

Faury N., Remoué S., Soletchnik P., Gouletquer P., Geairon P.,
Le Moine O., Razet D., Guilpain P., Robert S. et Taillade S.

R.INT.DRV/RST/RA/LCPC/2001-07

IFREMER
BIBLIOTHEQUE
LA TREMBLADE

Mortalités printanière et estivale de l'huître creuse
C. gigas en élevage à plat dans le bassin de
Marennes-Oléron. Etude du métabolisme du
glycogène sur différentes origines de cheptels.



Résumé :

Trois cheptels d'origine différente, deux issus du bassin de Marennes-Oléron et un de Normandie sont mis en élevage sur parc à plat de fin mars 2000 à début janvier 2001. Le site retenu est le banc de Ronce-Perquis, site expérimental depuis 1996.

Le but de l'étude est d'évaluer l'impact de l'origine et de l'historique d'élevages sur les mortalités printanière et estivale. Au terme de l'expérimentation, la mortalité cumulée est comprise entre 51 et 58 % selon les lots. Après une mortalité de mise en élevage de 8,8 à 9,3 %, les cheptels connaissent un épisode critique durant la première quinzaine de juillet. En quinze jours, les mortalités atteignent 13,7 %.

Durant la phase d'élevage, la croissance en coquille est comprise entre 8,9 et 12,7 g. Le gain somatique représente entre 0,44 et 0,48 g du poids sec. La ponte se déroule au cours du mois d'août pour le lot charentais le plus âgé. L'effort de ponte est également le plus important pour ce lot. La ponte a lieu les quinze premiers jours d'août pour les deux autres lots âgés de 3 ans.

En début d'expérience, le lot normand présente des teneurs en lipides (7,5 %) et en glucides (10,5 %) supérieures à celles des deux lots charentais. Deux et trois mois sont nécessaires pour avoir une composition glucidique et lipidique similaire aux deux lots charentais (8,5 % et 10 %). Début juin, un ralentissement de la lipogénèse et donc de la gamétogénèse affecte les trois lots. Un dysfonctionnement du métabolisme apparaît en juillet, les réserves glucidiques sont au plus bas un mois avant la ponte (4 %). Pour subsister, les animaux puisent dans leur réserves lipidiques. A cette période, interviennent les mortalités les plus importantes.

Cette étude est complétée par la recherche de l'incorporation du glucose en liaison avec l'Université de Caen. En effet, le métabolisme est évalué par un test biologique in vitro sur des cellules vésiculeuses isolées de palpes labiaux. L'incorporation du glucose dans le glycogène est mesurée à deux concentrations de glucose (0,5 et 1,5 mmol). L'incorporation varie de 0,13 à 1,75 nmol de glucose. Une variation saisonnière de l'activité est décrite. L'activité de l'enzyme est corrélée à l'abondance de nourriture (phytoplancton). La capacité à incorporer le glucose est différente selon les cheptels. Le lot dont la capacité est la plus élevée est davantage touché par les mortalités. Une baisse de l'activité intervient en période de mortalité.

Abstract :

This study aims to assess the broodstock origin and cultural effects on oyster summer mortality rates. Three oyster batches, two originating from the Marennes-Oléron Bay, and one from the Normandy rearing area were deployed in March 2000 on the Ronce Perquis oyster bank, on experimental site since 1996. On bottom cultured oysters were monitored until January 2001. By the end of the experiment, the cumulative mortality ranged from 51 to 58 %. Following on initial mortality rate (8.8 % to 9.3 %), oyster batches showed a critical period early July. In 15 days, mortality rate reached 13.7 %.

Over the rearing period, the oyster shell growth ranged between 8.9 g and 12.7 g. The somatic gain represented 0.44-0.48 g of dry meat weight. Spawning event occurred in August for the oldest batch from Marennes-Oléron, and was the largest compared to other batches. For the 2 other oyster batches (3 years'old), spawning occurred during the 2 first weeks of August.

At the experiment initiation, the oyster batch from Normandy showed highest lipids (7.5 %) and carbohydrates (10.5 %) concentrations, greater than the Charentais batches. Two and three months were required to obtain a similar carbohydrates and lipid concentrations for those 2 charentais batches (8.5 and 10 %). Early June, lipogenesis slowed, as well as the gametogenesis for the 3 batches. Metabolism showed a disfunctioning in July with the lowest carbohydrates concentrations (4 %), one month before spawning. To sustain their metabolism, lipids were used by the oysters. Strongest mortality rates appeared at that time.

This study was completed by the assessment of the glycogen synthase activity in cooperation with the University of Caen. Metabolism was evaluated by a biological in vitro test on vesicular cells located at the labial palp level. Glucose incorporation into glycogen was measured at 2 glucose concentrations (0.5 and 1.5 mmol). Incorporation rate varied from 0.13 to 1.75 nmol of glucose. A seasonal variability was described. Enzymatic activity was correlated with food abundance (phytoplankton). Capacity to incorporate glucose was function of oyster batches. The highest incorporation capacity was attributed to oyster batch showing also the highest mortality rates. Incorporation rate was reduced during the mortality event.

Mots-clés : Taux de mortalité, croissance, composition biochimique, effort de reproduction, incorporation du glucose, *Crassostrea gigas*, bassin de Marennes-Oléron.

Keywords : Mortality, growth rate, biochemical content, glycogen synthase, *Crassostrea gigas*, Bay of Marennes-Oléron.

SOMMAIRE

1. INTRODUCTION.....	4
2. MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	5
2.1. ELEVAGE ET ÉCHANTILLONNAGE	5
2.2. LES TECHNIQUES ANALYTIQUES	6
2.2.1. <i>Biométrie</i>	6
2.2.2. <i>Composition biochimique</i>	6
2.2.3. <i>Test biologique in vitro de mesure de l'incorporation du glucose dans le glycogène</i>	7
2.2.3.1. Principe	7
2.2.3.2. Animaux	7
2.2.3.3. Dissection et dissociation des palpes labiaux	7
2.2.3.4. Isolement des cellules vésiculeuses	8
2.2.3.5. Incubation et incorporation de [U- ¹⁴ C]	8
2.3. TRAITEMENT STATISTIQUE	8
3. COMPARAISON DES CHEPTELS	9
3.1. RÉSULTATS	9
3.1.1. <i>Mortalité</i>	9
3.1.2. <i>Croissance</i>	11
3.1.3. <i>Composition biochimique de la chair</i>	13
3.1.4. <i>Incorporation du glucose dans le glycogène</i>	17
3.2. DISCUSSION	21
4 VARIABILITÉ SAISONNIÈRE DE LA COMPOSITION BIOCHIMIQUE ET DE L'INCORPORATION DU GLUCOSE EN RELATION AVEC L'ENVIRONNEMENT ET LA MORTALITÉ	23
5. CONCLUSION	27
6. RÉFÉRENCES.....	28
7. ANNEXES	30

1. Introduction

Les mortalités estivales qui frappent le bassin de Marennes-Oléron de manière chronique depuis 1988 ont fait l'objet de nombreuses études (Lodato, 1997 ; Forest, 1997 ; Fruchard, 1998 ; Gouletquer *et al.*, 1998 ; Mineur, 1999 ; Dufourg, 1999 ; Soletchnik *et al.*, 1999 et 2000). Le banc de Ronce, site atelier du laboratoire depuis 1995 et situé dans le sud du bassin, est particulièrement touché par ces phénomènes. L'estimation de la mortalité est complétée par des mesures biométriques, des analyses biochimiques et la surveillance des paramètres environnementaux. Les résultats obtenus orientent la stratégie de l'année suivante. Les études menées de 1997 à 1999 mettent l'accent sur la caractérisation des mortalités qui affecte les élevages à plat. Ainsi, il paraît opportun de dissocier la mortalité d'élevage à la mortalité d'acclimatation elle-même liée à l'historique des cheptels.

L'objectif au cours de cette année 2000 met en jeu des lots d'huîtres différents par l'année, le lieu de captage et le(s) site(s) de demi-élevage ou d'élevage. La principale question posée est la suivante : en dehors de la mortalité d'acclimatation, comment le taux de mortalité évolue-t-il au cours de la période printanière et estivale alors que chaque lot est placé dans des conditions environnementales identiques ? Les lots sont-ils dans un état physiologique similaire tout au long de l'étude. Pour aider à la compréhension des processus métaboliques jamais abordés jusqu'alors, le laboratoire a mis en place des tests biologiques. Ils visent à évaluer le métabolisme du glycogène chez l'huître. Selon les conditions de milieu, l'animal utilise l'énergie de son alimentation ou de ses réserves notamment en période de privation et d'anoxie. Chez les bivalves, celles-ci sont préférentiellement constituées par des glucides et notamment le glycogène (Gabbott, 1983).

La mise au point d'une méthode d'évaluation du métabolisme du glycogène chez l'huître creuse *Crassostrea gigas* par Heude-Berthelin (2000) ouvre une nouvelle voie de recherche sur la compréhension des phénomènes de mortalité. L'activité de l'enzyme qui intervient dans la catalyse du glycogène, la glycogène synthase, est évaluée par l'intermédiaire de cellules vivantes. Elle n'a pas été extraite de son substrat.

Ce test biologique *in vitro* est fiable et reproductible car il a la particularité de s'appuyer sur des cellules vésiculeuses individualisées issues d'au moins trente individus. Les cellules vésiculeuses sont localisées au niveau des palpes labiaux et de la région gonade-manteau. L'inconvénient de la contamination par les gamètes de la région gonade-manteau conduit à utiliser des cellules uniquement issues des palpes labiaux.

Probablement, en raison des conditions environnementales rencontrées à l'interface eau/sédiment, les huîtres cultivées à plat sont plus sensibles aux mortalités que les huîtres élevées en surélevé (Forest, 1997 ; Soletchnik *et al.*, 1999). Pour cette raison, l'investigation concernant le métabolisme du glycogène n'a été menée que sur l'élevage à plat. Les réserves énergétiques sont utilisées plus précocement dans le cas d'huîtres à même le sol que pour des huîtres placées en surélevées (Soletchnik *et al.*, 1999).

Afin de comparer nos résultats avec ceux de Heude-Berthelin (2000), les expérimentations ont été poursuivies au-delà de la période estivale sensible, jusqu'au mois de janvier 2001.

2. Matériel et méthodes

2.1. Elevage et échantillonnage

Les huîtres sont mises en élevage à plat sur le banc de Ronce (bassin de Marennes-Oléron) du 22 mars 2000 au 08 janvier 2001. Les lots sont d'origine et d'âge différents (Tableau 1). Le lot 1 est un mélange de naissain de 1997 de différentes origines en proportion inconnue (Arcachon, Marennes et éclosérie). Il a été élevé uniquement en Normandie. Les lots 2 et 3 ont été captés et élevés à Marennes-Oléron. Le lot 3 a été affecté par l'ouragan de décembre 1999.

Tableau 1 : Caractéristiques des lots mis en élevage.

	Lot 1	Lot 2	Lot 3
Année de Captage	1997	1996	1997
Lieu de Captage	Arcachon Marennes et Eclosérie	Bonne Anse (Gironde)	Seudre (BMO)
Lieu de ½ élevage	Cotentin-Manche	Les Traires (BMO)	Bourgeois (BMO)
Lieu d'élevage	St Germain sur Ay (Cotentin)	Doux (BMO)	Charret (BMO)

Chaque lot est disposé sur 3 parcs à plat de 1 m sur 0,5 m juxtaposés, entourés de grillage et contenant chacun 200 huîtres. Ces parcs sont destinés à l'estimation des taux de mortalités. Les huîtres mortes et vivantes sont comptées et seules les huîtres vivantes sont remises en place. Des parcs annexes ont été confectionnés pour les échantillons destinés aux analyses de biométrie, biochimie et d'incorporation du glucose dans le glycogène. Ces huîtres n'ont subi aucune manipulation avant le prélèvement.

Afin de mieux apprécier l'apparition des mortalités, l'échantillonnage a lieu tous les 15 jours du 22/03/00 au 28/08/00 en ce qui concerne l'estimation de la mortalité, la biométrie et la biochimie puis devient mensuel jusqu'à la fin de la période d'étude. L'incorporation du glucose dans le glycogène est évaluée de manière bimensuelle de mars à juin puis mensuelle de juillet à janvier.

Le taux de mortalité journalier utilisé comme descripteur de l'étude est obtenu à partir du taux enregistré pour la période d'élevage et le nombre de jours de celle-ci.

Tableau 2 : Dates d'échantillonnage.

Dates d'échantillonnage	Période inter-échantillonnages	Durée (en jour)
22/03/00		0
04/04/00	1	13
17/04/00	2	13
02/05/00	3	15
16/05/00	4	14
05/06/00	5	20
19/06/00	6	14
03/07/00	7	14
19/07/00	8	16
31/07/00	9	12
16/08/00	10	16
28/08/00	11	12
25/09/00	12	28
24/10/00	13	29
27/11/00	14	34
08/01/01	15	42

2.2. Les techniques analytiques

2.2.1. Biométrie

Des échantillons de 30 individus sont prélevés sur le terrain et immédiatement traités dès le retour au laboratoire. Après nettoyage, le poids total individuel est estimé par pesée. Ensuite la chair est détachée de la coquille et mise à égoutter. Après congélation et lyophilisation, le poids sec est évalué par pesée (psec). Les coquilles sont séchées 24 heures à l'étuve à 60°C puis pesées (Pcoq).

Le poids sec journalier correspond au poids sec enregistré sur une période ramenée au jour.

