

Utilisation de 1-propylène phénoxétol et de benzocaïne pour anesthésier *Pteria penguin* (Röding, 1798) en vue de la production de mabé

Pranesh Kishore¹

Résumé

La mortalité observée chez *Pteria penguin* peut s'expliquer par l'important effet de stress que subissent les huîtres au moment de l'insertion de l'implant nécessaire à la production de demi-perles (mabé). Les produits anesthésiants peuvent contribuer sensiblement à réduire le stress induit et, partant, la mortalité des spécimens. Trois concentrations différentes de 1-propylène phénoxétol (2,8 ml l⁻¹, 3,0 ml l⁻¹, 3,2 ml l⁻¹) et deux concentrations de benzocaïne (500 mg l⁻¹, 1200 mg l⁻¹) ont été évaluées afin de déterminer leur pouvoir anesthésiant sur *P. penguin*. D'après les expérimentations, le type de concentration et d'anesthésique employé a une influence ($p < 0,05$) sur le temps nécessaire au relâchement musculaire des huîtres. En revanche, les différences de concentration n'ont pas d'impact significatif ($p > 0,05$) sur leur temps de récupération ou la mortalité. Le meilleur anesthésique testé est le 1-propylène phénoxétol à une concentration de 3,0 ml l⁻¹, avec un délai d'action moyen de 15 minutes et un temps de récupération moyen de 12,5 minutes. C'est également avec ce protocole que la mortalité est la moins élevée.

Introduction

L'espèce *Pteria penguin* est couramment utilisée pour la production de demi-perles (mabé), très recherchées dans la filière perle (Tanaka and Yamamoto 1997). Pour fabriquer des mabés, il faut coller un nucléus à la surface interne de la coquille de l'huître (Haws et al. 2006; Kripa et al. 2008). L'implant peut prendre plusieurs formes (hémisphérique, cœur, larme, ovale). Si ce procédé d'implantation est plus simple que le procédé de fabrication des perles rondes (Haws et al. 2006), l'opération n'en est pas moins délicate, car il est difficile de forcer l'ouverture des coquilles de *P. penguin*, circonscrites par un bord non nacré assez large qui, d'une part, ne se soumet pas facilement à l'action d'un ouvre-huître et, d'autre part, se brise aisément, occasionnant un stress pour l'animal. L'effet de stress induit par l'implantation du nucléus a été observé chez d'autres espèces d'huîtres perlières et est souvent cause de mortalité (Norton et al. 1996; O'Connor and Lawler 2002).

Le stress et la mortalité occasionnés par l'introduction du nucléus nécessaire à la fabrication des demi-perles ont incité des chercheurs à se pencher sur l'utilisation de différents anesthésiques (relaxants) afin d'atténuer le stress subi par les animaux (Norton et al. 2000; O'Connor and Lawler 2002). Les produits relaxants entraînent un relâchement du muscle adducteur des huîtres perlières, ce qui limite les pertes d'hémolymphe dont la mise en mouvement est assurée par l'action musculaire, empêche les contractions musculaires et améliore l'accès au site d'implantation (Norton et al. 1996; O'Connor and Lawler 2002). Plusieurs relaxants ont été testés sur les huîtres perlières et les résultats, différents pour chaque espèce, varient en fonction du type de relaxant et de la concentration utilisés (Mamangkey et al. 2009). En 2008, Kripa et al. ont testé les cristaux de menthol et l'essence de girofle sur *Pinctada margaritifera*, *Pinctada maxima* (Jameson 1901) et *Pteria penguin*. Le 1-propylène phénoxétol a été utilisé sur *Pinctada margaritifera* (Norton et al. 2000), *Pinctada maxima* (Mamangkey et al. 2009), et *Pinctada imbricata* et *Pinctada albina* par O'Connor and

Lawler (2002). Le MS-222 a été testé par Ehteshami (1995) sur *Pinctada radiata*, tandis que l'effet de la benzocaïne a été évalué sur *Pinctada maxima* (Mamangkey et al. 2009) et *Pteria sterna* (Acosta-Salmón and Rangel-Davalos 1998).

