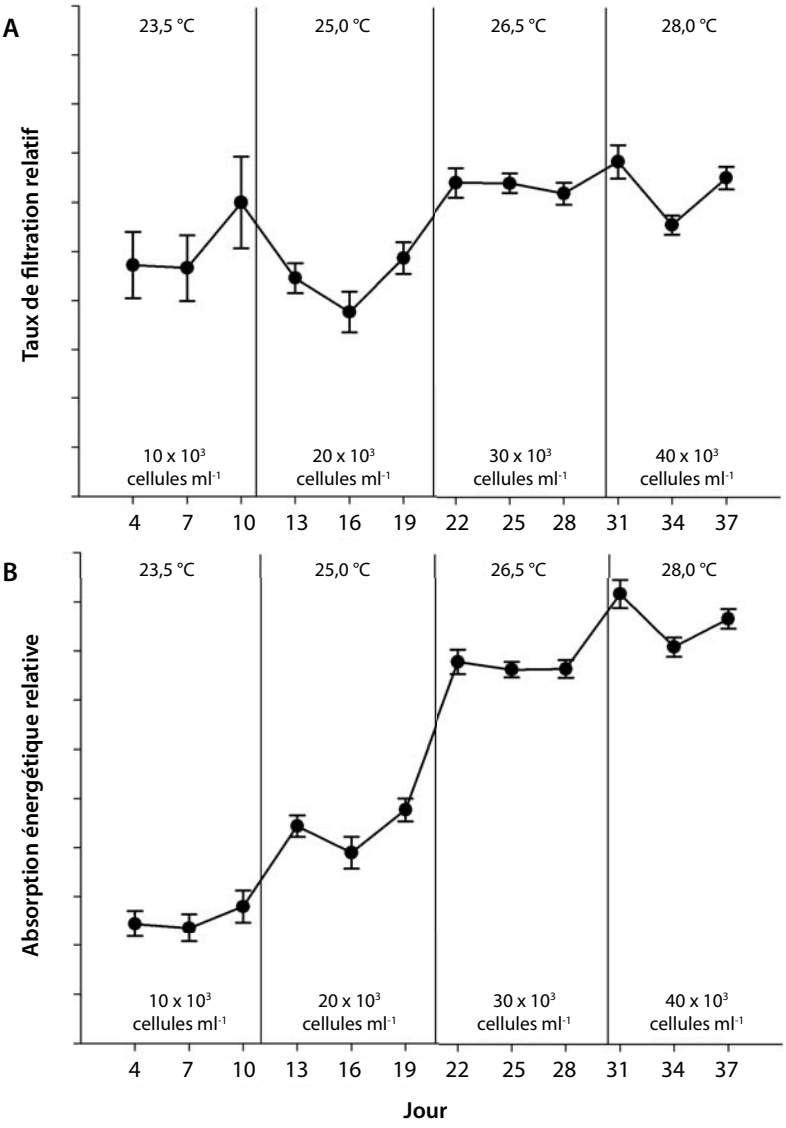

Figure 2.

Évolution dans le temps du comportement alimentaire de *Pteria penguin* nourries d'un mélange d'algues concentrées. A) Taux de filtration relatif moyen (± écart-type); B) absorption énergétique relative moyenne (± écart-type). La densité nutritionnelle et la température de l'eau ont augmenté tous les dix jours à partir du 11e jour.

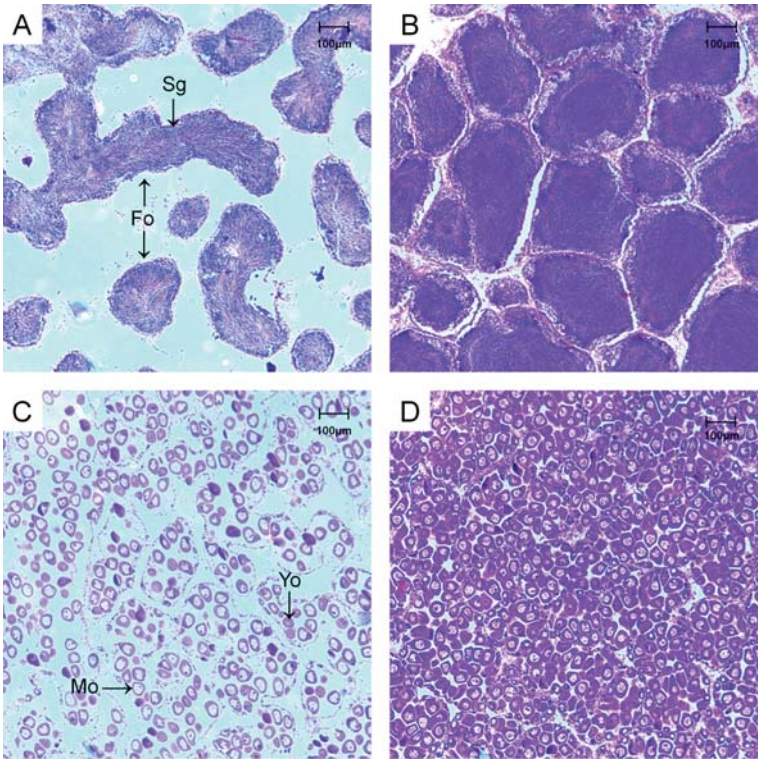

Figure 3.