L'indice de qualité Walne et Mann (1975) est défini comme suit :

$$(Psec/Pcoq) \times 1000$$

2.2.2. Composition biochimique

Les analyses biochimiques de la chair sont réalisées sur chaque lot subdivisé en trois réplicats de 10 individus. Un aliquote de chair broyée est prélevé pour le dosage

par spectrophotométrie des teneurs en protéines (Lowry *et al.*, 1951), lipides (Marsh et Weinstein, 1966), carbohydrates et glycogène (Dubois *et al.*, 1956).

Les résultats sont exprimés en pourcentage du poids sec.

Les teneurs en cendres sont réalisées à partir des trois réplicats utilisés pour les analyses biochimiques. Après crémation durant 24 heures à 450°C, les cendres sont pesées, le résultat est exprimé en pourcentage du poids sec.

2.2.3. Test biologique in vitro de mesure de l'incorporation du glucose dans le glycogène

2.2.3.1. Principe

A partir de cellules vésiculeuses isolées des palpes labiaux d'huître, l'incorporation du glucose dans le glycogène est appréciée à l'aide d'un marqueur radioactif le glucose [U-¹⁴C] (Heude-Berthelin, 2000). L'incorporation est testée à deux concentrations de D-glucose (0,5 et 1,5 mmol) pour une concentration fixe de glucose [U-¹⁴C] de 0.5 µCi. L'incubation des cellules à la concentration de 5 millions par mL se déroule pendant 7 heures à 15°C. Le glycogène synthétisé par les cellules est récupéré à l'issue d'une ultracentrifugation. Celui-ci est piégé par du glycogène froid et précipité par de l'éthanol absolu. Trois rinçages successifs visent à éliminer le glucose radioactif qui n'aurait pas été incorporé dans le glycogène synthétisé.

Le comptage de la radioactivité exprimé en Désintégration Par Minute (DPM) est réalisé par un compteur à scintillation avec un standard interne permettant la correction de quenching (2200 CA Packard).

Afin de quantifier le bruit de fond de l'expérience, des séries de témoins sont réalisées dans les mêmes conditions expérimentales. Ils sont bloqués immédiatement après l'ajout des cellules (ultracentrifugation) et donc ne subissent pas d'incubation. Ils permettent d'apprécier la radioactivité due au piégeage mécanique de glucose [U-¹⁴C] par le glycogène froid. Les valeurs de DPM sont soustraites des valeurs obtenues après incubation. Le résultat est exprimé en nanomoles de glucose incorporé.

2.2.3.2. Animaux

Un nombre d'individus compris entre 30 et 50 est prélevé sur le site expérimental. Soigneusement nettoyés au laboratoire, les trois lots sont entreposés une nuit au réfrigérateur. Les huîtres ont ainsi jeûné pendant presque 24 heures avant leur ouverture.

2.2.3.3. Dissection et dissociation des palpes labiaux

Les palpes labiaux sont disséqués et recueillis dans un béccher contenant de l'eau de mer stérile. Après rinçage, les tissus sont dans un premier temps dissociés mécaniquement à l'aide de ciseaux dans un peu de milieu L15 contenant de la collagénase.

Dans un deuxième temps, la dissociation enzymatique est réalisée pendant 30 mn à 15°C sous agitation lente. Cette opération est renouvelée deux fois avec renouvellement de la solution de dissociation.

Les cellules recueillies après filtration sur toile à bluter (diamètre des mailles de 100 µm) sont centrifugées (80 g, 30 mn à 15°C).

2.2.3.4. Isolement des cellules vésiculeuses

Afin de séparer les différents types de cellules en fonction de leur densité, le culot est repris dans 2 mL de milieu L15 et déposé sur un gradient de Percoll (Sigma ®).

La solution stock isoosmotique (SIP) de Percoll est préparée par addition de 9 volumes de Percoll à 1 volume de milieu L15 dix fois concentré.

Les différentes couches de 6 mL concentrées à 20, 30, 40 et 60% sont déposées dans un tube stérile de 50 mL.

Après centrifugation, la phase supérieure est éliminée et les cellules qui se sont concentrées en deux couches distinctes sont prélevées délicatement. Afin d'éliminer le Percoll résiduel, la suspension cellulaire est reprise dans 40 mL de milieu L15 et centrifugée (80 g, 30 mn à 15°C).

Le culot est repris et ajusté à 5 mL avec du milieu L15. Un comptage de la concentration cellulaire est effectué à l'aide d'une cellule de Thoma. Ensuite une suspension à 5 millions de cellules par mL est réalisée pour l'inoculation.

2.2.3.5. Incubation et incorporation de [U-¹⁴C]

L'incorporation est testée pour deux concentrations de glucose différentes l'une à 0,5 mmol/L et la seconde à 1,5 mmol/L réalisées à partir d'une solution mère de D-glucose dans du milieu L15. La concentration de 1,5 mmol correspond à la concentration maximale de glucose circulant mesurée in vivo dans l'hémolymphe de la moule (Livingstone et Clark, 1983). L'incubation est pratiquée durant 7 heures à 15°C dans des tubes stériles contenant de 500 µl de suspension cellulaire et 50 µl de glucose [0,5 µCi] et pour l'une et l'autre concentration en glucose. Six réplicats sont réalisés pour les deux concentrations ainsi que pour les tubes témoins qui ne seront pas incubés.

L'incubation est stoppée par une ultra-centrifugation à 10 000 g pendant 10 mn. 300 µL de surnageant sont prélevés et additionnés à un tube contenant 5 mg de glycogène. Le glycogène néosynthétisé et le glycogène ajouté sont précipités par 4 mL d'éthanol absolu pendant une nuit à 4°C. Une centrifugation à 2 500 g pendant 10 mn permet de culotter la totalité du glycogène. Il sera rincé trois fois afin d'éliminer le glucose radioactif non incorporé par de l'éthanol absolu saturé en D-glucose.

Les culots sont laissés à sécher à température ambiante puis repris dans 500 µL d'eau bidistillée. Deux cents microlitres sont prélevés pour mesurer la radioactivité dans 4 mL de liquide de scintillation. Le comptage est réalisé par un compteur de scintillation.

2.3. Traitement statistique

Afin de vérifier si les résultats obtenus dans le cadre de l'incorporation du glucose dans le glycogène après 7 heures d'incubation sont significativement différents des témoins bloqués à T=0 heure, le test de Student (Logiciel EXCEL) est appliqué aux valeurs de DPM (Désintégration Par Minute). La probabilité associée est calculée.

Les autres analyses statistiques sont effectuées au moyen du logiciel STAGRAPHICS Plus®. L'analyse de variance à un facteur (ANOVA) permet de tester les descripteurs de mortalité, de biométrie, de biochimie et d'incorporation du glucose.

Afin de les normaliser, des transformations de variable sont nécessaires. C'est le cas du taux de mortalité journalier et des résultats de biochimie exprimés en pourcentage. Ainsi, il leur est appliqué la fonction : " Arc Sinus Racine de x " (Snedecor et Cochran, 1989).

L'analyse de variance est complétée par un test de rang " LSD ", Least Significant Difference.

3. Comparaison des cheptels

3.1. Résultats

3.1.1. Mortalité

La mortalité de mise en élevage est liée aux différents stress de changement de site d'élevage. Appréciée quinze jours après la mise à l'eau, elle est plus élevée pour le lot 2 (9,3 %). Elle est respectivement de 7,2 % et de 5,8 % pour les lots 1 et 3. Au cours de la période suivante, les lots 1 et 2 présentent des mortalités voisines de 2 % et le lot 3 enregistre toujours des mortalités plus importantes (6,4 %).

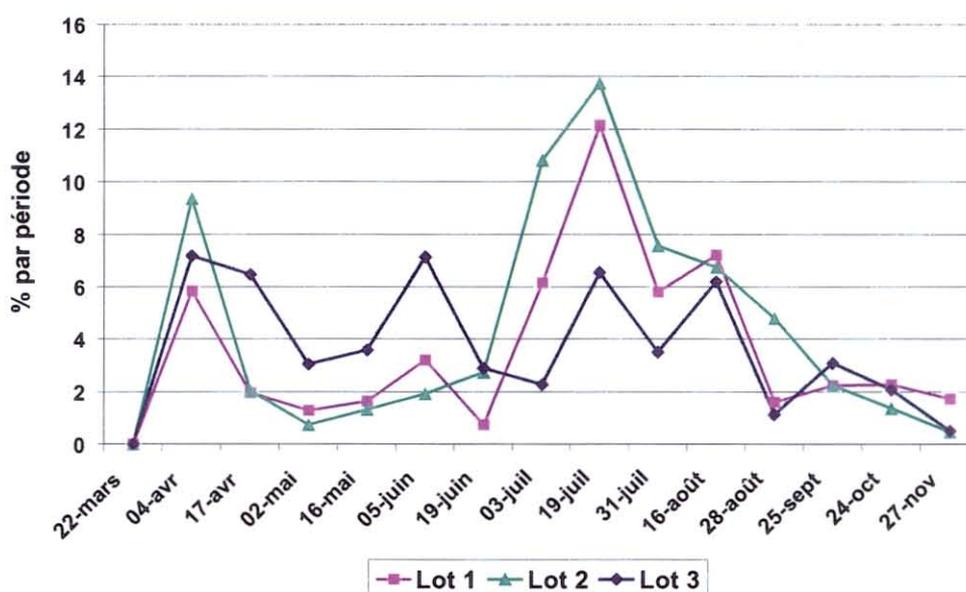


Figure 1: Taux de mortalité (%) des cheptels durant la période d'élevage.

Une succession d'épisodes de mortalité à l'allure en « dent de scie » marque le lot 3 début juin, puis mi-juillet et mi-août avec respectivement 7,1 %, 6,5 %, 6,2 %. Durant la période printanière, les deux autres lots semblent parfaitement s'accommoder des conditions de milieu. Par contre, début juillet jusqu'à la mi-août, ces lots alors épargnés, connaissent d'importantes pertes. Le paroxysme se situe le 19 juillet avec respectivement pour les lots 2 et 1, des taux de mortalité de 13,7 % et de 12,1 % supérieurs à celui du lot 3. Fin août, les taux sont de 2% environ (fig. 1).

Le cumul des taux de mortalité fait apparaître deux types de profil (fig. 2). La mortalité du lot 3 suit une progression linéaire. Les lots 1 et 2 connaissent un épaulement de type asymptotique à partir de début juillet. Une reprise de mortalité se produit pour les trois lots en fin d'année.

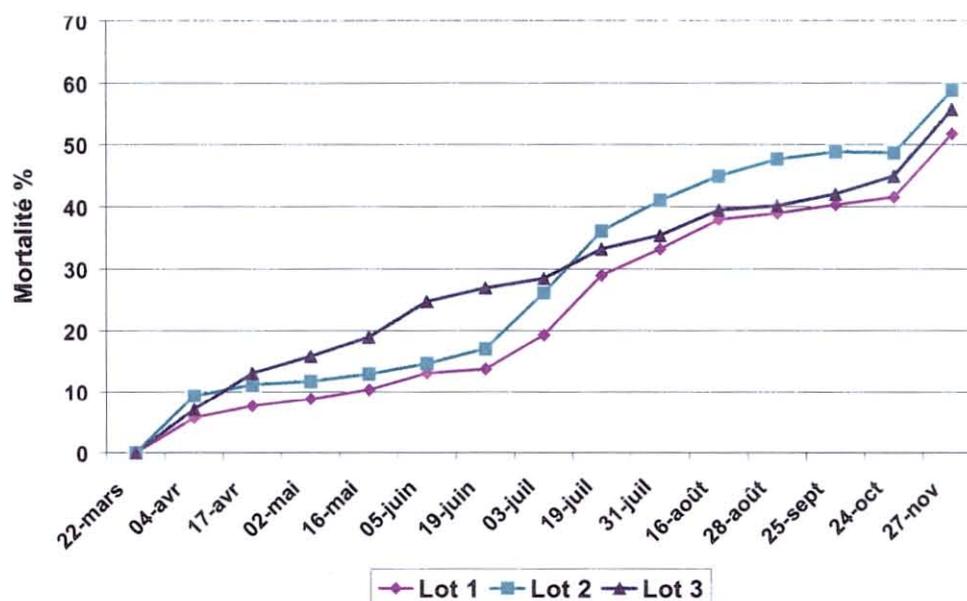


Figure 2 : Mortalité cumulée des cheptels durant la période d'élevage.

La mortalité d'élevage à laquelle a été soustraite la mortalité d'acclimatation fait apparaître un taux de mortalité pour le lot 2 de 41,2 % (fig. 3). Les lots 1 et 3 se situent à 37 % de mortalité.