L'exposition prolongée des huîtres à une solution relaxante peut engendrer une rétraction du manteau, un affaissement du manteau et du corps de l'animal et une hypersécrétion de mucus (Norton et al. 1996; Mamangkey et al. 2009). Ainsi, bien que le recours à des anesthésiques adaptés et utilisés aux bonnes concentrations facilite la production de perles, il est essentiel de connaître les types de produits à utiliser et les concentrations correctes pour obtenir des résultats favorables. La présente étude a permis de déterminer l'efficacité de deux anesthésiques couramment utilisés avec *Pteria penguin* à diverses concentrations. Les produits mis à l'essai sont le 1-propylène phénoxétol, à des concentrations de 2,5 ml l⁻¹, 3,0 ml l⁻¹ et 3,2 ml l⁻¹, et la benzocaïne, à 500 mg l⁻¹ et à 1 200 mg l⁻¹.

Matériel et méthode

L'expérience s'est déroulée à J. Hunter Pearls à Savusavu (Fidji) (16°49'S, 179°19'E). Des spécimens de *P. penguin* ont été prélevés dans des collecteurs de naissains, puis placés en suspension sur une filière jusqu'à l'âge de trois ans (hauteur dorso-ventrale moyenne de 250 ± 6,5 mm). Avant le début de l'expérience, les spécimens ont été brossés pour éliminer les bio-salissures indésirables. Des lots de six huîtres sélectionnées de façon aléatoire ont été traités chacun avec l'une des cinq solutions dans des aquariums de vingt litres. Six autres spécimens, choisis comme sujets témoins, ont été placés dans de l'eau de mer à température ambiante.

On a versé 20 litres d'eau de mer dans chaque aquarium. Le 1-propylène phénoxétol aux différentes concentrations (2,5 ml l⁻¹, 3,0 ml l⁻¹, 3,2 ml l⁻¹) a été mélangé avec de l'eau de mer dans une éprouvette graduée; le tout a ensuite été agité énergiquement avant d'être ajouté à l'eau de mer

¹ Université du Pacifique Sud, Suva, Fidji. *Adresse actuelle: School of Marine and Tropical Biology, James Cook University, Townsville, Australie

des aquariums. L'eau des aquariums a été brassée pour permettre une dispersion homogène des relaxants et l'obtention des solutions à la concentration désirée. Pour préparer une solution de benzocaïne à une concentration de 500 mg l⁻¹, on a dissous 9,75 g de benzocaïne dans de l'alcool méthylique jusqu'à obtenir une saturation de 250 mg ml⁻¹. On a versé la solution dans un petit récipient (0,5 l) contenant de l'eau de mer chauffée (88–92 °C) afin de parvenir à une dissolution complète des cristaux de benzocaïne (Acosta-Salmón and Davis 1997; Acosta-Salmón et al. 2005; Mamangkey et al. 2009). La solution a ensuite été transvasée dans un récipient contenant 19,5 litres d'eau de mer pour obtenir la concentration désirée. La solution de benzocaïne à 1 200 mg l⁻¹ a été obtenue en dissolvant la benzocaïne dans de l'éthanol (100 mg l⁻¹), puis en mélangeant la solution avec de l'eau de mer (Acosta-Salmón et al. 2005; Mamangkey et al. 2009).

Au cours du premier essai, les spécimens de *P. penguin* ont été plongés dans un bain de 1-propylène phénoxétol à une concentration de 2,5 ml l⁻¹, mais les coquilles sont restées scellées. Faute de pouvoir franchir cette barrière, le relaxant n'a pu entrer en contact avec les tissus de l'huître, ce qui a augmenté le délai d'action de l'anesthésique. Pour contrecarrer ce phénomène, les spécimens ont été placés quelque temps au soleil, charnière tournée vers le bas, avant d'être exposés aux solutions. Ce procédé a permis une légère ouverture des valves et l'insertion d'une pièce en bois, qui empêche la fermeture des valves. Il permet ainsi à la solution anesthésiante d'imprégner directement les tissus de l'huître et réduit le délai d'action du produit. Les spécimens de *P. penguin* ont été positionnés à la verticale, charnière vers le bas, contre les parois de l'aquarium (O'Connor and Lawler 2002).

La température de l'eau de mer a été maintenue à 25,5 °C et le pH entre 7,9 et 8,3. Les spécimens exposés aux relaxants ont été observés pendant 25 minutes. Le manteau des huîtres a été stimulé à l'aide d'une pince pour déterminer leur état de relâchement. Le relâchement est considéré complet lorsque le manteau ne réagit plus aux stimulations (Mamangkey et al. 2009). Le délai d'action (laps de temps écoulé avant relâchement complet) de chacune des solutions a été mesuré. Les spécimens anesthésiés ont ensuite été prélevés de chacun des aquariums et placés dans différents récipients contenant de l'eau de mer aérée pour la phase de récupération. Dès que les tissus du manteau réagissent à la stimulation ou que l'huître stimulée referme sa coquille, on considère qu'elle est rétablie. Le temps de récupération des spécimens a été mesuré pour chaque bain anesthésiant.