Images de gonades de *Pteria penguin* aux stades de croissance et de maturité. A) Sujet mâle en développement : follicules (Fo) en expansion dont les parois se tapissent de spermatogonies (Sg); B) Sujet mâle à maturité : spermatozoïdes en forte concentration; C) Femelle au stade de croissance présentant à la fois des ovocytes jeunes (Yo) et des ovocytes mûrs (Mo); D) Femelle parvenue à maturité présentant des ovocytes mûrs en forte concentration.

À aucun moment au cours de l'expérience les huîtres étudiées n'ont expulsé la nourriture superflue sous forme de pseudo-fécès, même pour la densité nutritive la plus élevée de 40 x 10^3 cellules par ml. Ceci semble indiquer que *P. penguin* est mieux à même de maintenir son efficacité d'ingestion pour des densités nutritives élevées que les espèces d'huîtres perlières du genre *Pinctada*, qui commencent généralement à produire du pseudo-fécès lorsque les densités algales se situent entre 10 x 10^3 cellules par ml et 30 x 10^3 cellules par ml (Yukihira et al. 1998b). Le taux de filtration de *P. penguin* s'est stabilisé pour des densités nutritives supérieures à 30 x 10^3 cellules par ml et des températures de l'eau supérieures à 26,5 °C. De précédentes études réalisées sur d'autres espèces de bivalves ont mis en évidence un plafonnement du comportement trophique pour de fortes concentrations en nutriments : on pense qu'il s'agit d'un mécanisme destiné à éviter le gaspillage énergétique associé à la production de pseudo-fécès quand les concentrations en nutriments dépassent la capacité maximale d'ingestion (Kobayashi and Tobata 1949 ; Lucas 2008). L'efficacité d'absorption à court terme des micro-algues par *P. penguin* a diminué avec l'augmentation du taux d'ingestion, ceci étant probablement dû à une réduction du temps de rétention dans le tube digestif et de la digestion enzymatique correspondante (voir par exemple Iglesias et al. 1992).

L'examen de l'état de maturité sexuelle des huîtres au bout de la période d'expérimentation de 40 jours indique que les *P. penguin* mâles ont reçu l'apport énergétique nécessaire pour produire des spermatozoïdes à un taux supérieur à celui qui a été observé dans le milieu naturel pendant la même période. La production d'ovocytes mûrs chez les femelles s'est révélée moins fiable. Milione et Southgate (sous presse) ont constaté qu'environ 20 pour cent des adultes *P. penguin* issus de la population de l'île d'Orpheus également utilisée dans notre étude présentent des gonades inactives au cours du mois d'août. Il est donc possible que les huîtres étudiées s'étant révélées inactives à l'issue de notre expérience l'aient déjà été au moment où elles ont été placées dans les aquariums. Les huîtres mâles produisent généralement des gamètes mûrs plus tôt que les femelles (Loosanoff and Davis 1952) ; il se peut donc que la période d'absorption énergétique optimale induite au cours de notre expérience (10 à 20 jours) ait été trop courte pour permettre une production fiable d'ovocytes, par nature très gourmands en énergie. Cette hypothèse est confortée par les résultats de Saucedo et al. (2001) qui ont mis en évidence un rapport positif entre la proportion de *Pinctada mazatlanica* produisant des ovocytes mûrs et la période d'exposition à de fortes densités de micro-algues (75 x 10^3 cellules par ml), les périodes de 45–60 jours entraînant la plus forte production d'ovocytes.

Nous présentons ici des observations préliminaires sur l'utilisation de micro-algues concentrées pour stimuler l'activité gamétogénétique de *P. penguin*. D'autres études sont encore à réaliser pour définir les aliments et la durée de conditionnement nécessaires pour amener de façon fiable les reproductrices femelles au stade de la ponte. Il conviendra également de déterminer si les méthodes utilisées ici peuvent être employées pour allonger la période annuelle de production en écloserie en maintenant les reproducteurs au stade de maturité dans les mois suivant la fin de la saison naturelle de la reproduction.

Remerciements

Nous souhaitons remercier Sue Rielly et Michael Milione de l'Université James Cook de leur assistance dans l'analyse histologique des échantillons de gonades. La présente étude a bénéficié d'un cofinancement de l'ACIAR (Centre australien pour la recherche agricole internationale) et de la Graduate Research School de l'Université James Cook et a été menée à bien dans le cadre du projet FIS/2006/172 de l'ACIAR « Développement du secteur de l'huître perlière à ailes noires aux Tonga ».

Bibliographie

Alagarswami K., Dharmaraj S., Chellam A. and Velayudhan T.S. 1989. Larval and juvenile rearing of the black-lip pearl oyster, *Pinctada margaritifera* (Linnaeus). Aquaculture 76:43–56.

Conover R.J. 1966. Assimilation of organic matter by zooplankton. Limnology and Oceanography 18:673–678.