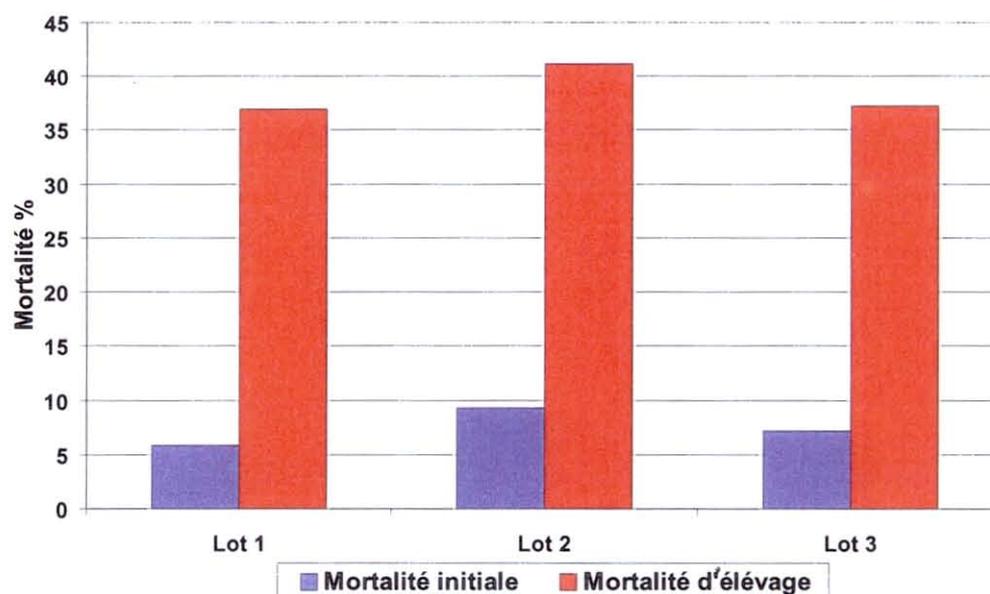


Figure 3 : Taux de mortalité cumulée initiale et d'élevage (%) des cheptels au terme de la période d'élevage.

L'analyse du taux de mortalité journalier (Annexe 1) montre des différences significatives au seuil de 5 % pour la première période de mise en élevage puis pour la période 5. Lors de la mise à l'eau, le lot 2 est davantage touché par la mortalité. Le lot 3 est affecté par les mortalités printanières. Une différence très significative ($p < 0,000$) apparaît entre les lots lors de la période 7, le lot 2 se dégage nettement du lot 1 et du lot 3. Ce phénomène se reproduit lors de la période 11 ($p = 0,02$).

3.1.2. Croissance

La qualité initiale des lots est différente lors de la mise à l'eau. Le poids total des huîtres est en moyenne de 39,02 g pour le lot 2, 29,31 g pour le lot 1 et de 27,30 g pour le lot 3 (fig. 4). Le gain en poids de coquille n'est pas significatif lors des 5 premiers mois expérimentaux. Aucune différence significative entre les lots n'apparaît avant fin août (Annexe 2). Une faible discrimination ($p=0,08$) peut être faite entre les lots 1 et 3. Au terme de l'expérience, le gain de poids est de 12,7 g pour le lot 1, 8,9 g pour le lot 2 et 11,8 g pour le lot 3.

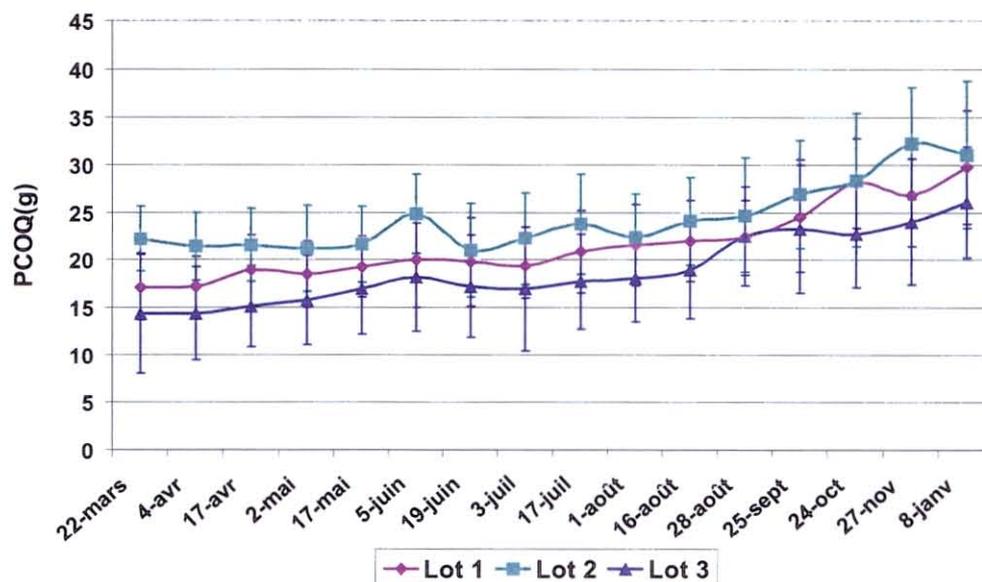


Figure 4 : Croissance en poids de coquille (g) des cheptels durant la période d'élevage.

Le gain de poids sec journalier ne montre pas de différence entre les lots avant la période 10 du 31 juillet au 16 août (fig. 5). La perte de poids sec associée à la ponte a lieu durant la première quinzaine d'août pour les lots 1 et 3. Elle se déroule au cours du mois pour le lot 2. L'effort de ponte est estimé à 1,12 g, 0,52 g et 0,28 g respectivement pour les lots 2, 1 et 3. La différence entre les lots est confirmée par l'analyse statistique pour les périodes 10 et 11 ($p=0,005$ et $p<0,000$) (Annexe 3). Le lot 2 se caractérise par une reprise de poids sec durant le mois de septembre supérieure aux autres lots ($p=0,01$). La fin de la période expérimentale se traduit par un amaigrissement des animaux, les lots se confondent alors.

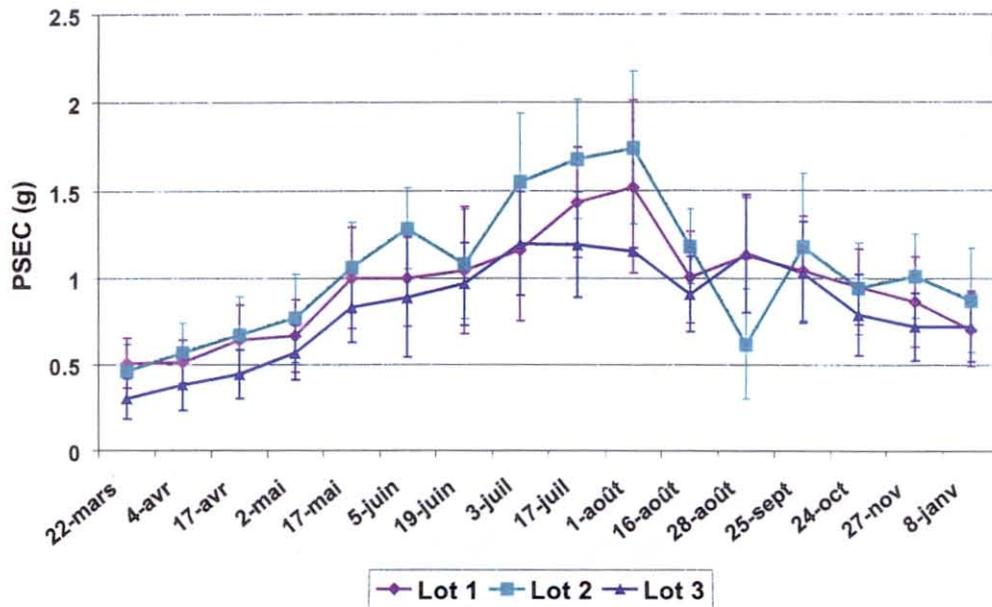


Figure 5 : Croissance en poids sec des cheptels durant la période d'élevage.

L'indice de Walne et Mann (1975) augmente jusqu'à la fin juillet de 20-30 % à environ 70 % (fig. 6). Les différentes populations sont homogènes jusqu'au début du mois de mai. Progressivement, des individus se détachent du « corps » de la population. Début juin, les indices du lot 3 sont très dispersés et distribués de 5 à 94. La période suivante, la population est de nouveau homogène. Sur ce lot, le phénomène se reproduit ainsi alternativement jusqu'à la fin du mois de juillet. Durant les mois de juin et juillet, des individus de la population des lots 1 et 2 ont des indices inférieurs à 35. La plus grande hétérogénéité apparaît fin juillet. Elle est plus marquée pour le lot 2 dont les indices varient de 34 à 147. Lors de la première période du mois d'août, les trois populations sont relativement homogènes. L'indice chute en moyenne à 48. A la fin du mois d'août, seul le lot 2 continue à accuser une baisse d'indice. Il s'échelonne de 5 à 54. Passée cette période, les différents lots retrouvent progressivement l'homogénéité qui les avaient caractérisés en début d'expérience.

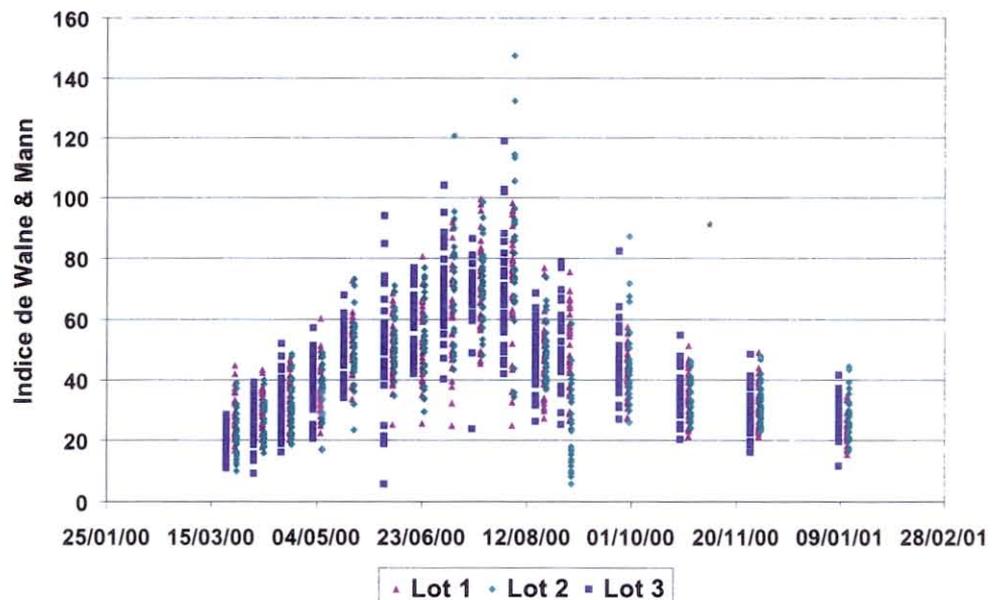


Figure 6 : Dispersion de l'indice de qualité Walne et Mann (1975) des cheptels durant la période d'élevage.

3.1.3. Composition biochimique de la chair

Protéines

Le taux de protéines à la mise à l'eau est compris entre 35 à 50 % (fig. 7). Il n'y a pas de différence significative entre les lots avant le 16 août (Annexe 4). A cette période, les taux sont les plus faibles de la période expérimentale : 22,9 % pour les lots 1 et 3 et 37,7 % pour le lot 2 ($p < 0,000$). Ces valeurs faibles coïncident avec la période de ponte. Durant, les périodes suivantes les lots retrouvent les taux du début d'expérience. Cependant, une différence apparaît en octobre entre le lot 2 et les deux autres lots ($p = 0,03$). Le lot 2 dont le taux est de 44 % est plus riche en protéines. Ensuite, cette différence disparaît.

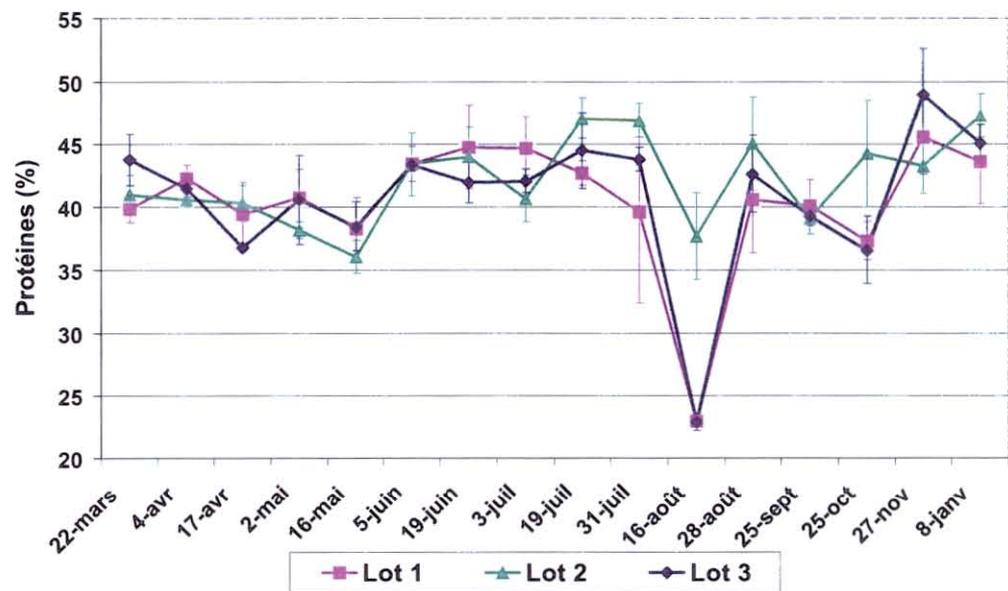


Figure 7 : Evolution de la teneur en protéines (%) de la chair pour les trois cheptels d'huîtres.

Lipides

Lors de la mise en élevage et durant la première période, le pourcentage de lipides alors de 7,5 % du lot 1 est significativement différent des lots charentais ($p = 0,01$) (Annexe 5). Mi-avril, le lot 3 présente les teneurs les plus élevées en lipides ($p < 0,001$). Un mois plus tard, le lot normand a des teneurs supérieures aux lots charentais ($p < 0,00$). Les taux augmentent quels que soient les lots à compter de mai pour atteindre début juillet leur paroxysme soit 15 %. Cependant, durant la première quinzaine du mois de juin, une stagnation des teneurs se produit. Lors de la première quinzaine de juillet, les lots 2 et 3 perdent environ 5 % de lipides. Respectivement les teneurs sont de 9,8 % et 10,7 %. Le lot 1 reste à près de 14 % ($p = 0,05$). A compter de fin juillet, les taux sont similaires pour les trois lots, compris entre 8 et 10 %. Ces teneurs sont plus élevées qu'en début d'élevage. Elles restent constantes jusqu'à la fin de la période expérimentale (fig. 8).