On a observé un affaissement du manteau ou un affaissement généralisé de certaines huîtres pendant l'anesthésie. L'affaissement du manteau se produit lorsque les tissus du manteau ne sont plus suffisamment rigides pour adhérer à la surface interne de la coquille, tandis que l'affaissement généralisé se caractérise par une perte de tonus musculaire de l'ensemble des parties du corps mou (Acosta-Salmón et al. 2005; Mamangkey et al. 2009). Les spécimens affectés ont été prélevés de la solution anesthésiante et plongés dans des récipients contenant de l'eau de mer propre. Les huîtres rétablies ont été placées à nouveau dans des conditions d'élevage et maintenues

en observation pendant sept jours supplémentaires pour détecter toute mortalité.

Le test de Kruskal-Wallis a été utilisé pour déterminer les écarts entre les délais d'action des différents traitements appliqués aux huîtres. Le test de Khi-carré de Pearson a servi à estimer la différence entre les taux de récupération et la mortalité des huîtres pour chacune des combinaisons d'anesthésiques et de concentrations (Mamangkey et al. 2009). Ces deux analyses ont été effectuées à l'aide du logiciel SPSS (version 13).

Résultats

Le relâchement complet de tous les individus de *P. penguin* a été observé en l'espace de 40 minutes dans les solutions de 1-propylène phénoxétol concentrées à 2,5, 3,0 et 3,2 ml l⁻¹ (figure 1). Il a fallu le même laps de temps pour constater le relâchement complet des huîtres placées dans le bain de benzocaïne à 1 200 mg l⁻¹ (figure 2). En revanche, dans la solution de benzocaïne à 500 mg l⁻¹, seuls 12 spécimens ont présenté des signes de relâchement complet dans les 40 minutes imparties. Le délai d'action moyen du 1-propylène phénoxétol, à une concentration de 3,0 ml l⁻¹, est de 15 minutes, pour un relâchement complet de tous les sujets. C'est avec ce traitement qu'on a observé la plus faible mortalité (une huître après sept jours) (figure 4), pour un temps de récupération moyen de 12,5 minutes (figure 3). C'est avec la solution de 1-propylène phénoxétol à une concentration de 2,5 ml l⁻¹ que le délai d'action moyen était le plus long (26,4 minutes) et le temps de récupération le plus court (10,7 minutes) pour une mortalité de trois huîtres après sept jours. On a enregistré le délai d'action moyen le plus court (10 minutes) avec le 1-propylène phénoxétol utilisé à une concentration de 3,2 ml l⁻¹, mais aussi le temps de récupération le plus long, avec 14,1 minutes, et la mortalité la plus élevée (sept huîtres après sept jours). Pour ce qui est de la benzocaïne, le relâchement est intervenu après un délai moyen de 25 minutes et de 16,1 minutes dans les bains de benzocaïne à 500 mg l⁻¹ et à 1 200 mg l⁻¹ respectivement (figure 3), pour un temps de récupération de 14,2 minutes et de 13,9 minutes respectivement (figure 4).

Le test de Kruskal-Wallis (κ) a révélé que les différences de concentration de 1-propylène phénoxétol ($\kappa = 36,55$; $p = 0,00$) et de benzocaïne ($\kappa = 19,40$; $p = 0,00$) avaient une influence sur le temps nécessaire au relâchement des individus *P. penguin*. Le test de Khi-carré, lui, a montré que la concentration des relaxants n'avait pas d'effet significatif (1-propylène phénoxétol: $\chi^2 = 0,17$; $p = 1,0$; et benzocaïne: $\chi^2 = 0,05$; $p = 1,0$), sur le temps de récupération des huîtres après traitement. De même, le taux de mortalité après sept jours ne présentait pas de différence significative selon la concentration (1-propylène phénoxétol: $\chi^2 = 0,17$; $p = 0,92$; et benzocaïne: $\chi^2 = 0,00$; $p = 1,00$).