Finau M.W. 2005. Tonga country report. SPC sub-regional technical meeting on pearl culture. Nadi, Fiji. 30 November–2 December 2005. Secretariat of the Pacific Community (SPC), Noumea.

Hayashi M. and Seko K. 1986. Practical technique for the artificial propagation of Japanese pearl oyster *Pinctada fucata*. Bulletin of the Fisheries Research Institute Mie 1:39–68.

Hildreth D.I. and Crisp D.J. 1976. A corrected formula for calculation of filtration rate of bivalve molluscs in an experimental flowing system. Journal of the Marine Biology Association (UK) 56:111–120.

Iglesias J., Navarro E., Jorna P.A. and Ibarrola I. 1992. Measuring feeding particle selection and absorption in cockles Cerastoderma edule (L.) exposed to variable conditions of food density and quality. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 162:177–198.

Kobayashi S. and Tobata M. 1949. Activity of pearl oyster in winter. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries 14:196–199.

Loosanoff V.L. and Davis H.C. 1952. Temperature requirements for maturation of gonads of northern oysters. Biological Bulletin 10:80–96.

Lucas J.S. 2008. Feeding and metabolism. p. 103–130. In: Southgate P.C and Lucas J.S. (eds). The pearl oyster: Biology and culture. Elsevier, London.

Milione M. and Southgate P.C. (in press). Reproductive cycle of the winged pearl oyster, *Pteria penguin* (Röding 1798) (Pteriidae) in north-eastern Queensland. Invertebrate Reproduction and Development.

Monsalvo-Spencer P., Maeda-Martinez A.N and Reyneso-Granados T. 1997. Reproductive maturity and spawning induction in the Catarina scallop Argopecten ventricosus (Sowerby II, 1842). Journal of Shellfish Research 16:67–70.

Numaguchi K. 1994. Effect of water temperature on the filtration rate of Japanese pearl oyster *Pinctada fucata* martensii. Suisanzoshoku 41:1–6

Ojea J., Pazos A.J., Martinez D., Novoa S., Gracia-Martines P., Sanchez-Lopez J.L. and Abad M. 2008. Effects of temperature regime on broodstock conditioning of Ruditapes decussates. Journal of Shellfish Research 27:1093–1100

Rose R.A. and Baker S.B. 1994. Larval and spat culture of the Western Australian silver or goldlip pearl oyster, *Pinctada maxima* (Jameson) (Mollusca: Pteriidae). Aquaculture 126:35–50.

Saucedo P., Rodriguez-Jaramillo C., Aldana-Aviles C., Monsalvo-Spencer P., Reynoso-Granados T., Villarreal H. and Monteforte M. 2001. Gonadic conditioning of the calafia mother-of-pearl oyster, *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856), under two temperature regimes. Aquaculture 195:103–119.

Southgate P.C. 2008. Pearl oyster culture. p. 231–272. In: Southgate P.C. and Lucas J.S. (eds). The pearl oyster. Elsevier, Oxford.

Southgate P.C., Strack E., Hart A., Wada K.T., Monteforte M., Carino M., Langy S., Lo C., Acosta-Salmon H. and Wang A. 2008. Exploitation and culture of major commercial species. p. 303–355. In: Southgate P.C. and Lucas J.S. (eds). The pearl oyster. Elsevier, Oxford.

Teitelbaum A. and Ngaluafe P. 2008. Aide à la filière de la demi-perle à Tonga. L'huître perlière, Bulletin d'information de la CPS 18:11–14.

Tranter D.J. 1958. Reproduction in Australian pearl oysters (Lamellibranchia) II. Pinctada albina (Lamarck): Gametogenesis. Australian Journal of Marine and Freshwater Reseasrch 9:144–158.

Wassnig M. 2011. Developing hatchery culture techniques for the winged pearl oyster, *Pteria penguin* (Röding, 1798). PhD thesis. James Cook University, Australia.

Widdows J. 1985. Pysiological procedures. p. 161–178. In: Bayne B.L (ed). The effects of stress and pollution on marine animals. Praeger, New York.

Willows R.I. 1992. Optimal digestive investment: A model for filter feeders experiencing variable diets. Limnology and Oceanography 37:829–847.

Winter J.E. 1978. A review on the knowledge of suspension-feeding in lamellibranchiate bivalves, with special reference to artificial aquaculture systems. Aquaculture 13:1–33.

Yukihira H., Klumpp D.W. and Lucas J.S. 1998a. Effects of body size on suspension feeding and energy budgets of the pearl oysters *Pinctada margaritifera* and *P. maxima*. Marine Ecology Progress Series 170:119–130.

Yukihira H., Klump D.W. and Lucas J.S. 1998b. Comparative effects of microalgal species and food density on suspension feeding and energy budgets of the pearl oysters *Pinctada margaritifera* and P. maxima (Bivalvia: Pteriidae). Marine Ecology Progress Series 171:71–84.

Yukihira H., Lucas J.S. and Klump D.W. 2000. Comparative effects of temperature on suspension feeding and energy budgets of the pearl oysters *Pinctada margaritifera* and *P. maxima*. Marine Ecology Progress Series 195:179–188.