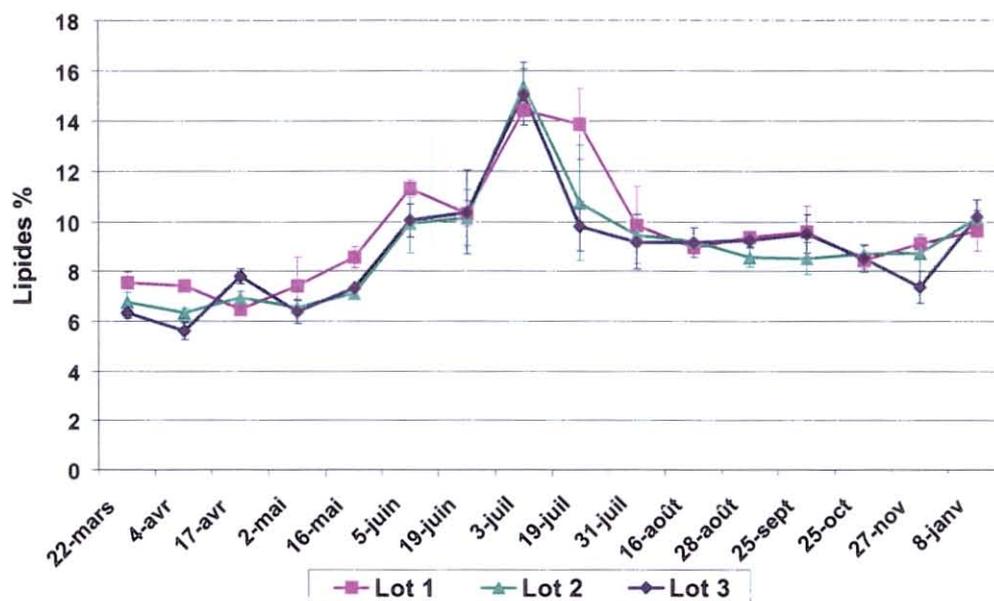


Figure 8 : Evolution de la teneur en lipides (%) de la chair pour les trois cheptels d'huîtres.

Glucides totaux et glycogène

A la mise à l'eau, la composition glucidique des trois lots est significativement différente ($p=0,006$) (Annexe 6). Le lot 1 avec un taux de 10,5 % se distingue du lot 2 avec 6,6 % et du lot 3 avec 3,8 %, (fig. 9 et 10). Cette différence s'amenuise 15 jours après le début de l'expérience. Le lot normand utilise ses glucides. Les deux autres lots constituent des réserves. Ainsi, dès mi-avril, les deux lots issus du bassin Charentais ont atteint 10 %, caractéristique que le lot 2 va conserver encore début mai de manière significative ($p<0,000$).

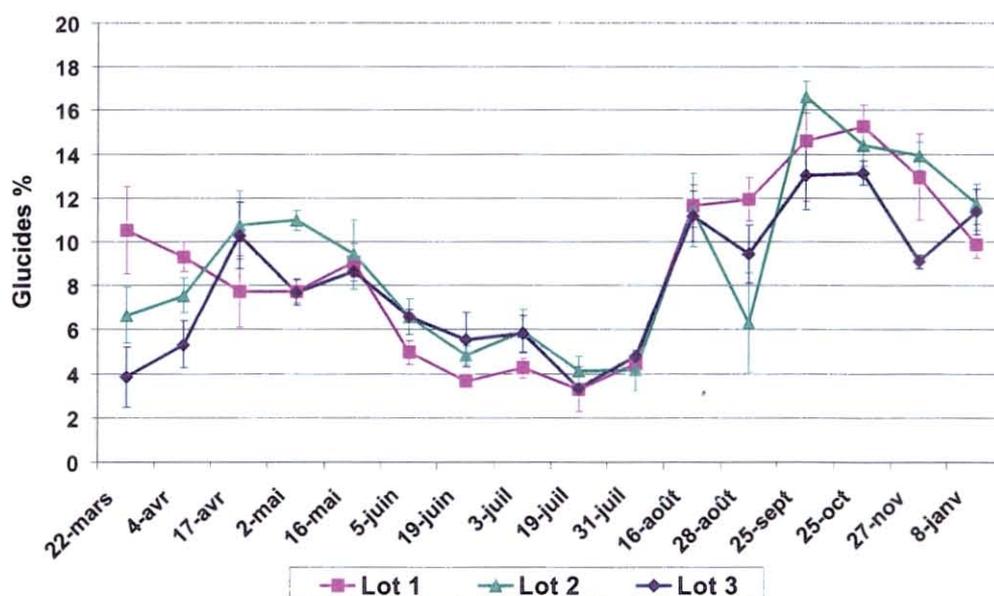


Figure 9 : Evolution de la teneur en glucides (%) de la chair pour les trois cheptels d'huîtres.

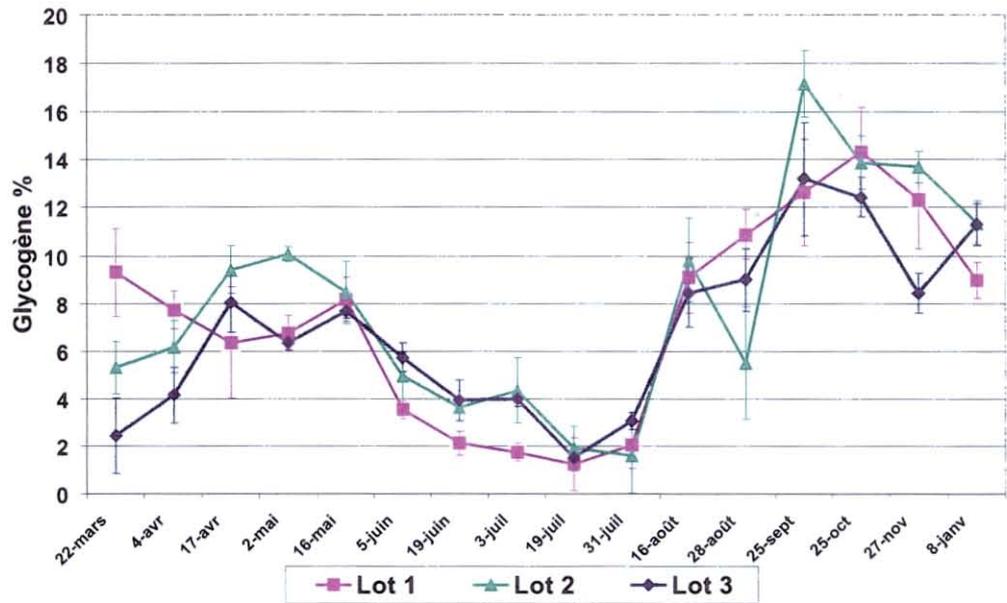


Figure 10 : Evolution de la teneur en glycogène (%) de la chair pour les trois cheptels d'huîtres.

Au cours des mois de juin et juillet, les taux déclinent de 6,6 % à 3,2 %. Le lot 1 a les taux les plus faibles ($p < 0,05$). Durant la phase critique des mortalités, les réserves de glycogène sont inférieures à 2 %. En août, dans un intervalle de 15 jours, les taux de glucide atteignent environ 11 %. Durant la deuxième quinzaine du mois d'août, le lot 1 poursuit la mise en réserve de glucides ; les deux autres lots connaissent un affaiblissement de leurs teneurs plus marqué pour le lot 2 ($p = 0,01$). En septembre, aucune différence significative n'apparaît entre les lots. Les taux s'échelonnent de 13 à 16,6 % (lot 2). Alors que les lots 1 et 3 maintiennent leur concentration, le lot 2 semble déjà utiliser ses réserves. Les mois suivants, le phénomène concerne les trois lots avec une perte très significative en novembre pour le lot 3 ($p = 0,006$). En janvier, les teneurs sont d'environ 10 %.

L'évolution de la composition en glucides et en glycogène est similaire. Le rapport entre les teneurs de glycogène et de glucides est de l'ordre de 80-90 % jusqu'au début du mois de juin (fig. 11). Il s'effondre progressivement jusqu'à la mi-juillet, voire jusqu'à la fin du mois pour le lot 2. Le glycogène représente alors moins de 50 % de la réserve glucidique. Les animaux reconstituent progressivement leur réserve en août. Les derniers mois de l'étude, le glycogène est le principal constituant des réserves glucidiques (>90 %).

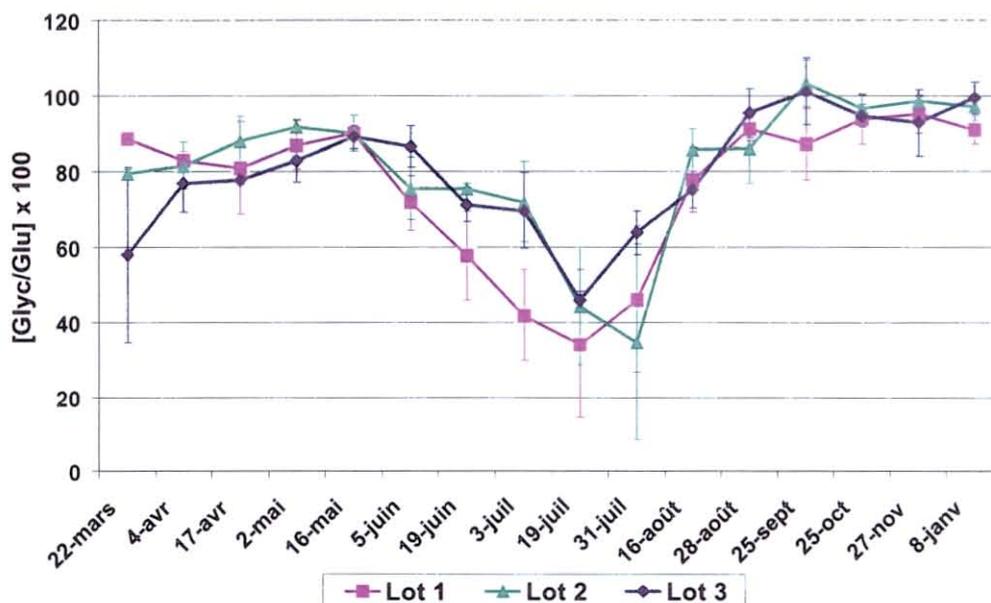


Figure 11 : Evolution du rapport de la teneur en glycogène sur glucides totaux pour les trois cheptels d'huîtres.

Teneurs en cendres

En début de période expérimentale, les cendres du lot normand représentent 13 % du poids sec. Les deux lots charentais se situent autour de 16 % (fig. 12). Une progression est enregistrée quinze jours plus tard pour le lot 3 qui atteint 19,4 %. Lors de la troisième période, les lots tendent à se confondre. Les teneurs baissent progressivement jusqu'à mi-juillet et sont de l'ordre de 12 %. Fin août, le lot 2 connaît une brusque élévation des teneurs. Elles atteignent 15,7 % alors que les deux autres lots sont à 11,6 et 12,3 % (3 et 1). En septembre et octobre, les trois lots se confondent avec des valeurs comprises entre 12 et 14 %. En novembre, les teneurs du lot 3 passent à 18,9 % pour retomber à 15 % début janvier. Les lots 1 et 3 sont confondus. Le lot 2 se distingue avec des teneurs à 17 %.

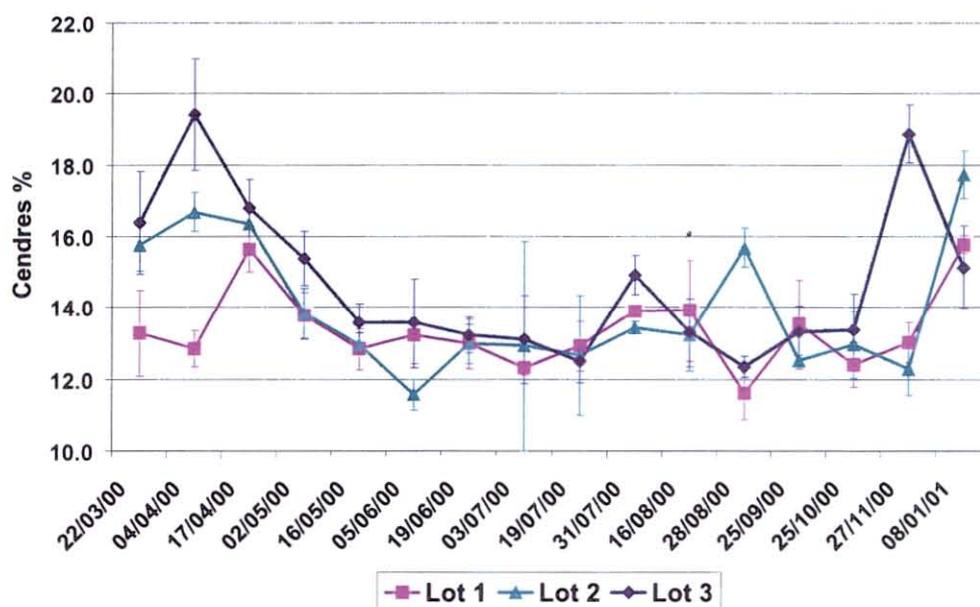


Figure 12 : Evolution de la teneur en cendres (%) de la chair pour les trois cheptels d'huîtres.