Débat

De nombreuses méthodes sont employées pour anesthésier les invertébrés marins (Sendall 2003). Le pouvoir relaxant des différents produits dépend de l'espèce de mollusque traitée et de la concentration utilisée (Aquilina and Roberts 2000; Acosta-Salmón

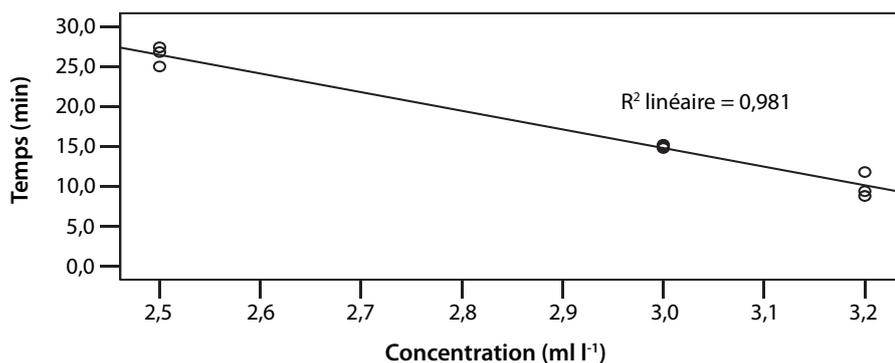


Figure 1. Délai d'action moyen du 1-propylène phénoxétol aux différentes concentrations sur *P. penguin*

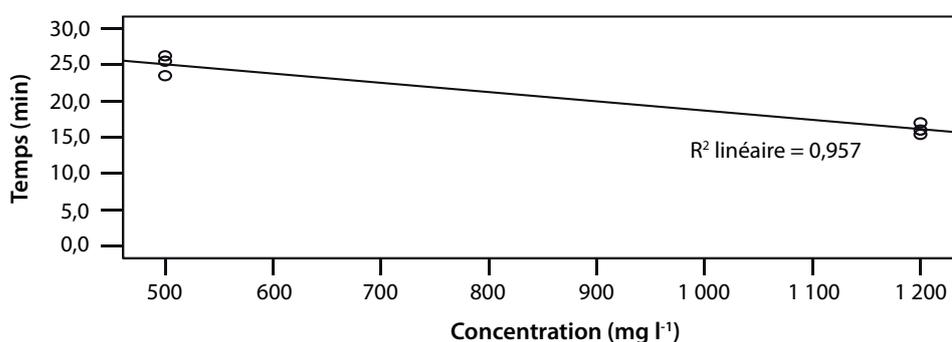


Figure 2. Délai d'action moyen de la benzocaïne aux différentes concentrations sur *P. penguin*

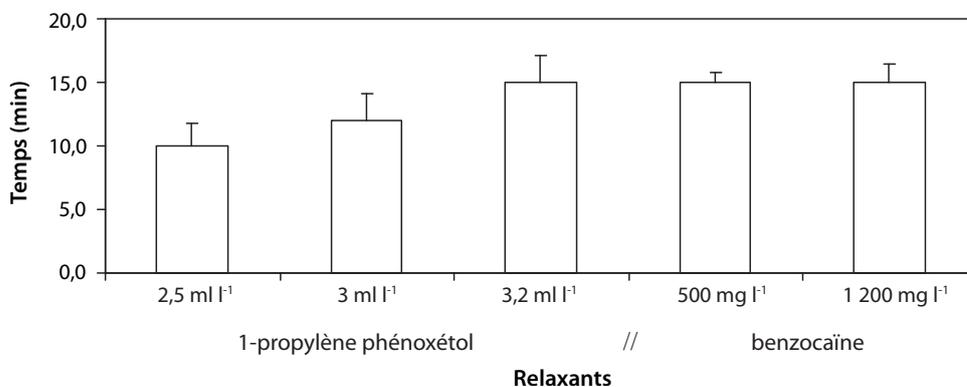


Figure 3. Temps de récupération de *P. penguin* après anesthésie dans les cinq combinaisons de relaxants et de concentrations