3.1.4. Incorporation du glucose dans le glycogène

Les résultats obtenus après incubation doivent être significativement différents des résultats avant incubation. L'analyse statistique par le test de Student permet de rejeter l'hypothèse dans le cas des deux premiers bioessais soit pour les dates du 22 mars et du 4 avril pour les lots 2 et 3 (Tableau 3). Seul le lot 1 manifeste une incorporation significative fin mars au seuil de 1 ‰ et début avril au seuil de 5%. Le bioessai du 18 avril n'a pas été traité pour un problème strictement analytique. L'incorporation du glucose dans le glycogène ne devient significative (soit au seuil de 1% ou de 1 ‰) pour l'ensemble des lots qu'à compter du 2 mai.

Tableau 3 : Probabilité associée au test de Student pour les différents lots et aux différentes concentrations molaires.

	Lot 1		Lot 2		Lot 3	
	0,5 mmol	1,5 mmol	0,5 mmol	1,5 mmol	0,5 mmol	1,5 mmol
22/03/00	***	*	NS	NS	NS	NS
04/04/00	*	NS	NS	NS	*	NS
18/04/00						
03/05/00	***	**	***	***	***	***
17/05/00	***	***	**	***	***	***
06/06/00	***	***	***	***	***	**
20/06/00	**	***	**	***	**	***
04/07/00	***	***	***	***	***	**
01/08/00	**	***	***	***	*	*
29/08/00	***	**	***	***	***	***
26/09/00	***	***	***	***	***	***
25/10/00	***	***	***	***	***	*
28/11/00	***	***	***	***	***	**
11/01/01	***	*	***	***	**	**

*La probabilité associée au test de Student est retranscrite comme suit : différence non significative : NS; significative au seuil de 5% : *; significative comprise entre le seuil de 1% et de 1‰ : **; significative au seuil de 1‰ : ***.*

Les bioessais réalisés sur les lots à la mise en élevage montre une incorporation significative mais faible du lot 1 à la concentration de 0,5 mmol de glucose soit 0,32 nmol. Elle est plus marquée pour la concentration à 1,5 mmol soit 1,04 nmol. Début mai, les deux autres lots sont à leur tour aptes à synthétiser le glycogène mais aucune différence ne se dégage entre les lots. Le 17 mai, l'incorporation « explose » pour le lot 2 avec respectivement 1,15 nmol et 1,75 nmol pour les deux concentrations de glucose testées (0,5 et 1,5 mmol). Les deux autres lots restent aux concentrations voisines de celles enregistrées début mai (fig. 13, tableau 4).

Début juin, le lot 1 incorpore alors le glucose. L'incorporation du lot 2 est toujours consécutive de 1,11 et 1,53 nmol. L'activité du lot 3, inférieure aux lots précédents, est en expansion à la concentration de 1,5 mmol de glucose. Son incorporation est alors de 0,44 et 0,92 nmol. A cette période, l'analyse statistique montre un groupe homogène constitué des lots 1 et 2 ($p < 0,001$) pour la concentration 0,5 mmol. L'analyse n'est significative qu'au seuil de 5 % pour la concentration de 1,5 mmol (Annexes 8 et 9).

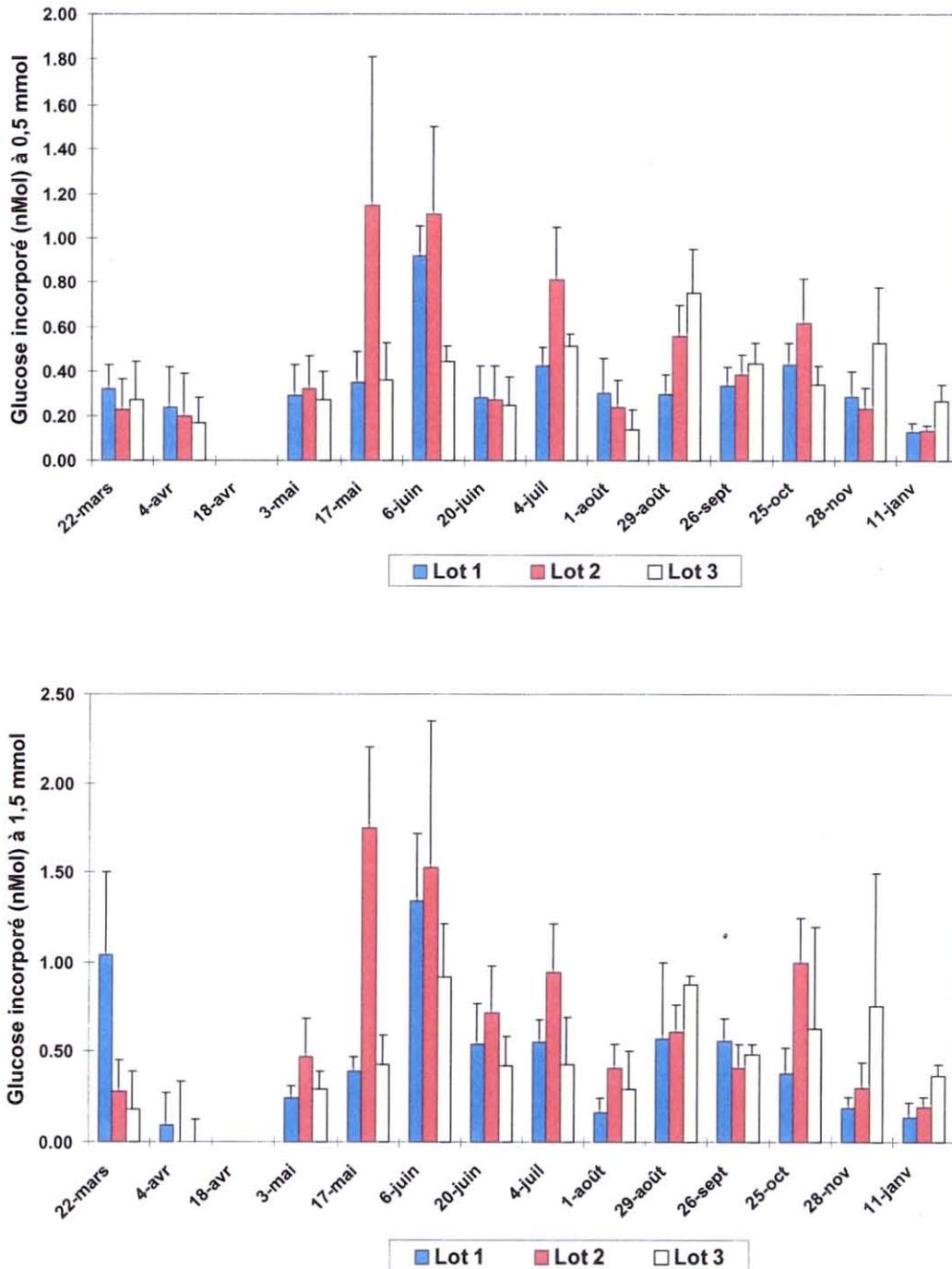


Figure 13 : Evolution de l'incorporation du glucose dans le glycogène des cheptels, aux concentrations de 0,5 mmol et 1,5 mmol de glucose.

Mi juin et début juillet, l'incorporation diminue. Le 4 juillet, le lot 2 se distingue toujours des deux autres lots. La probabilité est respectivement de 0,003 et 0,004 pour les deux concentrations de glucose. Début août, la synthèse du glycogène se situe aux concentrations du début de saison, comprises entre 0,14 et 0,40 nmol. Une faible différence au seuil de 5 % sépare les lots pour la concentration 1,5 mmol.

Fin août, l'activité reprend mais n'atteint pas celles rencontrées de mi-mai à début juin. Le lot 3 incorpore d'avantage ($p < 0,001$) que le lot 2 jusqu'alors le plus performant. La quantité de glucose incorporée est de 0,75 et 0,88 nmol.

En septembre, les résultats sont similaires quels que soient les lots et les concentrations de glucose. Une différence significative apparaît entre les lots à partir du mois d'octobre et perdure jusqu'à la fin des expérimentations ($0,03 < p < 0,003$). Le lot 2 incorpore plus (0,62 et 1,0 nmol) que les lots 1 et 3 (compris entre 0,34 et 0,63 nmol). En novembre et janvier, les niveaux d'incorporation sont inférieurs à 0,30 nmol sauf pour le lot 3 qui en novembre incorpore de manière comparable à celle du mois d'août soit respectivement 0,53 et 0,76 nmol pour les deux concentrations de glucose.

Tableau 4 : Glucose incorporé aux concentrations de glucose 0,5 et 1,5 mmol pour les différents cheptels.

Date	Périodes	Lot 1		Lot 2		Lot 3	
		0,5 mmol	1,5 mmol	0,5 mmol	1,5 mmol	0,5 mmol	1,5 mmol
22/03/00	0	0,32	1,04	0,23	0,28	0,27	0,8
04/04/00	1	0,24	0,09	0,20	0,00	0,17	0,00
03/05/00	2	0,29	0,24	0,32	0,47	0,27	0,29
17/05/00	3	0,35	0,39	1,15	1,75	0,36	0,43
06/06/00	4	0,92	1,34	1,11	1,53	0,44	0,92
20/06/00	5	0,28	0,54	0,27	0,72	0,25	0,42
04/07/00	6	0,43	0,55	0,81	0,95	0,51	0,43
01/08/00	7	0,30	0,16	0,24	0,41	0,14	0,29
29/08/00	8	0,30	0,57	0,56	0,61	0,75	0,88
26/09/00	9	0,34	0,56	0,38	0,41	0,43	0,48
25/10/00	10	0,43	0,38	0,62	1,00	0,34	0,63
28/11/00	11	0,29	0,18	0,23	0,30	0,53	0,76
11/01/01	12	0,13	0,14	0,13	0,19	0,27	0,37

La comparaison des concentrations de glucose incorporé tous lots confondus, décrit de manière significative ($p < 0,0000$) une variation saisonnière de la synthèse du glycogène. Nulle ou quasiment jusqu'à début mai, elle augmente brutalement durant un mois pour décroître progressivement jusqu'à la fin de l'année. Cependant, les valeurs du 20 juin et du 1^{er} août marquent une discontinuité dans l'allure générale de la courbe. A ces dates les valeurs sont de 0,2 et 0,4 nmol. Le schéma est identique quelle que soit la concentration de glucose à l'incubation (fig. 14).

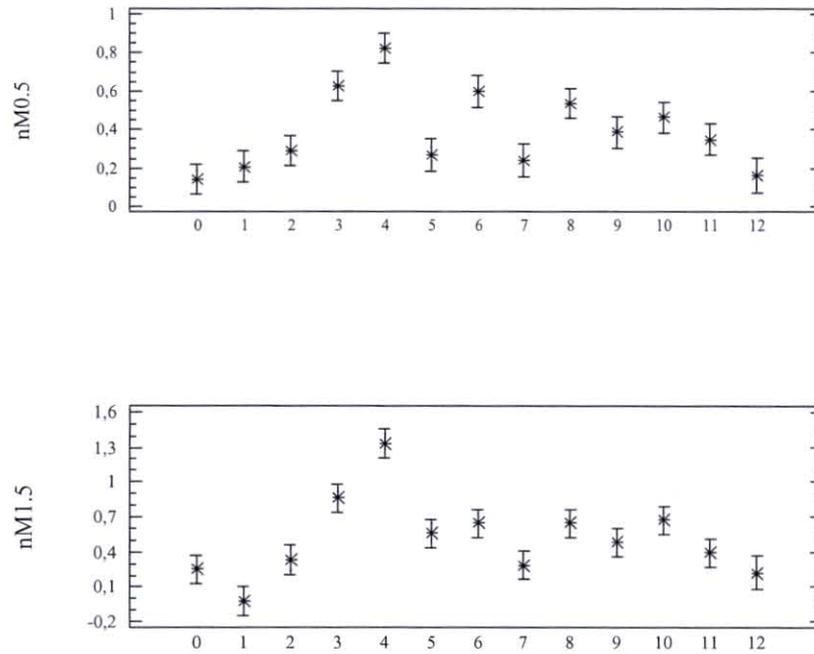


Figure 14: Variations saisonnières des concentrations de glucose incorporé (nmol) tous cheptels confondus pour les concentrations expérimentales de glucose de 0,5 et 1,5 mmol aux différentes périodes.

3.2. Discussion

Les mortalités enregistrées lors de cette expérimentation classent l'année 2000 comme l'une des plus mauvaises depuis 1997.

Comparée à la mortalité enregistrée sur le site expérimental de Ronce depuis le début des expérimentations (1996), la mortalité de mise en élevage n'atteint pas le niveau de 1999 où elle était alors de 17,5 %. Comprise entre 5,8 % et 9,3 %, elle est plus élevée que celle de 1997 (4,4 %). Elle reste inférieure à celle de 1998 (11,5 %) qui avait été contrôlée un mois après la mise à l'eau. La mortalité d'élevage sur le plat est généralement élevée. Elle apparaît cette année supérieure à celle des années précédentes. Fin août, elle est de 38 % pour le lot 2 et de 33 % pour les lots 1 et 3. Elle dépasse largement les 21,7 %, 14,7 % et 19,1 % enregistrés fin août-début septembre au cours des années 1997, 1998 et 1999.

La mortalité cumulée permet de dégager deux types de profils. L'un est linéaire (lot 3), les deux autres asymptotiques (lots 1 et 2). Les lots présenteraient des dispositions différentes à supporter les conditions de milieu. Les deux lots issus du bassin de Marennes-Oléron n'ont pas le même comportement.

La croissance printanière est faible. Elle ne s'accroît qu'à compter du mois de septembre. Aucune différence ne distingue les lots. La prise de poids sec correspond à la formation des produits génitaux. Elle est régulière jusqu'à la période de ponte. Les lots 1 et 3 pondent durant la première quinzaine d'août. L'émission des gamètes du lot 2 se poursuit tout le mois. L'effort de reproduction augmente avec l'âge et la taille. La perte de poids sec est plus conséquente pour le lot 2. Les lots 1 et 3, un an plus jeune, connaissent une perte de poids plus faible. La reprise post-ponte du poids sec est surtout conséquente pour le lot 2. Le gain somatique est faible 0,48 g pour les lots 2 et 3, 0,44 g pour le lot 1. Il est comparable à celui obtenu dans les expérimentations de 1997 et 1998 mais sur des huîtres âgées de deux ans. En 1999, il était de 0,7 g pour des huîtres de 3 ans (Soletchnik *et al.*, 2000).

Ainsi, les mortalités interviennent antérieurement à la ponte, la croissance ne permet pas de dégager d'observation particulière. Qu'en est-il de la composition biochimique ?

A la mise en élevage, les différents lots ont une composition protéique comprise entre 40-45 % du poids de chair. L'évolution est similaire pour les lots. La prise de protéines s'opère à partir du mois de mai. Une perte protéique importante de 20 % pour le lot 3 et respectivement de 16 et 9 % pour les lots 1 et 2 est enregistrée au moment de la ponte en août. Paradoxalement, la perte est plus importante pour le lot qui réalise l'effort de ponte le plus faible. La reprise intervient en période de post ponte. D'après Deslous-Paoli et Héral (1988), les protéines augmentent au printemps durant la gamétogénèse mais diminuent durant la production de gamète. Heude-Berthelin (2000) observe également une chute brutale des protéines en période estivale. Chez la moule, les protéines constitueraient une source de réserve utilisée en fin de gamétogénèse (Gabbott, 1983). Ces observations confortent nos constatations mais ne suggèrent pas que les huîtres puisent dans leurs réserves protéiques pour pallier les déficits alimentaires car simultanément les réserves glucidiques sont en train de se reconstituer.

Jusqu'au début du mois de juillet, se déroule le schéma classique lié à la gamétogénèse. Il se caractérise par une baisse des réserves de glucides et de glycogène au profit des lipides constituant des gamètes (Gabbot, 1975). En raison de son origine

normande, le lot 1, à la mise à l'eau, est significativement plus riche en lipides et glucides (respectivement 7,5 % et 10,5 %). A la sortie de l'hiver les deux lots charentais ont des réserves glucidiques faibles (entre 4 et 6 %). Le lot 1 va puiser dans ses réserves pour s'acclimater à son nouveau milieu. Celles-ci s'amenuisent alors que celles des deux autres lots sont en augmentation. Deux mois après le début de l'expérience, les trois lots ont une teneur en glucides identique (9,4 %). Durant la gamétogénèse, le lot normand semble utiliser ses réserves de manière plus intensive que les deux autres lots. D'ailleurs, sa composition lipidique à la même époque montre que son métabolisme est tourné vers la formation de gamètes. Il se distingue des deux autres lots. Trois mois après le début de l'expérience, les lots présentent la même teneur lipidique (10 %). Début juillet, les trois lots sont toujours confondus. La disparition des lipides s'opère au cours du mois de juillet mais de manière moins rapide pour le lot normand. De fin juillet à la fin de l'étude, les lots ont des concentrations similaires entre 8 et 10 %.

La composition biochimique permet de relever des différences entre les cheptels. Sont-elles également mises en évidence par l'étude de l'incorporation du glucose dans le glycogène ?

L'analyse statistique (cf. Anova) montre que l'incorporation du glucose dans le glycogène constitue un critère plus discriminant que les autres descripteurs. Plus fréquents sont les échantillonnages au cours desquels une variation significative entre les lots peut être montrée.

On peut donc conclure que c'est un indicateur physiologique pertinent pour les études futures.

La périodicité des bioessais réalisés au printemps (tous les 15 jours) met en exergue les variations rapides de l'incorporation. Elle « explose » pour le lot 2 entre le début mai et la mi mai. Durant toute la période expérimentale le lot 1 ne dépasse qu'une seule fois le seuil de 0,5 nmol de glucose incorporé (à 0,5 mmol de glucose). A partir de juillet, le pas d'échantillonnage ne permet pas d'enregistrer les variations de l'incorporation du glucose au cas où celle-ci évoluerait rapidement dans cette période.

Au cours de cette étude, l'incorporation du glucose du lot 2 est la plus importante (Annexe 10) ($p=0,02$ pour la concentration en glucose de 0,5 mmol et $p=0,00$ pour la concentration 1,5 mmol). L'étude met en évidence un comportement différent des lots pourtant placés dans les mêmes conditions environnementales durant les 10 mois de l'expérimentation. Le lot 2 qui incorpore le plus le glucose dans le glycogène est le plus touché par les mortalités.

4 Variabilité saisonnière de la composition biochimique et de l'incorporation du glucose en relation avec l'environnement et la mortalité

Les mortalités massives se produisent en juillet, notamment durant la première quinzaine. La périodicité de l'échantillonnage a permis d'en cerner la chronologie. En 1996, les mortalités étaient apparues en juin suite vraisemblablement à une cause aiguë (Lodato, 1996). En 1997, elles se produisent début juin à début juillet mais sont de faible importance (<4 %) (Forest, 1997). Durant la première quinzaine d'août, elles atteignent 9,4 %. En 1998, l'expérimentation débute tardivement (fin avril). Elle ne montre pas d'importantes mortalités (Fruchard, 1998). En 1999, en dehors de la grosse mortalité de la période d'acclimatation, aucune disparition importante n'est détectée (Mineur, 1999). Ainsi, comparée aux trois années précédentes, l'année 2000 se caractérise donc par des épisodes significatifs de mortalité. La dispersion de l'indice de qualité Walne et Mann indique que des individus se fragilisent entre mai et fin août soit durant les périodes de gamétogénèse active et d'émissions de gamètes.

Les valeurs des descripteurs sont moyennées pour l'ensemble des lots afin de décrire la variation saisonnière des processus.

La perte de poids sec est un indicateur de l'émission des gamètes. La ponte n'engendre pas la mortalité la plus importante car celle-ci survient antérieurement (fig. 15). Toutefois, la ponte aurait une incidence sur la mortalité mais de manière plus atténuée (6,7 %).

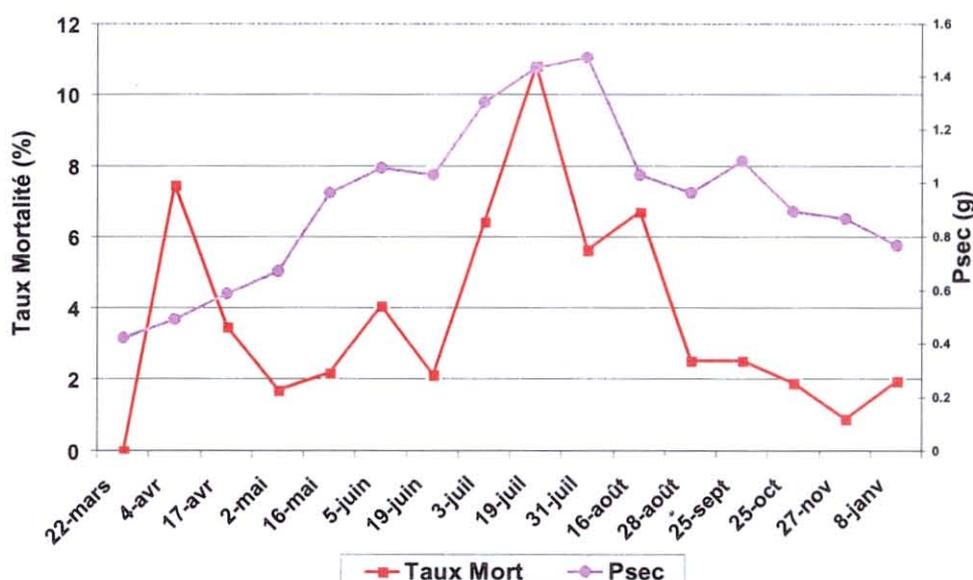


Figure 15 : Apparition des mortalités et variation du poids sec au cours de la période expérimentale.

La prise de poids sec n'est pas linéaire durant la période printanière. Un accident se produit durant la première quinzaine de juin. Ce phénomène pourrait être mis en relation avec les teneurs en lipides des animaux. A la même période, la synthèse de lipides connaît un net ralentissement (fig. 16).

Généralement, l'émission de gamètes riches en lipides entraîne une diminution de la teneur en lipides de la chair. Or, elle a lieu le mois qui précède la ponte. Selon Le Moine *et al.* (2000), une chute de la teneur en lipides de 4 à 6 % accompagne la

libération des gamètes en été. Si cette perte est du même ordre de grandeur, son antériorité par rapport à l'émission des gamètes constitue un phénomène remarquable. Elle a lieu au moment où se produisent les mortalités. Les animaux sont-ils amenés à utiliser les lipides comme support énergétique ? Font-ils face à une détresse physiologique particulière durant cette période ?

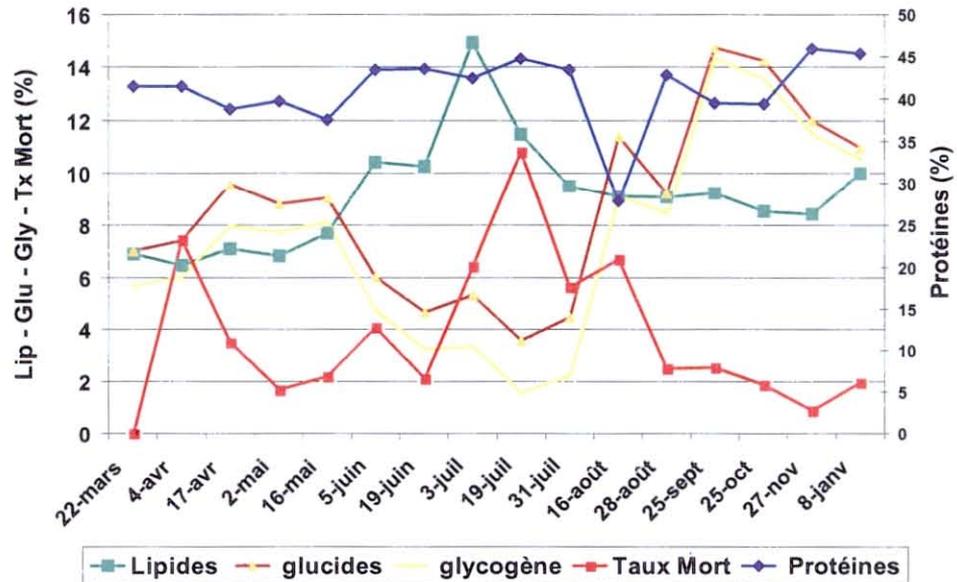


Figure 16 : Variation de la composition biochimique de l'huître et apparition des mortalités.

Le taux de glycogène est généralement au plus bas au moment de la ponte. Ici les teneurs sont les plus faibles un mois avant la ponte. Le cycle glucidique montre un certain « déséquilibre » et suggère un dysfonctionnement métabolique. Il est intéressant de noter la variation du taux de glycogène par rapport à celui des glucides totaux. Le glycogène est utilisé à compter du mois de mai jusqu'à la fin du mois de juillet où il ne représente plus que de 40 % de la réserve glucidique de 3-4 % du poids de chair. Le profil des teneurs glucidiques est comparable à celui obtenu lors des expérimentations de 1997 mais la reconstitution des réserves pendant la ponte constitue un fait original. Les teneurs en glucides passent de 4 à 11 % en quinze jours (31 juillet-16 août).

La corrélation entre le glucose incorporé dans le glycogène et la teneur en glycogène ne peut être avancée (fig. 17). Lorsque l'incorporation du glucose augmente, la glycogénolyse s'amorce. Durant les premiers mois de l'étude, aucun lien entre les deux activités ne peut être établi. Lors de la période automnale, l'incorporation diminue parallèlement à la teneur en glycogène. L-Fando *et al.* (1972) qui mesurent la capacité des tissus de branchies d'*Ostrea edulis* à incorporer le glucose dans le glycogène arrivent à la conclusion suivante : lorsque le glycogène stocké dans les tissus est élevé l'incorporation est basse et *vice versa*. Le printemps et l'été, quand les réserves en glycogène sont faibles, sont les meilleures saisons pour l'incorporation. En hiver, l'incorporation diminue à cause des hautes teneurs en glycogène. Le glycogène se comporterait comme un inhibiteur qui régulerait sa propre synthèse. L-Fando *et al.* (1972) avancent également l'hypothèse d'un rôle joué par les hormones sexuelles.