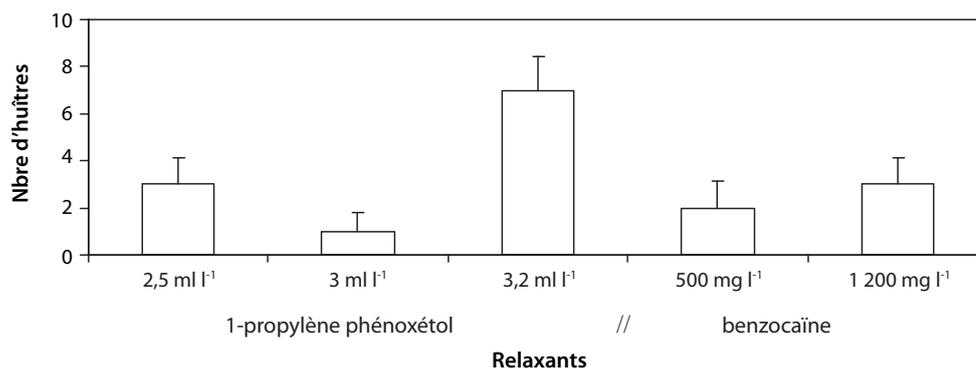


Figure 4. Nombre d'huîtres mortes après sept jours et traitement par les deux relaxants aux différentes concentrations

and Davis 2007; Mamangkey et al. 2009). Les résultats présentés ici montrent que *P. penguin* réagit différemment à des relaxants distincts, utilisés à des concentrations variables. Comme on pouvait s'y attendre, l'augmentation de la concentration s'accompagne d'une diminution du délai d'action du relaxant. L'efficacité des relaxants a été évaluée en prenant pour critères de référence un délai d'action de moins de 15 minutes et un temps de récupération de moins de 30 minutes, avec une mortalité minimale chez les sujets (Norton et al. 1996; Mamangkey et al. 2009). L'expérience a montré que le 1-propylène phénoxétole à une concentration de 3 ml l⁻¹ était le traitement le plus adapté à *P. penguin*, puisqu'il permet d'anesthésier le nombre requis d'individus pour un temps de récupération raisonnable et économique. C'est également avec ce traitement que la mortalité est la plus faible.

Le 1-propylène phénoxétole est couramment employé pour anesthésier les mollusques. Pour une action efficace de ce produit sur *P. penguin*, il faut une concentration plus élevée (3,0 ml l⁻¹) que pour induire le relâchement de *Pinctada margaritifera* (Norton et al. 1996) et de *Pinctada maxima* (Mamangkey et al. 2009); 2,5 ml l⁻¹ donne de bons résultats sur les espèces du genre *Pinctada*. D'après O'Connor and Lawler (2002), une concentration de 2,2 ml l⁻¹ de 1-propylène phénoxétole suffit à induire en l'espace de 15 minutes le relâchement de *Pinctada imbricata* et de *Pinctada albina*, le temps de récupération étant d'une dizaine de minutes. En revanche, chez l'ormeau *Haliotis iris*, ce même anesthésique utilisé à une concentration de 2,5 ml l⁻¹ provoque une contraction des muscles, qui est fatale à l'animal (Aquilina and Roberts 2000).

En outre, le délai d'action moyen de la benzocaïne diluée à 1200 mg l⁻¹ est légèrement plus long avec *P. penguin* qu'avec *Pinctada maxima* (10,5 minutes) (Mamangkey et al. 2009), *Pinctada fucata* (10,27 minutes) et *Pinctada margaritifera* (9 minutes) (Acosta-Salmón et al. 2005). Malgré l'allongement modéré du délai d'action sur *P. penguin*, les résultats étaient assez positifs. Peu de cas d'affaissement du corps et/ou du manteau ont été observés chez les individus *P. penguin* exposés à de la benzocaïne à 1200 mg l⁻¹, contrairement aux observations de Acosta-Salmón et al. (2005) chez *Pinctada fucata* et *Pinctada margaritifera*. Le phénomène d'affaissement a été principalement observé chez les individus *P. penguin* après balnéation dans du 1-propylène phénoxétole à une concentration de 3,2 ml l⁻¹ et s'explique par la forte concentration de la solution et la durée d'exposition au relaxant. Une sécrétion excessive de mucus a également été signalée avec ce traitement. L'affaissement chez *P. penguin* s'est manifesté par une ouverture excessive des valves et une augmentation du temps de récupération, mais, dans la plupart des cas, les individus affectés sont morts.

Le choix du relaxant doit également se faire en tenant compte du coût de la main-d'œuvre et du temps de préparation. La préparation des solutions de 1-propylène phénoxétole est plus simple que celle des solutions de benzocaïne. Le 1-propylène phénoxétole est soluble dans l'eau de mer, tandis que la benzocaïne doit être dissoute dans de l'alcool méthylique, puis chauffée à 88-92 °C, pour une dissolution complète des cristaux. D'après Mamangkey et al. (2009), dans l'appréciation globale des

relaxants, il convient également d'évaluer la toxicité des différents produits et les risques qu'ils peuvent présenter pour la santé des usagers. Cela dit, dans le cas de la présente étude, les deux relaxants évalués présentent très peu de risques pour la santé humaine.

La présente étude s'inscrit dans un projet de recherche plus général, qui vise à améliorer la qualité des perles mabé. Le mabé est actuellement considéré comme un produit d'avenir pouvant offrir une nouvelle source de revenus aux communautés côtières de la région. Le procédé et l'anesthésique recommandé dans le présent article seront utiles aux intervenants de la filière des demi-perles travaillant avec *P. penguin* dans les communautés rurales.

Remerciements

Ce projet de recherche a été financé par le Centre australien pour la recherche agricole internationale et l'Université du Pacifique Sud. Le concours financier de ces deux organisations a été très précieux. L'auteur tient également à remercier le personnel de l'Université James Cook, de l'Université du Pacifique Sud et de J. Hunter Pearls pour leur assistance.

Bibliographie

- Acosta-Salmón H. and Davis M. 2007. Inducing relaxation in queen conch *Strombus giga* (L.) for cultured pearl production. *Aquaculture* 262(1):160-170.
- Acosta-Salmón H., Martínez-Fernandez E. and Southgate C.P. 2005. Use of relaxants to obtain saibo tissue from the blacklip pearl oyster (*Pinctada margaritifera*) and the Akoya pearl oyster (*Pinctada fucata*). *Aquaculture* 246(1-4):160-170.
- Acosta-Salmón H. and Rangel-Davalos C. 1998. Benzocaine (ethyl p-Aminobenzoate) as anesthetic for surgical implantation of nucleus in the pearl oyster *Pteria sterna* (Gould, 1851). *L'huître perlière, Bulletin d'information de la CPS* 10:70.
- Aquilina B. and Roberts R. 2000. A method for inducing muscle relaxation in the abalone, *Haliotis iris*. *Aquaculture* 190(3-4):403-408.
- Ehteshami F. 1995. Anaesthetizing *Pinctada radiata* with MS 222. *Iranian Fisheries Bulletin, Jahad Sazandegi Ministry, Iranian, Fisheries Research and Training Organisation, No. 3. L'huître perlière, Bulletin d'information de la CPS* 8:51.
- Haws M., Ellis C.S. and Ellis P.E. 2006. Producing half-pearls (mabe). *Western Indian Ocean Marine Science Association, University of Dar es Salaam, University of Hawaii, Hilo and the Coastal Resources Center, University of Rhode Island*: 5-14.
- Kripa V., Abraham J.K., Libini L.C., Velayudhan S.T., Radhakrishnan P., Mohamed S.K. and Modayil J.M. 2008. Production of designer mabe pearls in the black-lipped pearl oyster, *Pinctada margaritifera*, and the winged pearl oyster, *Pteria penguin*, from Andaman and Nicobar Islands, India. *Journal of World Aquaculture Society* 39(1):132-134.

- Mamangkey F.G.N., Acosta-Salmon H. and Southgate C.P. 2009. Use of anaesthetics with the silver-lip pearl oyster, *Pinctada maxima* (Jameson). Elsevier, Aquaculture 288(3–4):280–284.
- Norton H.J., Lucas S.J., Turner I., Mayer J.R. and Newnham R. 2000. Approaches to improve cultured pearl formation in *Pinctada margaritifera* through use of relaxation, antiseptic application and incision closure during bead insertion. Aquaculture 184(1–2):1–17.
- Norton H.J., Dashorst M., Lansky M.T. and Mayer J.R. 1996. An evaluation of some relaxants for use with pearl oysters. Aquaculture 144(1–3):39–52.
- O'Connor A.W. and Lawler F.N. 2002. Propylene phenoxetol as a relaxant for the pearl oysters *Pinctada imbricata* and *Pinctada albina*. Asian Fisheries Science 15:53–59.
- Sendall K. 2003. Phenoxyethanol as a relaxant before fixation in the sea cucumber *Cucumaria miniata* (Echinodermata). Collection Forum 18(1–2):98–103.
- Tanaka H. and Yamamoto T. 1997. Potential of commercial development of mabe pearl farming in Vava'u islands, Kingdom of Tonga. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Suva. Project reports (not in a Series) – No. 5. Accessed 28 July 2008 from < <http://www.fao.org/docrep/005/AC.htm>>