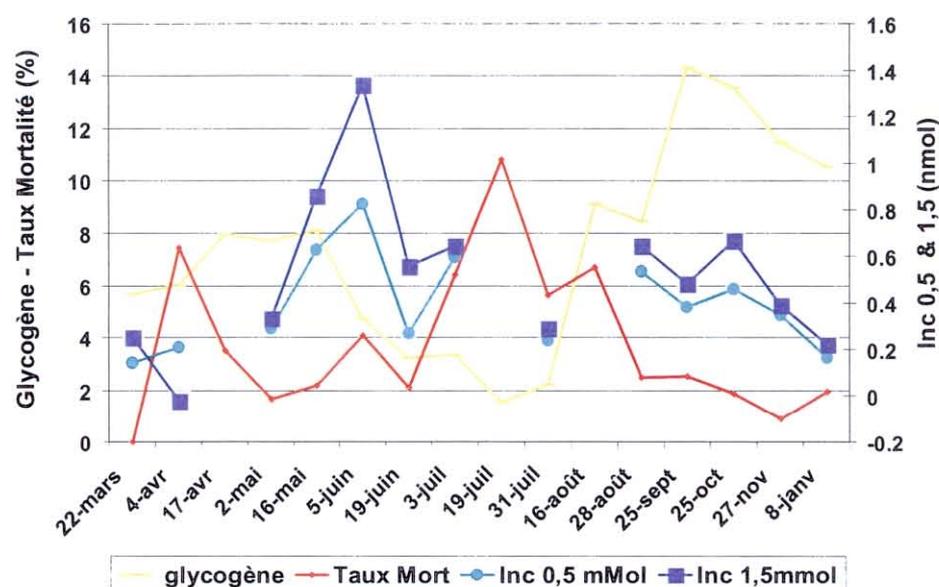


Figure 17 : Variations saisonnières de l'incorporation du glucose (nmol incorporé), de la teneur en glycogène de la chair et du taux de mortalité.

Selon Deslous-Paoli et Héral (1988), le glycogène stocké pendant les blooms phytoplanktoniques au printemps est simultanément utilisé pour la croissance et l'accumulation des lipides nécessaires à la formation des ovocytes durant la gamétogénèse. L'étude de l'incorporation du glucose permet d'avancer l'hypothèse que l'activité de celle-ci est générée par la richesse du milieu naturel. En effet, l'activité maximale a été enregistrée au moment des blooms en mai et en août. Le cycle saisonnier observé est en désaccord avec celui enregistré par Heude-Berthelin qui a travaillé en 1997 et 1998 parallèlement sur des huîtres issues de Marennes-Oléron (site de Ronce-Perquis) et des huîtres de St Vaast la Hougue. En effet, l'auteur conclut que « la capacité maximale de stockage est de novembre à mars avec un maximum en décembre ». Or si l'on examine précisément les teneurs en chlorophylle d'un site placé à proximité de la zone expérimentale, il s'avère que la productivité phytoplanktonique de l'automne 1997 a été exceptionnelle (Faury et Geairon, 2000).

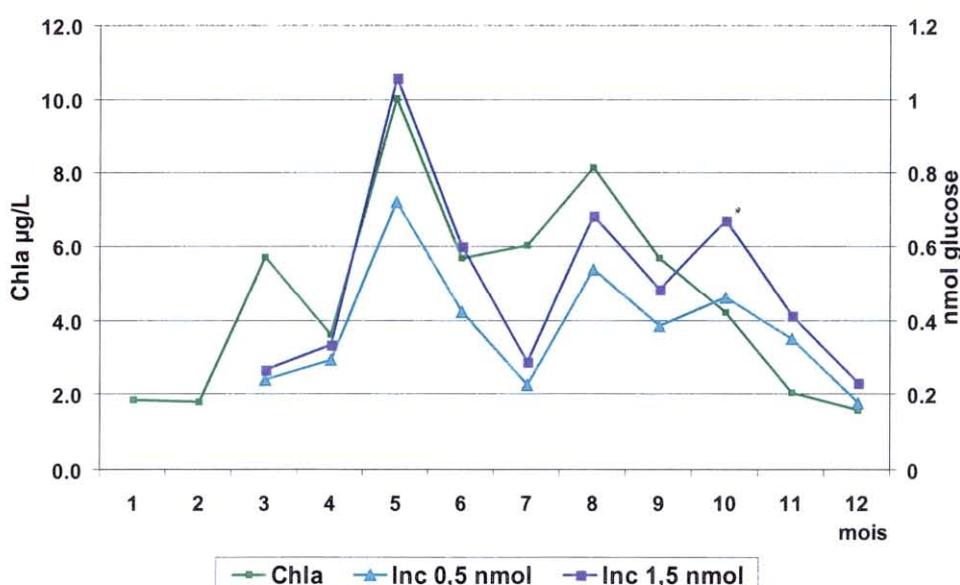


Figure 18 : Variations saisonnières de l'incorporation du glucose (nmol incorporé) et de la teneur en chlorophylle a ($\mu\text{g/L}$) du milieu.

Ainsi une corrélation de la teneur en chlorophylle *a* acquise dans le cadre d'un réseau hydrobiologique (Faury et Geairon, 2001) et de l'incorporation du glucose dans le glycogène semble s'établir (fig. 18). Cependant, l'incorporation est faible début juillet alors que la chlorophylle *a* est encore de 6 $\mu\text{mol/L}$. La faible incorporation du glucose malgré un milieu riche en phytoplancton ne serait-elle pas annonciatrice de la mortalité qui survient durant la première quinzaine de juillet ? Cette hypothèse demande à être vérifiée. Les travaux réalisés sur l'activité de la glycogène synthase ne se sont pas fait échos de telles observations. La relation entre l'activité de l'enzyme et la productivité primaire du milieu naturel a été démontrée. Ainsi, chez la moule, l'activité de la glycogène synthase est optimale au printemps et en automne au moment des blooms à une période où le glucose circulant est élevé (Gabbott, 1983) ; Heude-Berthelin (2000) note également une incorporation significative au moment des blooms printaniers. Riley (1981) a montré que chez l'huître le glucose est incorporé essentiellement dans le glycogène et les aminoacides aux périodes où l'approvisionnement en nourriture est abondant. Ces éléments confortent nos observations et finalement, également celles de Heude-Berthelin faites sur ces expériences de 1997. Heude-Berthelin considère que l'incorporation n'est plus mesurable expérimentalement en période de maturité sexuelle et après la ponte. Ceci ne se vérifie pas dans nos expérimentations. L'incorporation bien que faible notamment début août, reste mesurable et importante fin août (période de post ponte) vraisemblablement en raison des blooms phytoplanctoniques. Elle décroît progressivement pendant la période automnale et devient minime en janvier.

5. Conclusion

Un des objectifs de cette étude était de vérifier l'importance de l'origine des cheptels sur la mortalité estivale. Placés dans des conditions environnementales identiques, les cheptels sont marqués par des mortalités importantes. Au terme de 10 mois d'élevage, le lot 2 enregistre 58,8 % de mortalité, le lot 3 55,6 % et le lot 1 51,8 %. La mortalité de mise en élevage est faible. Le pic de mortalité apparaît dans la première quinzaine de juillet sur tous les cheptels. Cependant, elle est plus prononcée pour le lot 2 13,7 % et le lot 1 12,1 %. Le cumul de la mortalité montre un profil différent entre les deux lots issus du bassin de Marennes-Oléron, l'un est linéaire (lot 3), l'autre asymptotique (lot 2). Le profil du lot normand est similaire au lot 2.

La période d'élevage se caractérise par une croissance faible. L'effort de ponte lié à l'âge et la taille des individus permet de distinguer les cheptels. L'émission de gamètes se déroule tout le mois d'août pour le lot 2 alors qu'elle a lieu la première quinzaine d'août pour les deux autres lots. Les conditions environnementales étant les mêmes pour les trois lots, l'âge et la taille des animaux sont probablement les facteurs prépondérants.

L'historique d'élevage des cheptels a une incidence sur la composition biochimique de la chair pendant les premiers mois de l'étude. En début d'expérience, le lot normand diffère sensiblement des lots charentais. Ses teneurs en carbohydrates et en lipides sont significativement supérieures à celles des lots issus du bassin de Marennes-Oléron. La composition glucidique de la chair des trois lots ne sera semblable qu'après deux mois d'élevage, et après trois mois pour les lipides. Les deux lots charentais qui n'ont pas subi de changement radical de milieu ont des teneurs analogues en lipides.

Malgré ces différences, les trois lots présentent durant la première quinzaine de juin, la même anomalie dans les cycles saisonniers des composantes biochimiques : la lipogénèse s'interrompt alors qu'elle était en pleine phase ascendante. Au cours du mois de juillet, un mois avant la ponte, le métabolisme des animaux semble perturbé. Les réserves de glucides sont au plus bas, les lipides sont utilisés comme source d'énergie. Ces phénomènes atypiques sont concomitants avec l'apparition des mortalités. Ils frappent indistinctement les trois lots. En conséquence, ils sont probablement imputables aux conditions environnementales.

La faible activité de la glycogène synthase à cette période viendrait appuyer l'hypothèse de la détresse physiologique des animaux. Ce nouvel indicateur constitue un descripteur intéressant et complémentaire des mesures biochimiques et indices de qualité « traditionnels ». L'étude conjointe des phénomènes de mortalité et de l'incorporation du glucose dans le glycogène est originale. La relation entre l'activité de l'enzyme et l'importance de la nourriture est établie. Elle est confirmée par cette étude. Par contre, le recul manque pour préciser les relations entre l'enzyme et l'état physiologique susceptible d'induire des mortalités. L'étude démontre une aptitude différente des lots à synthétiser le glycogène. Le lot 2 se distingue des autres lots, il est également celui qui subit la plus forte mortalité. Les investigations dans ce domaine demandent à être poursuivies afin de confirmer les résultats obtenus.

L'historique d'élevage n'a pas été prépondérant dans l'apparition des phénomènes de mortalité même si durant la période critique un des deux lots charentais semble plus épargné que les autres. L'origine des troubles métaboliques demande à être précisée. Le rôle des conditions environnementales demeure inexpliqué et complexe à appréhender. La recherche de facteurs de stress par l'identification de protéines de stress (HSP) reste un axe possible d'investigation.

6. Références

- Deslous-Paoli J.M. & M. Héral, 1988.** Biochemical composition and value energy of *Crassostrea gigas* (Thunberg) cultured in the bay of Marennes-Oléron. *Aquatic Living Resour.*, 1, 239-249.
- Dubois M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers & F. Smith, 1956.** Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem.*, 28 : 350-356.
- Dufourg C., 1999.** Etude de la croissance de l'huître creuse *Crassostrea gigas* dans le bassin de Marennes-Oléron en relation avec la variabilité spatiale des conditions hydrologiques et alimentaires de la zone d'élevage, à l'aide d'un système d'Information Géographique (SIG). DESS, Université de Pau, 25 p.
- Faury N. & P. Geairon, 2000.** Hydrologie du bassin de Marennes-Oléron : Bulletins annuels, base de données « Razlec ». Années 1996, 1997, 1998, 1999. Rap. Labo., 66 p.
- Faury N. & P. Geairon, 2001.** Hydrologie du bassin de Marennes-Oléron : Bulletin annuel, base de données « Razlec ». Année 2000. Rap. Labo., 17 p.
- Forest G., 1997.** Etude de la mortalité estivale de l'huître creuse *Crassostrea gigas* sur le banc ostréicole de Ronce-Perquis (bassin de Marennes-Oléron). DESS, Université de Caen, 69 p.
- Fruchard P, 1998.** Contribution à l'étude de la mortalité estivale d'huîtres creuses *Crassostrea gigas* en baie de Marennes-Oléron sur le banc de Ronce-Perquis. Rapport de stage, 35 p.
- Gabbott P.A., 1975.** Storage cycle in marine bivalve molluscs : a hypothesis concerning the relationship between glycogen metabolism and gametogenesis. *In Proceedings 9th Eur. Mar. Biol. Symp.* (H Barnes ed.) Aberdeen University Press : 191-211.
- Gabbott P.A., 1983.** Developmental and seasonal metabolic activities in marine molluscs. *The mollusca, vol 2, Environmental biochemistry and physiology.* P.W. Hochachka ed. Academic Press.
- Gouletquer P, P. Soletchnik, O. Le Moine, D. Razet, P. Geairon, N. Faury & S. Taillade, 1998.** Summer mortality of the Pacific cupped oyster *Crassostrea gigas* in the Bay of Marennes-Oléron (France). ICES Statutory Meeting 1998, Mariculture Committee CM 1998/CC : 14, 21 p.
- Heude-Berthelin C., 2000.** Etude du métabolisme du glycogène chez l'huître *Crassostrea gigas*. Impact sur la reproduction et les mortalités estivales. Thèse de doctorat, Univ Caen, 156 p.
- Le Moine O., P. Geairon, P. Soletchnik, N. Faury, P. Gouletquer, S. Robert, D. Razet, S. Heurtebise & S. Taillade, 2000.** Réseau de surveillance de la croissance et production de l'huître creuse *Crassostrea gigas* dans le bassin de Marennes-Oléron : bilan de 12 années de suivi (1986-1998). R. INT.DRV/RA/LCPC 2000-02. 44 p.
- L-Fando J.J., M. C. Garcia-Fernandez & J.L. R-Candela, 1972.** Glycogen metabolism in *Ostrea edulis* (L.). Factors affecting glycogen synthesis. *Comp. Biochem. Physiol.*, 43B : 807-814.

- Livingstone D.R., & K.R. Clark, 1983.** Seasonal changes in hexokinase from the mantle tissue of common mussel *Mytilus edulis* (L.). *Comp. Biochem Physiol.* **74B** (4) : 691-702.
- Lodato M., 1997.** Mortalité estivale de l'huître creuse, *Crassostrea gigas*, sur les bancs ostréicoles de Perquis et de Ronce (bassin de Marennes-Oléron) : Etude des pratiques culturales et des caractéristiques biologiques et spatiales des élevages. Thèse diplôme d'Etat de Docteur vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, 127 p.
- Lowry O.M., A. L. Roseborough, R. Farrand & J. Randall, 1951.** Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Bio. Chem.*, **193** : 263-275.
- Marsh J.B., & D.B. Weinstein, 1966.** Simple charring method for determination of lipid. *J. Lipid Res.* **7** : 574-576.
- Mineur F., 1999.** Les mortalités estivales d'huîtres creuses *Crassostrea gigas* dans le bassin de Marennes-Oléron (banc de Ronce) : performances zootechniques en divers sites et altitudes de la colonne d'eau. DES, Université de Liège, 58 p.
- Riley R. T., 1981.** Aerobic glucose disposal in the oyster an in vivo kinetic analysis. *Comp. Biochem. Physiol.* **68A** : 253-260.
- Snedecor G.W. & W.G. Cochran, 1989.** Statistical methods. 8^{ème} édition. IOWA State University Press, Ames.
- Soletchnik P., O. Le Moine, N. Faury, D. Razet, P. Geairon & P. Gouletquer, 1999.** Mortalité de l'huître creuse *Crassostrea gigas* dans le bassin de Marennes-Oléron. Etude de la variabilité spatiale de son environnement et de sa biologie par un système d'information géographique (SIG). *Aquat Living Resour.*, **12** : 131-143.
- Soletchnik P., O. Le Moine, N. Faury, D. Razet, P. Geairon, S. Robert, P. Gouletquer & S. Taillade, 2000.** Mortalité et croissance de l'huître creuse *C. gigas* dans le bassin de Marennes-Oléron. Résultats obtenus sur le site atelier de Ronce-Perquis en 1997-1999. R. INT.DRV/RA/LCPC 2000-04. 83 p.
- Walne P.R., & R. Mann, 1975.** Growth and biochemical composition in *Ostrea edulis* and *Crassostrea gigas*. H. Barnes (Ed), *Proc 9th Europ Mar. Biol. symp.* Aberdeen Univ. press, Scotland : 587-607.

7. Annexes

ANNEXE 1 : Analyse de la variance du Taux de Mortalité Journalier entre les cheptels pour chaque période d'élevage.

Période 1 Du 22/03 au 04/04		Période 2 Du 04/04 au 17/04		Période 3 Du 17/04 au 02/05		Période 4 Du 02/05/ au 16/05		Période 5 Du 16/05 au 05/06	
F-ratio	Probabilité								
7,37	0,02	3,25	0,11	2,31	0,18	4,02	0,07	6,10	0,03
Test de Rang									
Lot 1	X					Lot 2	X	Lot 2	X
Lot 3	XX					Lot 1	XX	Lot 1	XX
Lot 2	X					Lot 3	X	Lot 3	X
Période 6 Du 05/06 au 19/06		Période 7 Du 19/06/ au 03/07		Période 8 Du 03/07 au 19/07		Période 9 Du 19/07 au 31/07		Période 10 Du 31/07 au 16/08	
F-ratio	Probabilité								
1,41	0,31	28,74	0,000	4,53	0,06	1,24	0,35	0,24	0,79
Test de Rang									
		Lot 3	X	Lot 3	X				
		Lot 1	X	Lot 1	XX				
		Lot 2	X	Lot 2	X				
Période 11 Du 16/08 au 28/08		Période 12 Du 28/08 au 25/09		Période 13 du 25/09 au 24/10		Période 14 du 24/10 au 27/11		Période 15 du 27/11 au 08/01	
F-ratio	Probabilité								
7,27	0,02	0,30	0,75	0,37	0,70	0,15	0,87	0,48	0,64
Test de Rang									
Lot 3	X								
Lot 1	X								
Lot 2	X								

ANNEXE 2 : Analyse de la variance du gain journalier de Poids de Coquille entre les cheptels pour chaque période d'élevage.

Période 1 Du 22/03 au 04/04		Période 2 Du 04/04 au 17/04		Période 3 Du 17/04 au 02/05		Période 4 Du 02/05/ au 16/05		Période 5 Du 16/05 au 05/06	
F-ratio	Probabilité								
0,19	0,83	0,39	0,69	0,41	0,67	0,12	0,88	0,71	0,52
Test de Rang									
Période 6 Du 05/06 au 19/06		Période 7 Du 19/06/ au 03/07		Période 8 Du 03/07 au 19/07		Période 9 Du 19/07 au 31/07		Période 10 Du 31/07 au 16/08	
F-ratio	Probabilité								
1,35	0,32	0,24	0,79	0,20	0,82	1,86	0,23	0,36	0,71
Test de Rang									
Période 11 Du 16/08 au 28/08		Période 12 Du 28/08 au 25/09		Période 13 du 25/09 au 24/10		Période 14 du 24/10 au 27/11		Période 15 du 27/11 au 08/01	
F-ratio	Probabilité								
3,90	0,08	0,09	0,91	1,18	0,37	4,02	0,07	1,63	0,27
Test de Rang									
Lot 1	X					Lot 1	X		
Lot 2	XX					Lot 3	XX		
Lot 3	X					Lot 2	X		

ANNEXE 4 : Analyse de la variance de la teneur en protéines de la chair des huîtres des différents cheptels pour chaque période d'élevage.

22/03/00		04/04/00		17/04/00		02/05/00	
F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité
4,67	0,059	3,75	0,08	3,59	0,09	1,00	0,42
Test de Rang							
Lot 1	X	Lot 2	X	Lot 3	X		
Lot 2	XX	Lot 3	XX	Lot 1	XX		
Lot 3	X	Lot 1	X	Lot 2	X		

16/05/00		05/06/00		19/06/00		03/07/00	
F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité
1,41	0,31	0,00	0,99	1,00	0,42	3,41	0,10
Test de Rang							
						Lot 2	X
						Lot 3	XX
						Lot 1	X

19/07/00		31/07/00		16/08/00		28/08/00	
F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité
3,41	0,10	2,21	0,19	57,98	0,000	1,08	0,39
Test de Rang							
Lot 1	X			Lot 3	X		
Lot 3	XX			Lot 1	X		
Lot 2	X			Lot 2	X		

25/09/00		24/10/00		27/11/00		08/01/01	
F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité
0,34	0,72	5,86	0,3	2,63	0,15	1,89	0,23
Test de Rang							
		Lot 3	X				
		Lot 1	X				
		Lot 2	X				

ANNEXE 5 : Analyse de la variance de la teneur en lipides de la chair des huîtres des différents cheptels pour chaque période d'élevage.

22/03/00		04/04/00		17/04/00		02/05/00	
F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité
9,14	0,015	35,3	0,000	21,54	0,0018	1,62	0,27
Test de Rang							
Lot 3	X	Lot 3	X	Lot 1	X		
Lot 2	X	Lot 2	X	Lot 2	X		
Lot 1	X	Lot 1	X	Lot 3	X		

16/05/00		05/06/00		19/06/00		03/07/00	
F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité
20,26	0,002	2,56	0,15	0,03	0,97	1,13	0,38
Test de Rang							
Lot 2	X						
Lot 3	X						
Lot 1	X						

19/07/00		31/07/00		16/08/00		28/08/00	
F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité
4,89	0,055	0,27	0,76	0,36	0,70	6,68	0,02
Test de Rang							
Lot 3	X					Lot 2	X
Lot 2	XX					Lot 3	X
Lot 1	X					Lot 1	X

25/09/00		24/10/00		27/11/00		08/01/01	
F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité
1,58	0,28	0,26	0,78	6,73	0,029	0,65	0,55
Test de Rang							
				Lot 3	X		
				Lot 2	X		
				Lot 1	X		

ANNEXE 6 : Analyse de la variance de la teneur en glucides de la chair des huîtres des différents cheptels pour chaque période d'élevage.

22/03/00		04/04/00		17/04/00		02/05/00	
F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité
13,55	0,006	14,87	0,004	3,43	0,10	36,01	0,000
Test de Rang							
Lot 3	X	Lot 3	X			Lot 3	X
Lot 2	X	Lot 2	X			Lot 1	X
Lot 1	X	Lot 1	X			Lot 2	X

16/05/00		05/06/00		19/06/00		03/07/00	
F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité
0,37	0,70	7,87	0,02	5,30	0,04	4,50	0,06
Test de Rang							
Lot 3	X	Lot 1	X	Lot 1	X	Lot 1	X
Lot 1	XX	Lot 2	X	Lot 2	XX	Lot 3	X
Lot 2	X	Lot 3	X	Lot 3	X	Lot 2	X

19/07/00		31/07/00		16/08/00		28/08/00	
F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité
1,32	0,33	0,78	0,50	0,10	0,90	8,07	0,019
Test de Rang							
						Lot 2	X
						Lot 3	XX
						Lot 1	X

25/09/00		24/10/00		27/11/00		08/01/01	
F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité
2,71	0,14	4,58	0,06	13,41	0,006	3,76	0,08
Test de Rang							
		Lot 3	X	Lot 3	X	Lot 1	X
		Lot 2	XX	Lot 1	X	Lot 3	XX
		Lot 1	X	Lot 2	X	Lot 2	X

ANNEXE 7 : Analyse de la variance de la teneur en glycogène de la chair des huîtres des différents cheptels pour chaque période d'élevage.

22/03/00		04/04/00		17/04/00		02/05/00	
F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité
11,94	0,008	8,30	0,01	2,70	0,14	42,40	0,000
Test de Rang							
Lot 3	X	Lot 3	X			Lot 3	X
Lot 2	X	Lot 2	X			Lot 1	X
Lot 1	X	Lot 1	X			Lot 2	X

16/05/00		05/06/00		19/06/00		03/07/00	
F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité
0,46	0,64	8,51	0,017	9,00	0,015	11,45	0,009
Test de Rang							
		Lot 1	X	Lot 1	X	Lot 1	X
		Lot 2	X	Lot 2	X	Lot 3	X
		Lot 3	X	Lot 3	X	Lot 2	X

19/07/00		31/07/00		16/08/00		28/08/00	
F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité
0,58	0,58	1,69	0,26	0,57	0,59	6,90	0,02
Test de Rang							
						Lot 2	X
						Lot 3	X
						Lot 1	X

25/09/00		24/10/00		27/11/00		08/01/01	
F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité
4,09	0,07	1,59	0,27	12,68	0,007	7,76	0,02
Test de Rang							
Lot 1	X			Lot 3	X	Lot 1	X
Lot 3	XX			Lot 1	X	Lot 3	X
Lot 2	X			Lot 2	X	Lot 2	X

ANNEXE 8: Analyse de la variance de l'Incorporation du Glucose dans le Glycogène à 0,5 mM entre les cheptels pour chaque période d'élevage.

22/03/00		04/04/00		02/05/00	
F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité
0,7	0,84	0,27	0,76	0,23	0,79
Test de Rang					

16/05/00		05/06/00		19/06/00		03/07/00	
F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité
7,59	0,005	11,71	0,000	0,08	0,92	8,97	0,003
Test de Rang							
Lot 1	X	Lot 3	X			Lot 1	X
Lot 3	X	Lot 1	X			Lot 3	X
Lot 2	X	Lot 2	X			Lot 2	X

		31/07/00		28/08/00	
		F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité
		1,71	0,21	14,67	0,000
Test de Rang					
				Lot 1	X
				Lot 2	X
				Lot 3	X

25/09/00		24/10/00		27/11/00		11/01/01	
F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité
1,76	0,20	6,18	0,01	5,35	0,01	10,52	0,003
Test de Rang							
		Lot 3	X	Lot 2	X	Lot 1	X
		Lot 1	X	Lot 1	X	Lot 2	X
		Lot 2	X	Lot 3	X	Lot 3	X

ANNEXE 9 : Analyse de la variance de l'Incorporation du Glucose dans le Glycogène à 1,5 mM entre les cheptels pour chaque période d'élevage.

22/03/00		04/04/00		02/05/00	
F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité
3,52	0,055	0,92	0,42	4,47	0,03
Test de Rang					
Lot 3	X			Lot 1	X
Lot 2	X			Lot 3	X
Lot 1	X			Lot 2	X

16/05/00		05/06/00		19/06/00		03/07/00	
F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité
43,67	0,000	3,82	0,049	2,62	0,10	8,01	0,004
Test de Rang							
Lot 1	X	Lot 3	X	Lot 3	X	Lot 3	X
Lot 3	X	Lot 1	XX	Lot 1	XX	Lot 1	X
Lot 2	X	Lot 2	X	Lot 2	X	Lot 2	X

		31/07/00		28/08/00	
		F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité
		4,25	0,034	14,68	0,000
Test de Rang					
		Lot 1	X	Lot 1	X
		Lot 3	XX	Lot 2	X
		Lot 2	X	Lot 3	X

25/09/00		24/10/00		27/11/00		11/01/01	
F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité	F-ratio	Probabilité
3,01	0,07	4,36	0,03	2,97	0,08	11,32	0,003
Test de Rang							
Lot 2	X	Lot 1	X	Lot 1	X	Lot 1	X
Lot 3	XX	Lot 3	XX	Lot 2	XX	Lot 2	X
Lot 1	X	Lot 2	X	Lot 3	X	Lot 3	X

ANNEXE 10 : Incorporation du glucose dans le glycogène aux concentrations de 0,5 et 1,5 mmol de glucose tous bioessais confondus pour les trois lots expérimentaux.

